

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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 9
№ 3
2024



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



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 9
№ 3
2024

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); Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (Казахстан, Алматы); Белокриницкая Т.Е., д.м.н., профессор (РФ, Чита); Бохан Н.А., академик РАН (РФ, Томск); Бывальцев В.А., д.м.н., профессор (РФ, Иркутск); Данчинова Г.А., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дубровина В.И., д.б.н. (РФ, Иркутск); Дыгай А.М., академик РАН (РФ, Томск); Заборовский А.В., д.м.н. (РФ, Москва); Ковров Г.В., д.м.н. (РФ, Москва); Колосов В.П., академик РАН (РФ, Благовещенск); Колосова Н.Г., д.б.н., профессор (РФ, Новосибирск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); Кривошапкин А.Л., член-корр. РАН (РФ, Москва); Кудлай Д.А., член-корр. РАН (РФ, Москва); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (РФ, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (РФ, Калининград); Манчук В.Т., член-корр. РАН (РФ, Красноярск); Маскин С.С., д.м.н., профессор (РФ, Волгоград); Огарков О.Б., д.м.н. (РФ, Иркутск); Осипов А.Н., член-корр. РАН (РФ, Москва); Осипова Е.В., д.б.н., профессор (РФ, Иркутск); 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. 9
N 3
2024

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); Zaborovsky A.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Moscow); Kovrov G.V., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Moscow); Kolosov V.P., Member of RAS (Russia, Blagoveshchensk); Kolosova N.G., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Novosibirsk); Konstantinov Yu.M., Dr. Sc. (Biol.), Professor (Russia, Irkutsk); Krivoshapkin A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Kudlay D.A., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Makarov L.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Moscow); Malyshev V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Kaliningrad); Manchouk V.T., Corresponding Member of RAS (Russia, Krasnoyarsk); Maskin S.S., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Volgograd); Ogarkov O.B., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk); Osipov A.N., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); 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); Epshstein O.I., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Yang Yonghong, Foreign Member of 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 № 3 (2024)

Колесников
Сергей Иванович

Академик РАН

Рассматривая содержание данного номера нашего журнала, я бы выделил работы, которые связаны непосредственно с теми приоритетами и критическими технологиями, которые определил Президент Российской Федерации в своём указе от 18.06.2024 № 529. Это «Превентивная и персонализированная медицина, обеспечение здорового долголетия» и «Биомедицинские и когнитивные технологии здорового и активного долголетия».

Первое исследование – это совместная работа российских и белорусских учёных из Москвы и Гродно И.А. Криволапчука и соавт., проанализировавших **факторы и уровень физической работоспособности школьников 13–14 лет**. Выявлено, что с переходом на более высокие стадии полового созревания наблюдается прогрессивная динамика большинства показателей анаэробной работоспособности, тогда как показатели аэробной мощности и ёмкости изменяются разнонаправленно. Это важно учитывать при нормировании физических нагрузок у подростков в критический период онтогенеза.

Вторая работа – обзор И.Е. Плещёва и соавт. (Ярославль, Москва) с анализом распространённости **саркопенического ожирения**, причин возникновения, современных методов профилактики и физической реабилитации, возрастных изменений жировой и мышечной ткани, данных о влиянии ограничения калорий и комплексов физических упражнений, которые оказывают положительное влияние на физические показатели. Проанализированы пробелы в рекомендациях по клинической практике.

Дополняет этот «возрастной ряд» сообщение Л.В. Поскотиновой и соавт. из Архангельска о возможности использования параметров слуховых вызванных потенциалов как критерия сниженного когнитивного резерва и повышенного **риска развития когнитивных нарушений**.

В русле работ по **сердечно-сосудистой патологии**, вносящей основной вклад в формирование смертности и сокращение продолжительности жизни, лежит обширное исследование А.Ю. Лазуткиной (Хабаровск), посвящённое оценке качества **скрининг-теста предикторов ишемической болезни сердца**. Предлагается расширить количество выявляемых маркеров для оценки риска ишемической болезни сердца и иных заболеваний. В работе А.Н. Сумина и соавт. (Кемерово) проведён анализ диагностической тактики у пациентов с подозрением на **обструктивную ишемическую болезнь сердца** и сделан вывод о необходимости более широкого использования неинвазивных визуализирующих тестов. Р.Е. Калинин и соавт. (Рязань) выявили, что показатели спектрального анализа электроэнцефалограммы и **когнитивный вызванный потенциал Р300** являются предикторами когнитивного статуса через 6 месяцев после каротидной эндартериоэктомии.

Соответствуют упомянутому Указу и Стратегии научно-технологического развития России и другие работы, опубликованные в журнале. Это касается исследований, посвящённых **социально значимым заболеваниям**: гепатиты, туберкулёз, ВИЧ-инфекция и др. Это статьи С.С. Слепцова и С.С. Слепцовой (Якутск) о хронических вирусных гепатитах в арктической зоне Республики Саха (Якутия); Р.Ю. Абдуллаева и соавт. (Москва), выявивших формирование гиперкоагуляции у больных туберкулёзом с сахарным диабетом после перенесённого COVID-19 средней и тяжёлой степени; А.Ю. Самбяловой и соавт. (Иркутск), проанализиро-

вавших концентрации антиретровирусных препаратов у детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией.

Несколько работ посвящены **репродуктивному здоровью и здоровью детей** – проблемам, которые также находятся в фокусе внимания современного здравоохранения и руководителей государства. Это обзор С.В. Зотова и соавт. (Новосибирск, Новокузнецк) с анализом влияния загрязнения окружающей среды, образа жизни, перенесённых операций, вредных привычек, ожирения, психологических и социальных факторов, сокращающих овариальный резерв. К.Д. Иевлева и соавт. (Иркутск) изучили диагностическую значимость интерлейкинов у женщин с хроническим эндометритом и избыточной массой тела, что позволит разработать малоинвазивный метод определения риска наличия данного заболевания. Е.Д. Казанцева и соавт. (Иркутск) выявили у больных гриппом детей более высокий, чем у здоровых, уровень продуктов липопероксидации, недостаток жирорастворимых витаминов и повышенные значения окисленного глутатиона. Завершает серию работа В.В. Кочеровой и соавт. из Читы, определивших факторы риска развития интравентрикулярных кровоизлияний у глубоко недоношенных новорождённых, что очень важно для организации помощи таким детям.

Хирургическое направление в данном выпуске представлено двумя оригинальными статьями и обзором. В.А. Зайка, Т.Н. Юрьева и Д.Б. Данзандоржиева (Иркутск) доказали, что эписклеральные методики **лечения регматогенной отслойки сетчатки** характеризуются лучшим анатомо-реконструктивным и функциональным эффектом. Л.В. Любимова и соавт. (Чебоксары) обнаружили *изменение* спектра ведущих возбудителей **имплантат-ассоциированной инфекции** в до- и постковидном периоде и изменение их антибиотикорезистентности и рекомендуют применение в эмпирической терапии ванкомицина, но ограниченное использование фторхинолонов. Обзор Л.М. Тибекиной и соавт. (Санкт-Петербург) доказывает, что **хирургический метод лечения фармакорезистентной эпилепсии** является приоритетным.

В данном выпуске как никогда большое количество интересных экспериментальных исследований. Это касается **моделирования различных патологий: катаракты** – А.Д. Чупровым и соавт. (Оренбург), показавшими снижение стеарил-коэнзим-А-дегидрогеназы и мелатонина в ткани хрусталика; **неалкогольной жировой болезни печени** – Т.В. Брус, А.Г. Васильевым (Санкт-Петербург), предлагающими дополнительные тесты для оценки тяжести процесса; скополаминовой **холинергической недостаточности** – Я.Г. Разуваевой и соавт. (Улан-Удэ), изучавших нейропротективное действие экстракта *Orostachys spinosa* Sweet.

Три работы посвящены исследованию **новых и потенциальных веществ и композиций** для создания вакцинных, лекарственных препаратов и пробиотиков. Так, А.Б. Пятидесятникова и соавт. (Иркутск) показали стимуляцию экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* селенорганическим соединением 2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромид (974zh), т. е. повышение иммуногенных свойств вакцинного штамма *Y. pestis* EV. С.М. Мирошниченко и соавт. (Новосибирск) доказали, что применение энтеросорбента на основе оксида алюминия и полидиметилсилоксана при моделировании непрерывного освещения способствует сохранению функциональной активности тимуса. А.С. Пеньдюхова и соавт. (Иркутск, Улан-Удэ) доказали, что важными для создания пробиотического консорциума с эффективным потенциалом являются как биосовместимость пробиотических штаммов, так и антагонистическая активность консорциума против болезнетворных штаммов, что позволяет определить эффективные стратегии применения пробиотиков.

В статье Е.В. Сайдаковой и соавт. (Пермь) для увеличения жизнеспособности и митотической активности размороженных после криоконсервации Т-лимфоцитов предлагается модифицировать протокол культивирования внесением интерлейкина 2 в культуральную среду.

Как всегда, в журнале есть описание уникальных клинических наблюдений. В этот раз Т.В. Сорокиной и соавт. (Тверь, Москва) описывается редкое прионное заболевание – фатальная семейная бессонница, вызванная аутосомно-доминантной мутацией D178N гена *PRNP*.

В заключение я бы рекомендовал обратить внимание на очень интересный не только для теоретиков и клиницистов, но и для преподавателей обзор Э.Т. Аблякимова и М.А. Кривенцова (Симферополь), обсуждающий лиганд-ассоциированную активацию рецепторов витамина D в морфогенезе иммунного воспаления. Более глубокое понимание межклеточных взаимодействий рецепторов витамина D, комплекса D_3 -VDR и рецепторов иммунных контрольных точек (PD-1, PD-L, CTLA) в воспалении может стать основой для разработки новых стратегий диагностики, прогноза и лечения различных заболеваний.

Хорошего Вам лета и новых интересных идей!

Для цитирования: Колесников С.И. Предисловие главного редактора к № 3 (2024). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 5-10. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.1

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 3, 2024

Sergey I. Kolesnikov

Member of RAS

When scanning through the content of current issue of our journal I would like to highlight the works that are directly related to the priorities and critical technologies which were identified by the President of the Russian Federation in his Decree No. 529 dated June 18, 2024. These are "Preventive and personalized medicine, ensuring healthy longevity" and "Biomedical and cognitive technologies for healthy and active longevity".

The first study is a joint work of Russian and Belarusian scientists from Moscow and Grodno (Krivolapchuk I.A. et al.), who analyzed **the factors and level of physical performance of schoolchildren aged 13–14 years**. It was revealed that the transition to higher stages of puberty is accompanied with progressive dynamics of most indicators of anaerobic performance, while indicators of aerobic power and capacity change in different directions. This is important to take into account when regulating physical activity in adolescents during the critical period of ontogenesis.

The second work is a review by I.E. Pleshchev et al. (Yaroslavl, Moscow) with an analysis of the prevalence of **sarcopenic obesity**, the causes of its occurrence, modern methods of its prevention and physical rehabilitation, age-related changes in adipose and muscle tissue, effect of calorie restriction and physical exercise complexes that have a positive effect. The authors also analyzed gaps in clinical practice recommendations.

This "age series" is completed with an article of L.V. Poskotinova et al. (Arkhangelsk) on the possibility of using the parameters of auditory evoked potentials as a criterion for reduced cognitive reserve and increased **risk of developing cognitive** impairments.

Studies on **cardiovascular pathology**, which makes the main contribution to the mortality and the reduction in life expectancy, is represented an extensive study by A.Yu. Lazutkina (Khabarovsk), on the assessment of the quality **of the screening test for coronary heart disease predictors**. It is proposed to expand the number of detected markers for assessing the risk of coronary heart disease and other pathologies. The work of A.N. Sumin et al. (Kemerovo) included analysis of diagnostic tactics in patients with suspected obstructive coronary heart disease which, and a conclusion was made about the necessity in wider using non-invasive imaging tests. R.E. Kalinin et al. (Ryazan) revealed that indicators of spectral analysis of electroencephalogram and P300 cognitive evoked potential are the predictors of cognitive status 6 months after carotid endarterectomy.

Other works published in this issue also correspond to the mentioned Decree and the Strategy for Scientific and Technological Development of the Russian Federation. This applies to the studies on **socially significant diseases**: hepatitis, tuberculosis, HIV infection, etc. This is the subject of articles by S.S. Sleptsov and S.S. Sleptsova on chronic viral hepatitis in the Arctic zone of the Republic of Sakha (Yakutia), R.Yu. Abdullaev et al. (Moscow), who revealed the development of hypercoagulation in TB patients with diabetes mellitus after moderate and severe COVID-19, A.Yu. Sambyalova et al. (Irkutsk), who analyzed the antiretroviral drugs concentrations in children with perinatal HIV infection.

Several works are devoted to **reproductive health and children's health** – the problems that are also under magnifying glass of modern

health care and state leaders. One of them is a review by S.V. Zotov et al. (Novosibirsk, Novokuznetsk) with an analysis of the impact of environmental pollution, lifestyle, surgical history, bad habits and obesity, psychological and social factors that reduce ovarian reserve. K.D. Ileva et al. (Irkutsk) studied the diagnostic value of interleukins in women with chronic endometritis and overweight, which will give an opportunity to develop a minimally invasive method for determining the risk of this disease. E.D. Kazantseva et al. (Irkutsk) revealed a higher level of lipid peroxidation products, a lack of fat-soluble vitamins and increased values of oxidized glutathione in children with influenza compared to the healthy children. The series is concluded by the work by V.V. Kocherova et al. (Chita), who determined the risk factors for the development of intraventricular hemorrhages in extremely premature newborns, which is very important for the providing medical care to such children.

Two original articles and a review are devoted to the **surgical problems**. V.A. Zaika, T.N. Ileva and D.B. Danzandorzhieva (Irkutsk) proved that episcleral methods of **treating rhegmatogenous retinal detachment** are characterized by the best anatomical, reconstructive and functional effect. L.V. Lyubimova et al. (Cheboksary) revealed a change in the spectrum of leading pathogens **of implant-associated infection** in the pre- and post-COVID period and a change in their antibiotic resistance, and recommend vancomycin for empirical therapy, but limited use of fluoroquinolones. The review by L.M. Tibekina et al. (St. Petersburg) proved that **the surgical method of treatment of drug-resistant epilepsy** is a priority.

This issue contains a larger number than ever of interesting experimental studies. This concerns the **modeling of various pathologies, such as: cataract** – by A.D. Chuprov et al. (Orenburg), who showed a decrease in stearyl-coenzyme-A-desaturase and melatonin concentration in the lens tissue; **non-alcoholic fatty liver disease** – by T.V. Brus and A.G. Vasilyev (St. Petersburg), offering additional tests to assess the severity of the process; scopolamine **cholinergic insufficiency** – by Ya.G. Razuvaeva et al. (Ulan-Ude), who studied the neuroprotective effect of *Orostachys spinosa* Sweet extract.

Three works are dedicated to the studying **new and potential substances and compositions** for the creation of vaccines, drugs and probiotics. For example, A.B. Pyatidesynikova et al. (Irkutsk) showed stimulation of *TLR2* and *TLR4* gene expression by organoselenium compound 2,6-dipyridinium-9-selenabicyclo[3.3.1]nonan dibromide, i. e. increase in the immunogenic properties of the vaccinal strain *Y. pestis* EV. S.M. Miroshnichenko et al. (Novosibirsk) found that using enterosorbent based on aluminum oxide and polydimethylsiloxane has protective effect for thymus functional activity in modeling continuous lighting in rats. A.S. Pendyukhova et al. (Irkutsk, Ulan-Ude) proved that both the biocompatibility of probiotic strains and the antagonistic activity of the consortium against pathogenic strains are important for the creation of a probiotic consortium with effective potential, which makes it possible to determine effective strategies for the use of probiotics.

The article by E.V. Saidakova et al. (Perm) proposes to modify the cultivation protocol by introducing interleukin 2 into the culture medium in order to increase the viability and mitotic activity of T lymphocytes thawed after cryopreservation.

As always, the issue contains a description of unique clinical observations. T.V. Sorokovikova et al. (Tver, Moscow) describe a rare prion disease – fatal familial insomnia caused by an autosomal dominant mutation D178N of the *PRNP* gene.

In conclusion, I would recommend paying attention to a very interesting review not only for theorists and clinicians, but also for teachers. This is

the review by E.T. Ablyakimov and M.A. Kriventsov (Simferopol) discussing ligand-associated activation of vitamin D receptors in the morphogenesis of immune inflammation. A better understanding of the intercellular relationships between vitamin D receptors, D3-VDR complex, and immune checkpoint receptors (PD-1, PD-L, CTLA) in inflammation could form the basis for the development of new strategies for the diagnosis, prognosis, and treatment of various diseases.

We wish you a good summer and new interesting ideas!

For citation: Kolesnikov S.I. Editor-in-Chief's preface to Issue 3, 2024. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 5-10. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.1

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие главного редактора к № 3 (2024). Колесников С.И. 5

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

Влияние физических упражнений и нутритивной поддержки на пациентов пожилого и старческого возраста с саркопеническим ожирением. Плещёв И.Е., Николенко В.Н., Ачкасов Е.Е., Преображенский Я.И., Гридин Л.А., Шкребко А.Н., Цоллер М.В. 14

Факторы и уровень физической работоспособности школьников 13–14 лет. Криволапчук И.А., Чернова М.Б., Сухецкий В.К., Чичерин В.П. 26

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Диагностическая значимость уровней интерлейкинов в сыворотке крови у женщин репродуктивного возраста с хроническим эндометритом и нормальной или избыточной массой тела. Иевлева К.Д., Данусевич И.Н., Аталян А.В., Егорова И.Ю., Бабаева Н.И., Рашидова М.А., Ахмедзянова М.Р., Шолохов Л.Ф., Наделяева Я.Г., Лазарева Л.М., Сутурина Л.В. 38

Ультрасонографические нормативы структуры яичников у женщин репродуктивного возраста различной этнической принадлежности. Лазарева Л.М., Аталян А.В., Данусевич И.Н., Наделяева Я.Г., Беленкая Л.В., Егорова И.Ю., Бабаева Н.И., Сутурина Л.В. 49

Факторы риска снижения овариального резерва женщин: актуальное состояние проблемы. Zotov С.В., Лихачева В.В., Мотырева П.Ю., Азарова О.В., Айзикович Б.И. 69

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

Лиганд-ассоциированная активация рецепторов витамина D и потенциальные точки приложения её эффектов в морфогенезе иммунного воспаления: обзор литературы. Аблякимов Э.Т., Кривенцов М.А. 79

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА

Генетическое прионное заболевание – фатальная семейная бессонница (клинический случай). Сороковикова Т.В., Морозов А.М., Крюкова А.Н., Наумова С.А., Митропольская А.В. 90

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Lipid peroxidation – antioxidant defense system in children with seasonal influenza. Kazantseva E.D., Daren-

CONTENTS

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Editor-in-chief's preface to Issue 3, 2024. Kolesnikov S.I. 5

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

The effect of exercise and nutritional support on elderly and senile patients with sarcopenic obesity. Pleshchev I.E., Nikolenko V.N., Achkasov E.E., Preobrazhenskiy Ya.I., Gridin L.A., Shkrebko A.N., Tsoller M.V. 14

Factors and level of physical performance of schoolchildren aged 13–14 years. Krivolapchuk I.A., Chernova M.B., Suheckij V.K., Chicherin V.P. 26

OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

Diagnostic significance of interleukin levels in blood serum in premenopausal women with chronic endometritis and normal weight or overweight. Ievleva K.D., Danusevich I.N., Atalyan A.V., Egorova I.Yu., Babaeva N.I., Rashidova M.A., Akhmedzyanova M.R., Sholokhov L.F., Nadeliaeva I.G., Lazareva L.M., Suturina L.V. 38

Ultrasonographic threshold of ovarian structure in premenopausal women of different ethnicity. Lazareva L.M., Atalyan A.V., Danusevich I.N., Nadeliaeva I.G., Belenkaya L.V., Egorova I.Yu., Babaeva N.I., Suturina L.V. 49

Risk factors for diminished ovarian reserve in women: Current state of the problem. Zotov S.V., Likhacheva V.V., Motyeva P.Yu., Azarova O.V., Ayzikovich B.I. 69

BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

Ligand-associated activation of vitamin D receptors and potential points of application of its effects in the morphogenesis of immune inflammation: Literature review. Ablyakimov E.T., Kriventsov M.A. 79

GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

Genetic prion disease – fatal familial insomnia (clinical case). Sorokovikova T.V., Morozov A.M., Kryukova A.N., Naumova S.A., Mitropolskaya A.V. 90

INFECTIOUS DISEASES

Перекисное окисление липидов – система антиоксидантной защиты у детей с сезонным гриппом. Ka-

skaya M.A., Rychkova L.V., Petrova A.G., Semenova N.V., Kurashova N.A., Grebenkina L.A., Kolesnikova L.I.

95

занцева Е.Д., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Петрова А.Г., Семёнова Н.В., Курашова Н.А., Гребенкина Л.А., Колесникова Л.И.

Лекарственный мониторинг антиретровирусных препаратов у детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией. Самбялова А.Ю., Баурова Т.А., Бельских А.В., Манаенкова Т.Л., Беляева Е.В., Ершова О.А., Немчинова Н.В., Плотникова Ю.К., Колесникова Л.И., Рычкова Л.В.

102

Drug monitoring of antiretroviral drugs in children with perinatal HIV infection. Sambyalova A.Yu., Baurava T.A., Bel'skikh A.V., Manaenkova T.L., Belyaeva E.V., Ershova O.A., Nemchinova N.V., Plotnikova Yu.K., Kolesnikova L.I., Rychkova L.V.

КАРДИОЛОГИЯ

Современные алгоритмы диагностики обструктивной ишемической болезни сердца в реальной клинической практике. Сумин А.Н., Старовойтова А.В., Щеглова А.В., Горбунова Е.В.

111

CARDIOLOGY

Contemporary algorithms for diagnosing obstructive coronary artery disease in real clinical practice. Sumin A.N., Starovoytova A.V., Shcheglova A.V., Gorbunova E.V.

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Антагонистическая активность монокультур и консорциумов лактобацилл в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий как скрининг их пробиотического потенциала. Пендюхова А.С., Белькова Н.Л., Охотина Ю.С., Иванчиков Е.А., Щёкотова А.В., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В.

121

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

Antagonistic activity of monocultures and consortia of lactobacilli against multidrug-resistant isolates of opportunistic bacteria as a screening of their probiotic potential. Pendyukhova A.S., Belkova N.L., Okhotina Yu.S., Ivanchikov E.A., Shchekotova A.V., Semenova N.V., Rychkova L.V.

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ

Возрастные особенности параметров слуховых вызванных потенциалов P300 у пожилых людей в контексте когнитивного здоровья: исследование на Европейском Севере России. Поскотинова Л.В., Кривоногова Е.В., Кривоногова О.В., Кудрявцев А.В.

130

NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

Age-related parameters of P300 auditory evoked potentials in elderly persons in the context of cognitive health: A study in the European North of Russia. Poskotinova L.V., Krivonogova E.V., Krivonogova O.V., Kudryavtsev A.V.

Предикторы динамики изменения когнитивных функций у пациентов через 6 месяцев после каротидной эндартерэктомии. Калинин Р.Е., Пшенников А.С., Сучков И.А., Зорин Р.А., Соляник Н.А., Буршинов А.О., Леонов Г.А., Жаднов В.А., Афенов М.Р.

144

Predictors of the dynamics of changes in cognitive functions in patients 6 months after carotid endarterectomy. Kalinin R.E., Pshennikov A.S., Suchkov I.A., Zorin R.A., Solyanik N.A., Burshinov A.O., Leonov G.A., Zhadnov V.A., Afenov M.R.

Современные представления о фармакорезистентной эпилепсии, патогенезе, факторах риска и исходах её хирургического лечения. Тибеккина Л.М., Аль-Сахли У.А., Флуд В.В.

153

Drug-resistant epilepsy: Current concepts, pathogenesis, risk factors, outcomes of surgical treatment. Tibekina L.M., Al-Sahli O.A., Flud V.V.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Выбор оптимального метода хирургического лечения регматогенной отслойки сетчатки. Зайка В.А., Юрьева Т.Н., Данзандоржиева Д.Б.

164

OPHTHALMOLOGY

Choosing the optimal method for surgical treatment of rhegmatogenous retinal detachment. Zaika V.A., Iureva T.N., Danzandorzheeva D.B.

Метаболические изменения в хрусталиках глаза при прогрессировании катаракты. Чупров А.Д., Нотова С.В., Маршинская О.В., Казакова Т.В.

171

Metabolic changes in the eye lens in the progression of cataract. Chuprov A.D., Notova S.V., Marshinskaia O.V., Kazakova T.V.

ПЕДИАТРИЯ

Причины развития внутрижелудочковых кровоизлияний у глубоко недоношенных новорождённых

Causes of intraventricular hemorrhages in extremely premature newborns and features of their early out-

и особенности их ранних исходов. Кочерова В.В.,
Попова Н.Г., Щербак В.А.

179

comes. Kocherova V.V., Popova N.G., Shcherbak V.A.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Оценка качества скрининг-теста предикторов ишеми-
ческой болезни сердца. Лазуткина А.Ю.

188

PREVENTIVE MEDICINE

Quality assessment of the screening test for predictors
of coronary heart disease. Lazutkina A.Yu.

ТРАВМАТОЛОГИЯ

Микробиологический профиль пациентов с ортопе-
дической имплантат-ассоциированной инфекцией
в постковидном периоде. Любимова Л.В., Пчелова Н.Н.,
Николаев Н.С., Преображенская Е.В., Любимов Е.А.

203

TRAUMATOLOGY

Microbiological profile of patients with orthopedic im-
plant-associated infection in the post-COVID period.
Lyubimova L.V., Pchelova N.N., Nikolaev N.S., Preobra-
zhenskaya E.V., Lyubimov E.A.

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ

Исследование нейропротективных свойств *Orostachys*
spinosus экстракта сухого при холинергической не-
достаточности. Разуваева Я.Г., Торопова А.А., Баян-
дueva Е.А., Николаева И.Г.

213

PHARMACOLOGY AND PHARMACY

Neuroprotective effect of *Orostachys spinosus* dry extract
in cholinergic insufficiency. Razuvaeva Ya.G., Toropo-
va A.A., Bayandueva E.A., Nikolaeva I.G.

ФТИЗИАТРИЯ

Уровень маркеров систем свёртывания и фибриноли-
за у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующим
сахарным диабетом после перенесённой COVID-19.
Абдуллаев Р.Ю., Комиссарова О.Г., Шорохова В.А.

222

PHTHISIOLOGY

Levels of markers of coagulation and fibrinolysis systems
in patients with pulmonary tuberculosis with con-
comitant diabetes mellitus after COVID-19. Abdul-
laev R.Yu., Komissarova O.G., Shorokhova V.A.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Biochemical and histological changes in two non-alco-
holic fatty liver disease models of different severity.
Brus T.V., Vasiliev A.G.

230

EXPERIMENTAL RESEARCHES

Биохимические и гистологические изменения на двух
моделях неалкогольной жировой болезни печени
различной степени тяжести. Брус Т.В., Васильев А.Г.

Влияние алюминий-, кремнийсодержащего энтеросор-
бента на клеточный состав тимуса мышей, содержав-
шихся при двухнедельном круглосуточном освеще-
нии. Мирошниченко С.М., Мичурина С.В., Ищенко И.Ю.,
Рачковская Л.Н., Серых А.Е., Рачковский Э.Э., Лetyagin А.Ю.

239

The effect of aluminum- and silicon-containing enter-
osorbent on the thymic cellular composition in mice
kept under two-week all-night lighting. Mirosh-
nichenko S.M., Michurina S.V., Ishchenko I.Yu., Rachkov-
skaya L.N., Serykh A.E., Rachkovsky E.E., Letyagin A.Yu.

Влияние селенорганического соединения 974zh на экс-
прессию генов *TLR2* и *TLR4* в клетках крови и селезён-
ки экспериментальных животных при совместном
введении с *Yersinia pestis* EV. Пятидесятникова А.Б.,
Дубровина В.И., Юрьева О.В., Корытов К.М., Ивано-
ва Т.А., Потанов В.А., Мусалов М.В., Балахонов С.В.

249

Effect of the organoselenium compound 974zh
on the *TLR2* and *TLR4* gene expression in blood
and spleen cells of experimental animals when co-
administered with *Yersinia pestis* EV. Pyatidesyatniko-
va A.B., Dubrovina V.I., Yuriyeva O.V., Korytov K.M., Ivano-
va T.I., Potapov V.A., Musalov M.V., Balakhonov S.V.

Модификация протокола исследования функцио-
нальной активности оттаявших после криокон-
сервации Т-лимфоцитов. Сайдакова Е.В., Королев-
ская Л.Б., Пономарева В.Н., Власова В.В.

256

Adapting the protocol for studying the functional cap-
acity of T lymphocytes thawed from cryopreservation.
Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Ponomareva V.N.,
Vlasova V.V.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Парентеральные хронические вирусные гепати-
ты в Арктической зоне Республики Саха (Якутия)
как важнейшая медико-социальная проблема.
Слепцов С.С., Слепцова С.С.

266

EPIDEMIOLOGY

Parenteral chronic viral hepatitis in the Arctic zone
of the Republic of Sakha (Yakutia) as the most impor-
tant medical and social problem. Sleptsov S.S., Slep-
tsova S.S.

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

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ И НУТРИТИВНОЙ ПОДДЕРЖКИ НА ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО И СТАРЧЕСКОГО ВОЗРАСТА С САРКОПЕНИЧЕСКИМ ОЖИРЕНИЕМ

Плещёв И.Е.¹,
Николенко В.Н.^{2,3},
Ачкасов Е.Е.²,
Преображенский Я.И.¹,
Гридин Л.А.⁴,
Шкрёбко А.Н.¹,
Цоллер М.В.²

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский
государственный медицинский
университет» Минздрава России (150000,
г. Ярославль, ул. Революционная, 5,
Россия)

² ФГАОУ ВО Первый Московский
государственный медицинский
университет имени И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский
Университет) (119991, г. Москва,
ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4,
Россия)

³ ФГБОУ ВО «Московский
государственный университет
имени М.В. Ломоносова» (119991,
г. Москва, Ленинские горы, 1, Россия)

⁴ Московский центр проблем здоровья
при Правительстве Москвы (119049,
г. Москва, ул. Житная, 14, стр. 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Плещёв Игорь Евгеньевич,
e-mail: doctor.pleshyov@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель обзора. Проанализировать распространённость саркопенического ожирения среди людей пожилого и старческого возраста, оценить причины его возникновения, представить современные методы профилактики и физической реабилитации.

В данной обзорной статье обсуждаются самые последние данные о возрастных изменениях в состоянии жировой и мышечной ткани, а также об ограничении калорий и комплексах физических упражнений, которые оказывают положительное влияние на физические показатели пожилых людей с саркопеническим ожирением. Кроме того, выявлены и проанализированы потенциальные пробелы в рекомендациях по клинической практике, которые заслуживают внимания в будущих исследованиях.

Стратегия поиска. Ключевые слова, используемые для определения условий участия в обзоре: «саркопеническое ожирение», «саркопения с ожирением», «саркопения», «пожилой/преклонный возраст».

Критерии включения и исключения. В обзор включались оригинальные результаты исследований (обзоры, метаанализы). Редакционные статьи, тезисы конференций, протоколы исследований были исключены. Выборка для исследования включала женщин и мужчин любой расы в возрасте ≥ 60 лет с диагнозом «саркопеническое ожирение» и сохранённой функцией локомоции. Также исключены статьи с участием госпитализированных пациентов. Исследования, не связанные с людьми, и исследования, в которых не сообщалось точных критериев вмешательства (например, питание, упражнения, продолжительность и т. д.), были исключены.

Поиск литературы был проведён в четырёх электронных базах данных: PubMed, Cochrane Library, Springer, Scopus, – за период с 2013 г. по 1 августа 2023 г. Ограничений на языковой уклон публикации введено не было.

Ключевые слова: саркопения, физическая активность, старение, ожирение, мышечная сила, мышечная масса тела, пожилой возраст, заболеваемость

Статья поступила: 12.09.2023
Статья принята: 27.05.2024
Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Плещёв И.Е., Николенко В.Н., Ачкасов Е.Е., Преображенский Я.И., Гридин Л.А., Шкрёбко А.Н., Цоллер М.В. Влияние физических упражнений и нутритивной поддержки на пациентов пожилого и старческого возраста с саркопеническим ожирением. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 14-25. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.2

THE EFFECT OF EXERCISE AND NUTRITIONAL SUPPORT ON ELDERLY AND SENILE PATIENTS WITH SARCOPENIC OBESITY

Pleshchev I.E.¹,
Nikolenko V.N.^{2,3},
Achkasov E.E.²,
Preobrazhenskiy Ya.I.¹,
Gridin L.A.⁴,
Shkrebko A.N.¹,
Tsoller M.V.²

¹ Yaroslavl State Medical University
(Revolutionnaya str. 5, Yaroslavl 150000,
Russian Federation)

² I.M. Sechenov First Moscow State
Medical University (Sechenov University)
(Bolshaya Pirogovskaya str. 2, build. 4,
Moscow 119991 Russian Federation)

³ Lomonosov Moscow State University
(Leninskie Gory 1, Moscow 119991,
Russian Federation)

⁴ Moscow Center for Health Problems
under the Government of Moscow
(Zhitnaya str. 14, build. 3., Moscow 119049,
Russian Federation)

Corresponding author:

Igor' E. Pleshchev,

e-mail: Doctor.pleshyov@gmail.com

ABSTRACT

The aim of the review. To analyze the prevalence of sarcopenic obesity among elderly and senile people, to assess its causes, and to present modern methods for its prevention and physical rehabilitation.

This review article discusses the most recent evidence on age-related changes in fat and muscle tissue, and on calorie restriction and exercise that have positive effect on physical performance in older people with sarcopenic obesity. In addition, potential gaps in clinical practice guidelines that merit attention in future research are identified and analyzed.

Search strategy. We used the following key words to define participation in the review: "sarcopenic obesity", "sarcopenia with obesity", "sarcopenia", "elderly/old age".

Inclusion and exclusion criteria. The review included original research results (reviews, meta-analyses). Editorials, proceeding of the conferences, and research protocols were excluded. The study sample included women and men of any race aged ≥ 60 years with a diagnosis of sarcopenic obesity and with preserved locomotion function. Articles involving hospital patients were also excluded. Non-human studies and studies that did not report precise intervention criteria (e. g., nutrition, exercise, duration, etc.) were excluded.

The literature search was conducted in four electronic databases: PubMed, Cochrane Library, Springer, Scopus, for the period from 2013 to August 1, 2023. There were no restrictions on the language of the publication.

Key words: sarcopenia, physical activity, aging, obesity, muscle strength, lean body mass, old age, morbidity

Received: 12.09.2023

Accepted: 27.05.2024

Published: 15.07.2024

For citation: Pleshchev I.E., Nikolenko V.N., Achkasov E.E., Preobrazhenskiy Ya.I., Gridin L.A., Shkrebko A.N., Tsoller M.V. The effect of exercise and nutritional support on elderly and senile patients with sarcopenic obesity. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 14-25. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.2

ВВЕДЕНИЕ

Число людей пожилого и старческого возраста растёт во всём мире. В 2017 г. число пожилых людей составляло 13 % мирового населения и, как ожидается, к 2030 г. возрастет до 20 % населения, а к 2050 г. их численность достигнет 2,1 млрд человек [1]. Большинство хронических заболеваний обостряются с возрастом, что само по себе связано с глубокими изменениями состава тела, то есть с увеличением и перераспределением жировой массы и потерей мышечной и костной массы [2].

Среди наиболее распространённых состояний – ожирение, сложное, многофакторное и рецидивирующее заболевание, которое приобрело характер пандемии во всём мире [3]. В нескольких странах распространённость ожирения достигает 30–40 % населения, и ожидается дальнейший рост заболеваемости в течение следующих десятилетий [4]. Ожирение характеризуется чрезмерным накоплением белой жировой ткани не только в жировых отложениях, но и эктопически, что значительно снижает физическую функцию [2, 3]. Таким образом, неудивительно, что ожирение связано более чем с 200 медицинскими осложнениями и повышенным риском заболеваемости и смертности, являясь пятой по значимости причиной смерти во всём мире [3, 4]. Снижение мышечной массы и силы, известное как саркопения, очень распространено среди пожилых людей с ожирением (саркопеническое ожирение) и тесно связано со слабостью – состоянием нарушенного гомеостатического резерва и стрессоустойчивости, приводящим к повышенной уязвимости к неблагоприятным последствиям для здоровья [5]. Таким образом, саркопеническое ожирение тесно связано не только с кардиометаболическими дисфункциями, но и с физической инвалидностью [2].

Хотя мы явно наблюдаем значительное увеличение общей продолжительности жизни, хронические заболевания, связанные со старением, которые усугубляются ожирением, серьёзно ухудшают качество жизни в течение этих «приобретённых лет». Поэтому предпринимаются всё более активные усилия по выявлению эффективных стратегий, способных обуздать пандемию ожирения и помочь процессу здорового старения. Среди них были широко изучены меры по изменению образа жизни, включающие протоколы питания и физических упражнений [6]. В этом контексте важно подчеркнуть, что потеря веса, вызванная диетой, связана с потерей не только жира, но и мышечной и костной массы и может ещё больше усугубить возрастную саркопению и слабость у пожилых людей. Успешные подходы, способные индуцировать потерю жировой массы при сохранении мышечной и костной массы, имеют решающее значение для снижения кардиометаболических рисков, связанных со старением и ожирением, и в то же время для предотвращения или смягчения слабости [2, 7, 8].

Ожирение – это хроническое заболевание обмена веществ, характеризующееся увеличением запасов жира в организме, что, следовательно, повышает риск метаболических заболеваний, сердечно-сосудистых заболе-

ваний и смертности. Как и в случае саркопии, в настоящее время отсутствует консенсус относительно соответствующих пороговых значений для ожирения. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) использует индекс массы тела (ИМТ) для определения ожирения ($\geq 30 \text{ кг/м}^2$) и избыточного веса ($25\text{--}29,9 \text{ кг/м}^2$) [3]. Американская ассоциация клинической эндокринологии [9] рекомендует использовать пороговые значения содержания жира в организме для диагностики ожирения ($> 25\%$ у мужчин и $> 35\%$ у женщин). Количество жира в брюшной полости легко оценить с помощью окружности талии (ОТ), которая сильно коррелирует с содержанием жира внутри брюшной полости. ВОЗ также использовала пороговые значения ОТ ($\geq 102 \text{ см}$ для мужчин, $\geq 88 \text{ см}$ для женщин) в качестве суррогата висцерального жира. Более низкие пороговые значения для центрального ожирения требуются для различных этнических групп, включая азиатов (2, 8). Корейское общество по изучению ожирения (Korean Society for the Study of Obesity) определяет абдоминальное ожирение как $\text{ОТ} \geq 90 \text{ см}$ и $\geq 85 \text{ см}$ у мужчин и женщин соответственно, основываясь на результатах эпидемиологического исследования [10].

Саркопения – это преимущественно гериатрическое заболевание с постепенной потерей мышечной силы, массы скелетных мышц и мышечной функции. Официально термин был принят на заседании Европейской рабочей группы по саркопии у пожилых людей 2010 г. (EWGSOP, European Working Group on Sarcopenia in Older People), а уже в сентябре 2016 г. саркопения вошла в международную классификацию болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) под кодом M62.84. В 2018 г. обновлённый консенсус EWGSOP-2 был направлен на повышение эффективности раннего выявления и лечения саркопии и её риска в клинической практике [11]. Группа приняла низкую мышечную силу в качестве основного фактора, определяющего саркопению, поскольку считается, что мышечная сила лучше, чем мышечная масса, при прогнозировании неблагоприятных исходов [11, 12]. EWGSOP-2 сфокусировалась на низкой мышечной силе (сила хвата) в качестве основного параметра саркопии (кистевая динамометрия); также использовалось низкое количество и качество мышц для подтверждения диагноза саркопии (двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (ДРА), биоимпедансный анализ (БИА), ультразвуковое исследование, и т. д.), а оценка степени тяжести саркопии опиралась на показатели физической работоспособности, основанные на серии тестов на физическое функционирование (SPPB, Short Physical Performance Battery) [5, 11].

Родственным расстройством является саркопеническое ожирение – термин, введённый Р.Н. Баумгартером, используемый при специфическом фенотипе низкой мышечной массы и высокого содержания жира в организме [13].

Саркопеническое ожирение (СО) – многофакторное заболевание, характеризующееся одновременным наличием саркопии и ожирения. Для пациентов СО представляет больший риск для здоровья, только саркопе-

ния или ожирение [2, 13]. Следовательно, изучение саркопенического ожирения и поиск эффективного лечения важны в связи с постоянным увеличением численности пожилого населения.

Саркопения и ожирение приводят к снижению физической работоспособности. Отличительным признаком саркопении является замедление скорости походки. Помимо более высокого риска падений [14], пожилые люди с ожирением имеют сниженную физическую работоспособность, что оценивается с помощью опросников для самооценки или тестов, таких как SPPB [13]. Считается, что саркопеническое ожирение оказывает синергетическое воздействие на ухудшение здоровья по сравнению только с саркопенией или ожирением. Оно вызывает больше проблем со здоровьем, чем саркопения или ожирение [15], и является основной причиной нарушений обмена веществ, инвалидности, сердечно-сосудистых заболеваний и смертности [16]. В настоящее время отсутствует общее определение, что затрудняет установление стандартизированной диагностики и ведения. Несмотря на достигнутый прогресс в определении саркопенического ожирения, в соответствии с недавним Консенсусом Европейского общества клинического питания и метаболизма (ESPEN, European Society for Clinical Nutrition and Metabolism) и Европейской ассоциации по борьбе с исследованием ожирения (EASO, European Association for the Study of Obesity) [17], обсуждение лечения этого состояния всё ещё открыто.

Саркопеническое ожирение является глобальным явлением в области здравоохранения, обусловленным как быстрым увеличением числа пожилых людей, так и эпидемией ожирения. Связанное со старением увеличение висцерального жира и уменьшение мышечной массы коррелируют с многочисленными неблагоприятными кардиометаболическими эффектами и способствуют ухудшению состояния здоровья [18]. Несколько биологических путей приводят к возрастному саркопеническому ожирению. Старение снижает скорость метаболизма в состоянии покоя и метаболическую адаптацию, включая адаптивный термогенез, сохраняя низкую мышечную массу и увеличивая жировые отложения [13]. Уменьшенная скорость метаболизма в состоянии покоя, физическая активность, объём митохондрий и окислительная способность с возрастом способствуют связанному со старением снижению мышечной массы и силы. Более того, связанные со старением изменения в распределении жира в организме включают потерю подкожного жира и накопление висцерального жира [19]. Также возрастные изменения, сопровождающиеся уменьшением минеральной плотности костной ткани, могут привести к развитию остесаркопенического ожирения – синдрома, основным критерием которого является ухудшение состояния костей и потеря мышечной массы вкуче с наличием саркопении и ожирения [10, 20].

Гормональные изменения, обусловленные полом, являются важным фактором, связанным с саркопеническим ожирением. У женщин снижение уровня эстрогена после менопаузы приводит к увеличению массы тела и жировой массы, а также к сдвигам в накоплении

жировых отложений – от подкожных до висцеральных [13, 18]. У пожилых мужчин общий уровень тестостерона снижается примерно на 1 % в год, причём более низкие уровни связаны с саркопенией, снижением мышечной силы, ухудшением физической работоспособности и повышенным риском падения [21].

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ И РИСК СМЕРТНОСТИ

По мере старения населения распространённость саркопенического ожирения возрастает, поскольку распространённость ожирения и саркопении также усиливается, особенно среди взрослых в возрасте 65 лет и старше [2]. Это связано со снижением физической активности и энергетических затрат, а также с увеличением массы тела [10, 13].

Исследование саркопенического ожирения в Южной Корее, включавшее здоровых добровольцев в возрасте 40–80 лет, выявило распространённость саркопенического ожирения в диапазоне от 0,8 % до 22,3 % у женщин и от 1,3 % до 15,4 % – у мужчин [22]. Данные, полученные от лиц в возрасте 18–90 лет в рамках голландского когортного исследования Lifelines, показали, что глобальная распространённость саркопенического ожирения составляет 1,4 % и 0,9 % у женщин и мужчин соответственно с увеличением распространённости в возрасте 50 лет и достигая 16,7 % в возрастной группе 80–89 лет [23]. Метаанализ, включающий 50 исследований с участием 86 285 человек, выявил глобальную распространённость саркопенического ожирения у взрослых в возрасте 60 лет, составляющую 11 % [24].

Во время исследования, проведённого с участием пожилых людей ($n = 4652$) в возрасте старше 60 лет, проведённом в рамках Третьего национального обследования состояния здоровья и питания (NHANES III, National Health and Nutrition Examination Survey), показатели распространённости саркопенического ожирения составили 18,1 % у женщин и 42,9 % у мужчин. В исследовании саркопении определялась с использованием полученных на основе показателей БИА с поправкой на пол [25]. Другое исследование, проведённое среди корейцев ($n = 2221$) в возрасте старше 60 лет, в котором использовались те же критерии СО, показало, что распространённость саркопенического ожирения составила 6,1 % и 7,3 % у мужчин и женщин соответственно [10]. Быстро растущая распространённость ожирения предполагает вероятное соответствующее увеличение саркопенического ожирения у лиц пожилого и старческого возраста.

Многочисленные исследования оценивали связь между саркопеническим ожирением и риском смертности. В NHANES III также был проведён анализ риска смертности у 4652 человек в возрасте 60 лет и старше с последующим наблюдением в течение 14 лет, где наблюдался значительно более высокий риск смертности от всех причин среди женщин с саркопеническим ожирением по сравнению с женщинами без ожирения или саркопении. Однако не наблюдалось статистиче-

ски значимой разницы с точки зрения риска смертности между мужчинами с СО и без него [25]. С другой стороны, в Британском региональном исследовании сердца изучался риск смертности среди 4107 мужчин в возрасте от 60 до 79 лет. В течение 11-летнего периода наблюдения мужчины с саркопеническим ожирением имели самый высокий риск смертности по сравнению с контрольными субъектами без ожирения и саркопении [26]. В шведском исследовании, включавшем 809 человек, оценивался риск смертности при саркопеническом ожирении. Женщины в возрасте 75 лет с СО имели более высокий риск 10-летней смертности по сравнению с женщинами без саркопении или ожирения. Среди мужчин в возрасте 75 лет наблюдалась аналогичная связь со смертностью, хотя она и не достигала статистической значимости [27]. Когортное исследование с использованием британского биобанка ($n = 452\,931$) показало значительно повышенный риск смертности у лиц с саркопеническим ожирением по сравнению с контрольными субъектами с предшествующими сердечно-сосудистыми заболеваниями [28]. Наконец, метаанализ 23 исследований, включавших 50 866 человек, показал, что саркопеническое ожирение было в значительной степени связано с более высоким риском смертности среди людей пожилого возраста. Анализ нескольких подгрупп показал, что этот более высокий риск смертности является значительным среди взрослых, проживающих самостоятельно (отдельно от родственников), и госпитализированных пациентов. Кроме того, это значение сохранялось в исследованиях, в которых использовались различные критерии для определения ожирения и саркопении [29].

Проведённое в США долгосрочное исследование 2309 пожилых американских мужчин японского происхождения в рамках Кардиологической программы Гонолулу (The Honolulu Heart Program) сообщало о значительно более высоком риске смертности в группе саркопении (определялось с использованием ДРА), чем в группе без саркопении и ожирения [30].

ДИАГНОСТИКА САРКОПЕНИЧЕСКОГО ОЖИРЕНИЯ

В связи с тем, что саркопеническое ожирение является субклиническим заболеванием, и не существует универсального консенсуса в отношении диагностических критериев и их внедрения в клиническую практику, то идентификация заболевания и диагноз зависят от суммы его составляющих, а именно ожирения и саркопении.

Недавно (в 2022 г.) ESPEN и EASO опубликовали совместное консенсусное заявление об определении и диагностических критериях саркопенического ожирения [31] (рис. 1). Предлагаемый диагностический процесс выглядит следующим образом: 1) скрининг пациентов по высокому ИМТ или увеличенной окружности талии и суррогатным параметрам саркопении; 2) диагностика пациентов путём тестирования мышечной функции с последующим анализом состава тела; 3) постановка

диагноза в случае положительного результата на саркопеническое ожирение [31]. На практике человек с положительным результатом скрининга на оба состояния должен рассмотреть возможность проведения диагностического обследования для подтверждения саркопенического ожирения, при котором в первую очередь оценивается снижение функции скелетных мышц, а затем измеряется изменённый состав тела, включая увеличение жировой массы и уменьшение мышечной массы. В будущем необходимо будет проверить эти диагностические критерии саркопенического ожирения и установить универсальные референтные значения в соответствии с методом измерения и этнической группой.

На сегодняшний день для саркопенического ожирения не существует кода МКБ, и рабочее определение/дифференциальный диагноз постоянно совершенствуются. Возраст является сильным фактором риска возникновения и тяжести саркопенического ожирения, но это заболевание характерно не только для людей пожилого старческого возраста [32]. Таким образом, диагностическое внимание уделяется проявлению симптомов, при этом возраст является компонентом управления рисками [33].

Современные определения саркопенического ожирения основаны на индивидуальных определениях саркопении и ожирения. Однако эти определения значительно различаются, что вызывает трудности в постановке точного диагноза, проведении эпидемиологических исследований и разработке стратегий лечения этого заболевания.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ НА ФИЗИЧЕСКУЮ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ

Физические упражнения могут влиять на гормональный баланс, снижать окислительный стресс, индуцировать синтез митохондрий, изменять иммунологические и двигательные функции и улучшать окислительную способность мышц [34, 35]. Повышенный синтез мышечного белка при физической нагрузке повышает чувствительность мышц к действию инсулина и способствует анаболизму [6]. Саркопения связана со снижением синтеза мышечного белка, частично из-за снижения анаболической стимуляции (которая может быть результатом отсутствия регулярных физических упражнений). Аэробные упражнения, силовые тренировки и их комбинация увеличивают синтез мышечного белка у пожилых людей, несмотря на возрастное снижение анаболических сигналов [7, 10]. Аэробная активность может улучшить окислительную способность мышц, противодействуя негативному воздействию внутриклеточных липидов и ускоряя липолиз, что приводит к увеличению плотности капилляров. Синтез митохондрий в миоцитах усиливается для удовлетворения потребностей, связанных с увеличением плотности капилляров, что в свою очередь приводит к увеличению извлечения кислорода и метаболизму за счёт индукции кальциевых и метаболических сигнальных путей [34].



РИС. 1.

Диагностическая процедура для оценки саркопенического ожирения: SARC-F – Strength, Assistance with walking, Rising from a chair, Climbing stairs and Falls; СЗК – сила захвата кисти (динамометрия); ЖМ – жировая масса; АМСМ – абсолютная масса скелетных мышц

FIG. 1.

Diagnostic procedure for the assessment of sarcopenic obesity SARC-F – Strength, Assistance with walking, Rising from a chair, Climbing stairs and Falls; СЗК – strength of grip (handgrip test); ЖМ – fat mass; АМСМ – absolute skeletal muscle mass

Апоптоз миоцитов может быть отменен физической активностью, в то время как механизмы контроля качества клеток, включая аутофагию, митофагию и митохондриогенез, способствуют развитию саркопенического ожирения и могут быть потенциальными мишенями для терапии [36]. Снижение выработки цитокинов может привести к улучшению метаболизма глюкозы, чувствительности к инсулину и синтеза мышечного белка, что может замедлить прогрессирование саркопенического ожирения [2].

Упражнения с отягощениями увеличивают количество и размер быстро сокращающихся мышечных волокон (IIA и IIX), которые улучшают метаболизм глюкозы в мышцах и синтез мышечного белка [37]. Синтез мышечного белка также улучшается за счёт стимулированной питательными веществами вазодилатации и транспортировки питательных веществ к местным мышечным миофибриллам [7]. Длина мышечных пучков и жёсткость мышечных сухожилий, как сообщается, увеличились после силовых тренировок (жим ногами и разгибание) в течение 14 недель в группе мужчин и женщин в возрасте старше 65 лет [2]. Было также показано, что сило-

вые тренировки снижают уровни цитокинов, таких как резистин, лептин и IL-6 (REF142) [38].

ЛЕЧЕНИЕ САРКОПЕНИЧЕСКОГО ОЖИРЕНИЯ

Программы силовых, аэробных и комбинированных тренировок уменьшают жировые отложения и улучшают мышечную функцию у пожилых мужчин и женщин с саркопеническим ожирением [39, 40]. Примечательно, что тренировки с отягощениями сами по себе были эффективнее для улучшения работы мышц. Тренировка с отягощениями улучшает физические функции при одновременном снижении жировой массы у пожилых женщин с саркопеническим ожирением [40, 41]. Аналогичным образом изменение рациона питания, обеспечивающее адекватное и/или высокое потребление белка, предотвращает снижение мышечной массы и в некоторых случаях улучшает функцию мышц [42]. Ограничение в питании является золотым стандартом лечения ожирения первой линии и в определённой степени противодействует пагубному воздействию старения на функ-

цию скелетных мышц у млекопитающих [43]. Однако доказательств безопасности и эффективности ограничения питания у пациентов с саркопеническим ожирением крайне мало. В недавнем исследовании очень низкокалорийная диета улучшила мышечную работоспособность у пациентов с саркопеническим ожирением, хотя и в ущерб мышечной массе [44]. У пациентов, получавших очень низкокалорийную диету в сочетании с физическими упражнениями, наблюдалось аналогичное улучшение мышечной функции при сохранении мышечной массы, что указывает на синергетический эффект комбинированной терапии в лечении заболевания. Микроэлементы и минералы, такие как аминокислоты, витамин D, селен и магний, могут быть добавлены в рацион для устранения ранее существовавших недостатков или для установления супрафизиологических концентраций, вызывающих биологическую реакцию [45]. Приём сывороточного протеина в сочетании с физическими упражнениями улучшает мышечную функцию у взрослых с саркопеническим ожирением [46]. У мужчин заместительная терапия тестостероном может проводиться отдельно или в сочетании с диетой, физически-

ми упражнениями или витаминными добавками для восстановления баланса андрогенов. Применение у людей пожилого и старческого возраста несколько ограничено из-за высокого риска сердечно-сосудистых осложнений [47]. Аналогичным образом у женщин в постменопаузе заместительная терапия эстрогенами может применяться отдельно или в сочетании с изменением образа жизни с в целом положительными результатами по сохранению мышечной массы [48]. Совсем недавно терапия окситоцином была применена в качестве пробной терапии саркопенического ожирения с целью восстановления относительного снижения выработки окситоцина с возрастом. Интраназальный окситоцин хорошо переносится и улучшает мышечную массу у пожилых людей с саркопеническим ожирением [49]. Однако остаётся неясным, улучшает ли интраназальное введение окситоцина мышечную функцию и физические способности. Краткое описание преобладающих клинических вмешательств приведено в таблице 1. В совокупности варианты лечения являются недостаточными и осложняются противоположными потребностями, лежащими в основе саркопении и ожирения [33].

ТАБЛИЦА 1
КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ С ЦЕЛЬЮ ЛЕЧЕНИЯ
САРКОПЕНИЧЕСКОГО ОЖИРЕНИЯ

TABLE 1
CLINICAL TRIALS AIMED AT THE TREATMENT
OF SARCOPENIC OBESITY

Пол	Возраст, количество наблюдений	Протокол исследования	Продолжительность, частота	Результат	Автор, год публикации
Мужчины/женщины	50–70 лет, 24 наблюдения	ОНКД в сочетании с ИТ	6 недель, 30–35 мин, 2 дня в неделю	↑ КС ↓ ЖМ	Camajani E. et al. (2022)
Женщины	65–80 лет, 28 наблюдений	СТ с отягощением	10 недель, 35 минут, 3 дня в неделю	= SPPB = CMM ↑ мощность	Vasconcelos K.C. et al. (2016)
Женщины	≥ 60 лет, 26 наблюдений	СТ с СП	12 недель, 35–40 мин, 3 дня в неделю	↓ ЖМ ↑ ТМ	Nabuco H.C.G. et al. (2019)
Женщины	≥ 70 лет, 75 наблюдений	ЭМС и СП + витамин D	26 недель, 20 мин, 1 сеанс в неделю	↑ CMM ↓ ОТ = АД	Wittmann K. et al. (2016)
Мужчины	≥ 70 лет, 100 наблюдений	ЭМС и СП	16 недель, 14–20 мин, 2 сеанса в неделю	↑ КС ↓ ЖМ ↓ ИМТ	Kemmler W. et al. (2017)
Мужчины/женщины	65–75 лет, 60 наблюдений	СТ, АТ и КТр	8 недель, 40 минут, 3 раза в неделю	↑ CMM ↑ КС ↓ ЖМ	Chen H.T. et al. (2017)
Женщины	60–80 лет, 56 наблюдений	СТ с эластичной лентой	12 недель	↑ CMM ↑ SPPB	Liao C.D. et al. (2018)
Женщины	≥ 60 лет, 49 наблюдений	СТ с отягощением	16 недель, 40–45 мин, 2 дня в неделю	↑ SPPB ↑ скорость ходьбы	de Oliveira Silva A. et al. (2018)
Женщины	≥ 60 лет, 69 наблюдений	СТ с отягощением	24 недели, 40 минут, 3 дня в неделю	↑ ТМ ↑ КС = ЖМ	Gadelha A.B. et al. (2016)

Примечание. ↑ – увеличение; ↓ – уменьшение; = – без изменений; ОНКД – очень низкокалорийная кетогенная диета; ИТ – интервальная тренировка; КС – кистевая сила; ЖМ – жировая масса; СТ – силовые тренировки; SPPB – серия тестов на физическое функционирование (Short Physical Performance Battery); CMM – скелетно-мышечная масса; СП – сывороточный протеин; ТМ – тощая масса; ЭМС – электромиостимуляция всего тела; АД – артериальное давление; ОТ – окружность талии; ИМТ – индекс массы тела; АТ – аэробные тренировки; КТр – комбинированные тренировки (силовые и аэробные).

Подход к назначению физических упражнений при саркопеническом ожирении должен быть индивидуальным. Программа, включающая сочетание силовых и аэробных нагрузок, может быть более полезной, чем любое из этих вмешательств по отдельности [2, 50]. Для аэробных упражнений необходимо достичь примерно 65 % от пиковой частоты сердечных сокращений с целью повышения до максимально допустимого значения в 75 %. Тренировка с отягощениями должна быть сосредоточена только на одной-двух группах мышц, при этом начальные 8–12 повторений должны составлять примерно 65 % от максимального уровня силы, который человек мог бы развить за одно повторение. Прогресс должен быть направлен на использование 2–3 групп мышц и 75 % от максимальной интенсивности [2, 22].

В популяции с саркопеническим ожирением влияние силовых упражнений на состав тела и мышечную функцию не так однозначно. K.S. Vasconcelos и соавт. [51] показали, что 10-недельная программа упражнений с отягощениями не была эффективной для улучшения физических функций у пожилых женщин с саркопеническим ожирением по сравнению с контрольной группой, не занимавшейся физическими упражнениями: прирост в результатах теста SPPB составил $0,40 \pm 1,3$ балла ($p > 0,05$), сила увеличилась на $2,36 \pm 12,0$ Н/кг ($p > 0,05$), а мощность – на $15,87 \pm 13,8$ Вт/кг ($p < 0,05$). Возможно, такому результату способствовали небольшая выборка и короткая продолжительность лечения. Исследование A.B. Gadelha и соавт. [52] продемонстрировало улучшение как силы ($12,42 \pm 1,5$ Н/кг; $p < 0,001$), так и массы скелетных мышц ($0,29 \pm 0,4$ кг; $p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой после 24 недель традиционных силовых тренировок. Показатели в упражнениях жим ногами и жим штанги лёжа увеличились на 78 % и 70 % соответственно. Кроме того, 12-недельное исследование изучало влияние упражнений с отягощением эластичной лентой на пожилых женщин с СО и показало, что масса скелетных мышц ($0,73$ кг; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ): $0,08$ – $1,39$; $p < 0,05$) и физическая работоспособность ($8,58$ балла; 95% ДИ: $4,79$ – $12,36$; $p < 0,001$) были значительно улучшены по сравнению с группой, не занимавшейся физическими упражнениями [40]. Также в другом недавнем исследовании сообщалось, что 8 недель силовых упражнений у 60 пожилых людей с саркопеническим ожирением привели к незначительному увеличению массы скелетных мышц ($0,1$ кг; $p < 0,05$), уменьшилась жировая масса ($\approx 1,0$ кг; $p < 0,05$) и увеличилась сила хвата ($3,5$ Н/кг; $p < 0,05$) по сравнению с группой, не занимавшейся физическими упражнениями [38]. W. Kemmler и соавт. (Германия) провели исследование на мужчинах в возрасте ≥ 70 лет ($n = 100$) с применением электромиостимуляции всего тела (WB-EMS, whole-body electromyostimulation): потеря жировой массы составила 2,1 %, кистевая сила увеличилась на 6,3 % [53]. Годом раньше в Бразилии K. Wittmann и соавт., используя WB-EMS добились подобных результатов [54]. Преимущества лечения заключаются во временной эффективности и доступности для групп населения с высокой степенью слабости. Хотя электромиостимуляция

благоприятно улучшает состав тела и функцию мышц по сравнению с неинвазивным контролем [53, 54], размеры эффекта невелики и могут быть неэффективными у взрослых с более тяжёлым саркопеническим ожирением [32, 55].

В целом большинство упомянутых исследований показали, что силовые упражнения являются эффективной стратегией улучшения состава тела при саркопеническом ожирении и что они потенциально могут улучшить физическую работоспособность [46, 54, 56].

ПИТАНИЕ: ОГРАНИЧЕНИЕ КАЛОРИЙ И БЕЛКОВЫЕ ДОБАВКИ

Подходы к образу жизни, такие как ограничение потребления калорий и физические упражнения, считаются краеугольным камнем лечения саркопенического ожирения [15, 24]. Что касается питания, то оптимальный терапевтический подход при саркопеническом ожирении ещё предстоит определить из-за ограниченного числа проведённых клинических испытаний в данном направлении [31, 43, 57].

Действительно, снижение веса у пожилых людей, страдающих ожирением, остаётся спорным, поскольку это обоюдоострая стратегия, которая оказывает благотворное воздействие, снижая осложнения, связанные с ожирением, и потенциальные негативные последствия. В настоящее время пожилым людям с саркопеническим ожирением следует избегать потребления очень низких калорий, поскольку такая стратегия может поставить под угрозу общее состояние здоровья и приведёт к дефициту микроэлементов и электролитов в организме, что окажет вредное воздействие на массу скелетных мышц и снизит минеральную плотность костной ткани [13, 57].

В пилотном исследовании R. Sammarco и соавт. (Италия) участники с саркопеническим ожирением, проходившие программу снижения веса, дополненную диетой с высоким содержанием белка, показали улучшение мышечной силы, а опросник для оценки качества жизни пациента SF-36 (Short Form 36) показал значительное изменение общего состояния здоровья по прошествии 4 месяцев исследования [58].

Хотя точное количество килокалорий (ккал) в день ещё не определено, оно должно составлять менее 750 ккал в день [42]. Как правило, рекомендуется потребление высококачественных белков (1 – $1,2$ г/кг в день), особенно тех, которые содержат источники лейцина, и их можно употреблять одновременно с диетой с ограничением калорий [43, 44]. Однако при употреблении диет с высоким содержанием белка необходимо соблюдать осторожность из-за риска нарушения функции почек. Медицинское и диетическое управление важно для разработки программы питания, которая позволяет умеренно ограничивать калории при одновременной оптимизации потребления белка [42, 46].

Для минимизации риска снижения метаболизма костной ткани, вызванного потерей веса, необходимы

общепринятые стратегии минимизации влияния потери веса на метаболизм костной ткани, включая приём до 1200 мг дополнительного кальция в день и 800–1000 международных единиц (МЕ) витамина D3 в день [59]. Пероральный приём кальция следует сочетать с приёмом витамина D, чтобы снизить потенциальные риски, связанные с приёмом безрецептурных добавок [60]. Добавление витамина D пациентам с саркопеническим ожирением потенциально может улучшать мышечную функцию (25-гидроксивитамины D3 и 1,25-дигидроксивитамины D3 оказывают различное воздействие на функцию скелетных мышц человека и экспрессию генов) и уменьшать слабость проксимальных мышц за счёт действия метаболитов витамина D [61]. Дефицит витамина D связан с повышенным риском падений и переломов, а также со снижением мышечной массы и силы независимо от ожирения [62].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Физическая работоспособность снижается с возрастом, и это снижение более выражено у малоподвижных взрослых с саркопеническим ожирением. Физические упражнения и, в частности, прогрессивная тренировка с отягощениями, являются наиболее часто используемым методом тренировки у взрослых в возрасте 60–80 лет [46, 51, 63]. Следует отметить, что ни в одном из предыдущих исследований не изучались различия в назначении физических упражнений путём классификации участников по подгруппам в зависимости от возраста. Это ключевой аспект, который необходимо развивать в будущем.

Саркопеническое ожирение – это многоплановое заболевание с ограниченными возможностями лечения. Системная энергетическая нагрузка, обусловленная ожирением в контексте старения, служит патофизиологической причиной заболевания, увеличивая скорость потери мышечной массы [10, 15, 64]. С этой целью снижение энергетической нагрузки и улучшение функции мышц являются необходимыми компонентами успешного терапевтического вмешательства.

Отсутствие универсально используемого диагностического метода и критериев определения не позволяет чётко оценить распространённость, которая в настоящее время остаётся недооценённой [23, 24]. Таким образом, диагностика саркопенического ожирения представляет собой первоначальную проблему.

В целом наилучшим терапевтическим подходом к саркопеническому ожирению, имеющим на данный момент наиболее эффективные и достоверные данные, является изменение образа жизни, включающее в себя регулярные комбинированные аэробные упражнения и упражнения с отягощениями, с изменениями диеты, которые должны включать ограничение калорий с целью уменьшения жировой массы и увеличение потребления белка для роста мышечной массы и функциональных возможностей для улучшения качества жизни и снижения смертности [22, 52]. Большой интерес будут представлять более длительные исследования, оцени-

вающие влияние мультимодального подхода на саркопеническое ожирение и сердечно-сосудистые осложнения у пациентов.

Раннее выявление этого состояния остаётся важным, и следует рассмотреть возможность принятия адаптированных мер для снижения его распространённости и связанных с ним неблагоприятных исходов. Для улучшения неблагоприятного прогноза требуются новые терапевтические стратегии.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Nations U. World population prospects: The 2017 revisions, key findings and advance tables. *Working Paper No ESA/P/WP/248*. 2017. URL: <https://desapublications.un.org/publications/world-population-prospects-2017-revision> [date of access: 01.09.2023].
2. Batsis JA, Villareal DT. Sarcopenic obesity in older adults: An etiology, epidemiology and treatment strategies. *Nat Rev Endocrinol*. 2018; 14(9): 513-537. doi: 10.1038/s41574-018-0062-9
3. Bray GA, Kim KK, Wilding JPH, World Obesity Federation. Obesity: A chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev*. 2017; 18(7): 715-723. doi: 10.1111/obr.12551
4. Bluher M. Obesity: Global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019; 15(5): 288-298. doi: 10.1038/s41574-019-0176-8
5. Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, Bhasin S, Morley JE, Newman AB, et al. Sarcopenia: An undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: Prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2011; 12(4): 249-256. doi: 10.1016/j.jamda.2011.01.003
6. Colleluori G, Aguirre L, Phadnis U, Fowler K, Armamento-Villareal R, Sun Z, et al. Aerobic plus resistance exercise in obese older adults improves muscle protein synthesis and preserves myocellular quality despite weight loss. *Cell Metab*. 2019; 30(2): 261-273.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2019.06.008
7. Cartee GD, Hepple RT, Bamman MM, Zierath JR. Exercise promotes healthy aging of skeletal muscle. *Cell Metab*. 2016; 23(6): 1034-1047. doi:10.1016/j.cmet.2016.05.007
8. Piccoli A, Cannata F, Strollo R, Pedone C, Leanza G, Russo F, et al. Sclerostin regulation, microarchitecture, and advanced glycation end-products in the bone of elderly women with type 2 diabetes. *J Bone Miner Res*. 2020; 35(12): 2415-2422. doi: 10.1002/jbmr.4153
9. Garvey WT, Mechanick JL, Brett EM, Garber AJ, Hurley DL, Jastreboff AM, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology comprehensive clinical practice guidelines for medical care of patients with obesity. *Endocr Pract*. 2016; 22(3): 1-203. doi: 10.4158/EP161365.GL
10. Roh E, Choi KM. Health consequences of sarcopenic obesity: A narrative review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11: 332. doi: 10.3389/fendo.2020.00332
11. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyere O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: Revised European consensus on defi-

dition and diagnosis. *Age Ageing*. 2019; 48(1): 16-31. doi: 10.1093/ageing/afz046

12. Плещёв И.Е., Ачкасов Е.Е., Николенько В.Н., Шкрёбко А.Н., Иванова И.В. Роль и специфика физических нагрузок при саркопении у пожилых людей. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 80-92. [Pleshchev IE, Achkasov EE, Nikolenko VN, Shkrebo AN, Ivanova IV. Methods of physical rehabilitation of elderly people for the prevention and treatment of sarcopenia. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 80-92. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.8

13. Ghiotto L, Muollo V, Tatangelo T, Schena F, Rossi AP. Exercise and physical performance in older adults with sarcopenic obesity: A systematic review. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022; 13: 913953. doi: 10.3389/fendo.2022.913953

14. Kong HH, Won CW, Kim W. Effect of sarcopenic obesity on deterioration of physical function in the elderly. *Arch Gerontol Geriatr*. 2020; 89: 104065. doi: 10.1016/j.archger.2020.104065

15. Wannamethee SG, Atkins JL. Muscle loss and obesity: The health implications of sarcopenia and sarcopenic obesity. *Proc Nutr Soc*. 2015; 74(4): 405-412. doi: 10.1017/S002966511500169X

16. Choi KM. Sarcopenia and sarcopenic obesity. *Korean J Intern Med*. 2016; 31: 1054-1060. doi: 10.3904/kjim.2016.193

17. Donini LM, Busetto L, Bauer JM, Bischoff S, Boirie Y, Cederholm T, et al. Critical appraisal of definitions and diagnostic criteria for sarcopenic obesity based on a systematic review. *Clin Nutr*. 2020; 39(8): 2368-2388. doi: 10.1016/j.clnu.2019.11.024

18. Hong SH, Choi KM. Sarcopenic obesity, insulin resistance, and their implications in cardiovascular and metabolic consequences. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(2): 494. doi: 10.3390/ijms21020494

19. Mc Phee JS, French DP, Jackson D, Nazroo J, Pendleton N, Degens H. Physical activity in older age: Perspectives for healthy ageing and frailty. *Biogerontology*. 2016; 17: 567-580. doi: 10.1007/s10522-016-9641-0

20. Гриценко О.В., Груздева О.В., Чумакова Г.А., Барбараш О.Л. Лабораторные маркеры остеосаркопенического ожирения. *Российский кардиологический журнал*. 2023; 28(12): 5563. [Gritsenko OV, Gruzdeva OV, Chumakova GA, Barbarash OL. Laboratory markers of osteosarcopenic obesity. *Russian Journal of Cardiology*. 2023; 28(12): 5563. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2023-5563

21. Colleluori G, Villareal DT. Aging, obesity, sarcopenia and the effect of diet and exercise intervention. *Exp Gerontol*. 2021; 155: 111561. doi: 10.1016/j.exger.2021.111561

22. Wei S, Nguyen TT, Zhang Y, Ryu D, Gariani K. Sarcopenic obesity: Epidemiology, pathophysiology, cardiovascular disease, mortality, and management. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14: 1185221. doi: 10.3389/fendo.2023.1185221

23. Wagenaar CA, Dekker LH, Navis GJ. Prevalence of sarcopenic obesity and sarcopenic overweight in the general population: The lifelines cohort study. *Clin Nutr*. 2021; 40: 4422-4429. doi: 10.1016/j.clnu.2021.01.005

24. Gao Q, Mei F, Shang Y, Hu K, Chen F, Zhao L, et al. Global prevalence of sarcopenic obesity in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr*. 2021; 40: 4633-4641. doi: 10.1016/j.clnu.2021.06.009

25. Batsis JA, Mackenzie TA, Lopez-Jimenez F, Bartels SJ. Sarcopenia, sarcopenic obesity, and functional impairments in older adults: National Health and Nutrition Examination Surveys 1999-2004. *Nutr Res*. 2015; 35(12): 1031-1039. doi: 10.1016/j.nutres.2015.09.003

26. Atkins JL, Whincup PH, Morris RW, Lennon LT, Papacosta O, Wannamethee SG. Sarcopenic obesity and risk of cardiovascular disease and mortality: A population-based cohort study of older men. *J Am Geriatr Soc*. 2014; 62(2): 253-260. doi: 10.1111/jgs.12652

27. von Berens A, Obilling SR, Nydahl M, Koochek A, Lissner L, Skoog I, et al. Sarcopenic obesity and associations with mortality in older women and men – A prospective observational study. *BMC Geriatr*. 2020; 20(1): 199. doi:10.1186/s12877-020-01578-9

28. Farmer RE, Mathur R, Schmidt AF, Bhaskaran K, Fatemifar G, Eastwood SV, et al. Associations between measures of sarcopenic obesity and risk of cardiovascular disease and mortality: A cohort study and Mendelian randomization analysis using the UK biobank. *J Am Heart Assoc*. 2019; 8(13): e011638. doi: 10.1161/JAHA.118.011638

29. Zhang X, Xie X, Dou Q, Liu C, Zhang W, Yang Y, et al. Association of sarcopenic obesity with the risk of all-cause mortality among adults over a broad range of different settings: An updated meta-analysis. *BMC Geriatr*. 2019; 19(1): 183. doi: 10.1186/s12877-019-1195-y

30. Sanada K, Chen R, Willcox B, Ohara T, Wen A, Takenaka C, et al. Association of sarcopenic obesity predicted by anthropometric measurements and 24-y all-cause mortality in elderly men: The Kuakini Honolulu Heart Program. *Nutrition*. 2018; 46: 97-102. doi: 10.1016/j.nut.2017.09.003

31. Donini LM, Busetto L, Bischoff SC, Cederholm T, Ballesteros-Pomar MD, Batsis JA, et al. Definition and diagnostic criteria for sarcopenic obesity: ESPEN and EASO consensus statement. *Obes Facts*. 2022; 15(3): 321-335. doi: 10.1159/000521241

32. Poggogalle E, Lubrano C, Sergi G, Coin A, Gnessi L, Mariani S, et al. Sarcopenic obesity and metabolic syndrome in adult Caucasian subjects. *J Nutr Health Aging*. 2016; 20(9): 958-963. doi: 10.1007/s12603-015-0638-1

33. Axelrod CL, Dantas WS, Kirwan JP. Sarcopenic obesity: Emerging mechanisms and therapeutic potential. *Metabolism*. 2023; 146: 155639. doi: 10.1016/j.metabol.2023.155639

34. Leduc-Gaudet JP, Hussain SNA, Barreiro E, Gouspillou G. Mitochondrial dynamics and mitophagy in skeletal muscle health and aging. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(15): 8179. doi: 10.3390/ijms22158179

35. Chen X, Ji Y, Liu R, Zhu X, Wang K, Yang X, et al. Mitochondrial dysfunction: Roles in skeletal muscle atrophy. *J Transl Med*. 2023; 72: 33-58. doi: 10.1186/s12967-023-04369-z

36. Mooren FC, Krüger K. Exercise, autophagy, and apoptosis. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015; 135: 407-422. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.07.023

37. Englund DA, Sharp RL, Selsby JT, Ganesan SS, Franke WD. Resistance training performed at distinct angular velocities elicits velocity-specific alterations in muscle strength and mobility status in older adults. *Exp Gerontol*. 2017; 91: 51-56. doi: 10.1016/j.exger.2017.02.072

38. Nikseresht M, Sadeghifard N, Agha-Alinejad H, Ebrahim K. Inflammatory markers and adipocytokine responses to exercise training and detraining in men who are obese. *J Strength Cond Res*. 2014; 28(12): 3399-3410. doi: 10.1519/JSC.0000000000000553

39. Chen HT, Chung YC, Chen YJ, Ho SY, Wu HJ. Effects of different types of exercise on body composition, muscle strength, and IGF-1 in the elderly with sarcopenic obesity. *J Am Geriatr Soc*. 2017; 65(4): 827-832. doi: 10.1111/jgs.14722

40. Liao CD, Tsao JY, Lin LF, Huang SW, Ku JW, Chou LC, et al. Effects of elastic resistance exercise on body composition

and physical capacity in older women with sarcopenic obesity: A CONSORT-compliant prospective randomized controlled trial. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96(23): e7115. doi: 10.1097/MD.00000000000007115

41. Liao CD, Tsao JY, Huang SW, Ku JW, Hsiao DJ, Liou TH. Effects of elastic band exercise on lean mass and physical capacity in older women with sarcopenic obesity: A randomized controlled trial. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 2317. doi: 10.1038/s41598-018-20677-7

42. Hanach NI, McCullough F, Avery A. The impact of dairy protein intake on muscle mass, muscle strength, and physical performance in middle-aged to older adults with or without existing sarcopenia: A systematic review and meta-analysis. *Adv Nutr*. 2019; 10(1): 59-69. doi: 10.1093/advances/nmy065

43. Xie WQ, Xiao WF, Tang K, Wu YX, Hu PW, Li YS, et al. Caloric restriction: Implications for sarcopenia and potential mechanisms. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12(23): 24441-24452. doi: 10.18632/aging.103987

44. Camajani E, Feraco A, Proietti S, Basciani S, Barrea L, Armani A, et al. Very low calorie ketogenic diet combined with physical interval training for preserving muscle mass during weight loss in sarcopenic obesity: A pilot study. *Front Nutr*. 2022; 9: 1076667. doi: 10.3389/fnut.2022.955024

45. Camajani E, Persichetti A, Watanabe M, Contini S, Vari M, Di Bernardo S, et al. Whey protein, L-leucine and vitamin D supplementation for preserving lean mass during a low-calorie diet in sarcopenic obese women. *Nutrients*. 2022; 14(9): 1884. doi: 10.3390/nu14091884

46. Nabuco HCG, Tomeleri CM, Fernandes RR, Sugihara Junior P, Cavalcante EF, Cunha PM, et al. Effect of whey protein supplementation combined with resistance training on body composition, muscular strength, functional capacity, and plasma-metabolism biomarkers in older women with sarcopenic obesity: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr ESPEN*. 2019; 32: 88-95. doi: 10.1016/j.clnesp.2019.04.007

47. Gagliano-Jucá T, Basaria S. Testosterone replacement therapy and cardiovascular risk. *Nat Rev Cardiol*. 2019; 16(9): 555-574. doi: 10.1038/s41569-019-0211-4

48. Geraci A, Calvani R, Ferri E, Marzetti E, Arosio B, Cesari M. Sarcopenia and menopause: The role of estradiol. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12: 682012. doi: 10.3389/fendo.2021.682012

49. Espinoza SE, Lee JL, Wang CP, Ganapathy V, MacCarthy D, Pascucci C, et al. Intranasal oxytocin improves lean muscle mass and lowers LDL cholesterol in older adults with sarcopenic obesity: A pilot randomized controlled trial. *J Am Med Dir Assoc*. 2021; 22(9): 1877-1882.e2. doi: 10.1016/j.jamda.2021.04.015

50. Shin MJ, Jeon YK, Kim IJ. Testosterone and sarcopenia. *World J Mens Health*. 2018; 36(3): 192-198. doi: 10.5534/wjmh.180001

51. Vasconcelos KS, Dias JM, Araújo MC, Pinheiro AC, Moreira BS, Dias RC. Effects of a progressive resistance exercise program with high-speed component on the physical function of older women with sarcopenic obesity: A randomized controlled trial. *Braz J Phys Ther*. 2016; 20(5): 432-440. doi: 10.1590/bjpt-rbf.2014.0174

52. Gadelha AB, Paiva FM, Gauche R, de Oliveira RJ, Lima RM. Effects of resistance training on sarcopenic obesity index in older women: A randomized controlled trial. *Arch Gerontol Geriatr*. 2016; 65: 168-173. doi: 10.1016/j.archger.2016.03.017

53. Kemmler W, Weissenfels A, Teschler M, Willert S, Bennek M, Shojaa M, et al. Whole-body electromyostimulation

and protein supplementation favorably affect sarcopenic obesity in community-dwelling older men at risk: The randomized controlled FranSO study. *Clin Interv Aging*. 2017; 12: 1503-1513. doi: 10.2147/CIA.S137987

54. Wittmann K, Sieber C, von Stengel S, Kohl M, Freiburger E, Jakob F, et al. Impact of whole body electromyostimulation on cardiometabolic risk factors in older women with sarcopenic obesity: The randomized controlled FORMOSA-sarcopenic obesity study. *Clin Interv Aging*. 2016; 11: 1697-1706. doi: 10.2147/CIA.S116430

55. Kemmler W, Weissenfels A, Willert S, Shojaa M, von Stengel S, Filipovic A, et al. Efficacy and safety of low frequency whole-body electromyostimulation (WB-EMS) to improve health-related outcomes in non-athletic adults. A systematic review. *Front Physiol*. 2018; 9: 573. doi: 10.3389/fphys.2018.00573

56. de Oliveira Silva A, Dutra MT, de Moraes WMAM, Funghetto SS, Lopes de Farias D, Dos Santos PHF, et al. Resistance training-induced gains in muscle strength, body composition, and functional capacity are attenuated in elderly women with sarcopenic obesity. *Clin Interv Aging*. 2018; 13: 411-417. doi: 10.2147/CIA.S156174

57. Trouwborst I, Verreijen A, Memelink R, Massanet P, Boirie Y, Weijs P, et al. Exercise and nutrition strategies to counteract sarcopenic obesity. *Nutrients*. 2018; 10(5): 605. doi: 10.3390/nu10050605

58. Sammarco R, Marra M, Di Guglielmo ML, Naccarato M, Contaldo F, Poggiogalle E, et al. Evaluation of hypocaloric diet with protein supplementation in middle-aged sarcopenic obese women: A pilot study. *Obes Facts*. 2017; 10(3): 160-167. doi: 10.1159/000468153

59. Moyer VA. U.S. Preventive Services Task Force*. Vitamin D and calcium supplementation to prevent fractures in adults: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med*. 2013; 158(9): 691-696. doi: 10.7326/0003-4819-158-9-201305070-00603

60. Anderson JJ, Kruszka B, Delaney JA, He K, Burke GL, Alonso A, et al. Calcium intake from diet and supplements and the risk of coronary artery calcification and its progression among older adults: 10-year follow-up of the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Heart Assoc*. 2016; 5(10): e003815. doi: 10.1161/JAHA.116.003815

61. Malafarina V, Uriz-Otano F, Malafarina C, Martinez JA, Zulet MA. Effectiveness of nutritional supplementation on sarcopenia and recovery in hip fracture patients. A multi-centre randomized trial. *Maturitas*. 2017; 101: 42-50. doi: 10.1016/j.maturitas.2017.04.010

62. American Geriatrics Society Workgroup on Vitamin D Supplementation for Older Adults. Recommendations abstracted from the American Geriatrics Society Consensus Statement on vitamin D for prevention of falls and their consequences. *J Am Geriatr Soc*. 2014; 62(1): 147-152. doi: 10.1111/jgs.12631

63. Papa EV, Dong X, Hassan M. Resistance training for activity limitations in older adults with skeletal muscle function deficits: A systematic review. *Clin Interv Aging*. 2017; 12: 955-961. doi: 10.2147/CIA.S104674

64. Liu C, Wong PY, Chung YL, Chow SK, Cheung WH, Law SW, et al. Deciphering the "obesity paradox" in the elderly: A systematic review and meta-analysis of sarcopenic obesity. *Obes Rev*. 2023; 24(2): e13534. doi: 10.1111/obr.13534

Сведения об авторах

Плещёв Игорь Евгеньевич – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры физической культуры и спорта, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: doctor.pleshyov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1737-7328>

Николёно Владимир Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии и гистологии человека Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии факультета фундаментальной медицины, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: vn.nikolenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9532-9957>

Ачкасов Евгений Евгеньевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой спортивной медицины и медицинской реабилитации Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: 2215.g23@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9964-5199>

Преображенский Ярослав Игоревич – студент 6-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: yasix23@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7622-2123>

Гридин Леонид Александрович – доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор, Московский центр проблем здоровья при Правительстве Москвы, e-mail: leonidgridin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4941-8876>

Шкрёбо Александр Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской реабилитации и спортивной медицины, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: anshkrebko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0234-0768>

Цоллер Марина Викторовна – студентка 3-го курса Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: marinatsoller@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3560-1450>

Information about the authors

Igor' E. Pleshev – Cand. Sc. (Med.), Senior Lecturer at the Department of Physical Culture and Sports, Yaroslavl State Medical University, e-mail: doctor.pleshyov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1737-7328>

Vladimir N. Nikolenko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Human Anatomy and Histology, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Head of the Department of Normal and Topographic Anatomy, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, e-mail: vn.nikolenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9532-9957>

Evgeny E. Achkasov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Sports Medicine and Medical Rehabilitation, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: 2215.g23@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9964-5199>

Yaroslav I. Preobrazhenskiy – 6th year Student at the Faculty of Medicine, Yaroslavl State Medical University, e-mail: yasix23@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7622-2123>

Leonid A. Gridin – Dr. Sc. (Med.), Professor, CEO, Moscow Center for Health Problems under the Government of Moscow, e-mail: leonidgridin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4941-8876>

Aleksandr N. Shkrebko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Medical Rehabilitation and Sports Medicine, Yaroslavl State Medical University, e-mail: anshkrebko@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0234-0768>

Marina V. Tsoller – 3rd year student, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: marinatsoller@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3560-1450>

ФАКТОРЫ И УРОВЕНЬ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ ШКОЛЬНИКОВ 13–14 ЛЕТ

Криволапчук И.А.^{1, 2, 3},
Чернова М.Б.¹,
Сушецкий В.К.⁴,
Чичерин В.П.³

¹ ФГБНУ «Институт развития, здоровья и адаптации ребёнка» (119121, г. Москва, ул. Погодинская, 8, корп. 2, Россия)

² ГАОУ ВО г. Москвы «Московский государственный университет спорта и туризма» (117519, г. Москва, ул. Кировоградская, 21, корп. 1, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Государственный университет управления» (109542, г. Москва, Рязанский просп., 99, Россия)

⁴ УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы» (230023, г. Гродно, ул. Ожешко, 22, Республика Беларусь)

Автор, ответственный за переписку:
Криволапчук Игорь Альерович,
e-mail: i.krivolapchuk@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Существует недостаток данных об особенностях физической работоспособности школьников в критический период онтогенеза, связанный с процессом полового созревания.

Цель исследования. Выявить факторы и уровень физической работоспособности школьников 13–14 лет с учётом полового созревания.

Методика. В исследовании приняли участие здоровые подростки мужского пола 13–14 лет ($n = 165$). Определяли пять стадий полового созревания. Для диагностики уровня физической работоспособности использовали комплекс функциональных и эргометрических проб и батарею моторных тестов. Структуру работоспособности определяли на основе факторного анализа.

Результаты и обсуждение. Идентифицированы факторы, характеризующие физическую работоспособность: аэробная ёмкость; абсолютная аэробная мощность; анаэробная алактатная работоспособность; анаэробная гликолитическая работоспособность; относительная аэробная мощность. Выделенные факторы ассоциируются с зонами относительной мощности. Установлено, что в процессе полового созревания изменения показателей, объединённых в разные факторы, происходят нелинейно и неодновременно. Результаты исследования показывают, что испытуемые одного возраста со II, III и IV стадиями полового созревания отличаются по уровню ключевых биоэнергетических критериев работоспособности. С переходом на более высокие стадии полового созревания наблюдается прогрессивная динамика большинства показателей, связанных с факторами анаэробной работоспособности, тогда как показатели аэробной мощности и ёмкости изменяются разнонаправленно, проявляя в отдельных случаях тенденцию к временному снижению.

Заключение. Результаты исследования целесообразно использовать при организации различных видов контроля функционального состояния и нормирования физических нагрузок аэробной и анаэробной направленности у подростков 13–14 лет с разными стадиями полового созревания. Полученные материалы могут служить естественнонаучным основанием для совершенствования системы физического воспитания в целях повышения функциональных возможностей организма детей в критический период онтогенеза, связанный с процессом полового созревания.

Ключевые слова: факторный анализ, физическая работоспособность и мышечная энергетика, стадии полового созревания, мальчики-подростки

Статья поступила: 05.10.2023

Статья принята: 30.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Криволапчук И.А., Чернова М.Б., Сушецкий В.К., Чичерин В.П. Факторы и уровень физической работоспособности школьников 13–14 лет. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 26–37. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.3

FACTORS AND LEVEL OF PHYSICAL PERFORMANCE OF SCHOOLCHILDREN AGED 13–14 YEARS

Krivolapchuk I.A.^{1, 2, 3},
Chernova M.B.¹,
Suheckij V.K.⁴,
Chicherin V.P.³

¹ Institute of Child Development,
Health and Adaptation (Pogodinskaya str. 8,
building 2, Moscow 119121,
Russian Federation)

² Moscow State University of Sport
and Tourism (Kirovogradskaya str. 21,
building 1, Moscow 117519,
Russian Federation)

³ The State University of Management
(Ryazansky ave. 99, Moscow 109542,
Russian Federation)

⁴ Yanka Kupala State University of Grodno
(Ozheshko str. 22, Grodno 230023, Belarus)

Corresponding author:
Igor A. Krivolapchuk,
e-mail: i.krivolapchuk@mail.ru

ABSTRACT

There is an insufficiency of data on the characteristics of physical performance of schoolchildren in the critical period of ontogenesis associated with pubertal development.

The aim of the study. To determine the factors and level of physical performance of schoolchildren aged 13–14 years, taking into account pubertal development.

Methodology. The study involved healthy male adolescents aged 13–14 years ($n = 165$). Five stages of puberty were determined. To diagnose the level of physical performance, a complex of functional and ergometric tests and a battery of motor tests were used. The structure of performance was determined based on the factor analysis.

Results and discussion. We determined the factors characterizing physical performance: aerobic capacity; absolute aerobic power; anaerobic alactic performance; anaerobic glycolytic performance; relative aerobic power. The identified factors are associated with zones of relative power. It has been established that during puberty, changes in indicators combined into different factors occur non-linearly and non-simultaneously. The results of the study show that subjects of the same age with stages II, III and IV of puberty differ in the level of key bioenergetic performance criteria. Transition to higher stages of puberty is accompanied with progressive dynamics of most indicators associated with factors of anaerobic performance, while indicators of aerobic power and capacity change in different directions, showing in some cases a tendency to temporarily decrease.

Conclusion. It is advisable to use the results of the study when organizing various types of monitoring the functional state and regulation of aerobic and anaerobic physical activity in adolescents aged 13–14 years at different stages of puberty. The obtained materials can serve as a scientific basis for improving the physical education system in order to increase the functional capabilities of children's bodies during the critical period of ontogenesis associated with pubertal development.

Key words: factor analysis, physical performance and muscle energy, stages of puberty, adolescent boys

Received: 05.10.2023
Accepted: 30.05.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Krivolapchuk I.A., Chernova M.B., Suheckij V.K., Chicherin V.P. Factors and level of physical performance of schoolchildren aged 13–14 years. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 26-37. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.3

ОБОСНОВАНИЕ

Физическая работоспособность – надёжный показатель функционального состояния человека, отражающий уровень его здоровья, физиологические и психические резервы организма, эффективность, мощность и ёмкость энергетических источников, степень адаптированности к интенсивной мышечной деятельности. Выявление закономерностей формирования системы мышечной энергетики и работоспособности человека в ходе онтогенеза является одной из важнейших задач спортивной и возрастной физиологии, профилактической медицины, оздоровительной физической культуры, теории и методики юношеского спорта. Во многом это определяется тем, что преобразование отдельных элементов этой системы в процессе развития происходят гетерохронно и неравномерно, обуславливая специфику адаптации организма к физической работе аэробной и анаэробной направленности [1–4]. Особенно важны сведения о состоянии мышечной энергетики и работоспособности человека в критический период онтогенеза, связанный с процессом полового созревания, в ходе которого существенно изменяется активность гипоталамо-гипофизарной системы, опосредующей перестройки функционирования эндокринных желез и ключевых физиологических систем [5–8].

Сегодня остаётся открытым вопрос о факторах, определяющих физическую работоспособность подростков в период полового созревания. Эти факторы, как правило, рассматриваются в качестве относительно независимых аспектов работоспособности, отражающих активность различных функциональных систем, интегрированных в доминирующую функциональную систему, ответственную за реализацию мышечной деятельности [9, 10]. В значительной степени это связано с тем, что в процессе полового созревания происходят выраженные преобразования механизмов энергетического обеспечения мышечной деятельности [2, 4], что не может не отразиться на изменении числа и состава факторов, характеризующих физическую работоспособность, границ различных зон мощности, соотношений уровней развития аэробных и анаэробных возможностей и двигательной подготовленности. В этой связи возникает необходимость выявления факторной структуры и уровня физической работоспособности подростков, а также определения валидных показателей её оценки в период полового созревания.

Хорошо известно, что в пубертатном периоде функциональное состояние и резервные возможности организма определяются не только паспортным, но и биологическим возрастом детей [5, 2, 4, 11]. На данном этапе развития среди подростков одного паспортного возраста отмечаются существенные расхождения по уровню половой зрелости [12, 13], что необходимо принимать во внимание при диагностике функциональных возможностей организма, нормировании нагрузок аэробной и анаэробной направленности, выборе адекватных режимов физической активности.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить факторы и уровень физической работоспособности школьников 13–14 лет с учётом стадии полового созревания.

МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие не посещающие спортивные секции подростки мужского пола 13–14 лет ($n = 165$; средний возраст $13,5 \pm 0,03$ года). Работа проводилась в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и одобрена этическим комитетом ФГБНУ «Институт развития, здоровья и адаптации ребёнка» (протокол № 1 от 17.02.2023).

Исследование проводили при температуре воздуха $18–24^{\circ}\text{C}$, через несколько часов после приёма пищи. В помещении, где осуществлялось тестирование, были созданы условия для оказания неотложной и первой медицинской помощи. В работе принимал участие врач, имеющий богатый опыт в осуществлении данного вида функциональных исследований. Критериями исключения при проведении тестирования физической работоспособности были: наличие острых заболеваний за 2 недели до начала исследования; признаки острой респираторной инфекции в момент обследования. Исследование проводили только на здоровых подростках, не имеющих медицинских противопоказаний для занятий физической культурой и спортом, в дни оптимальной работоспособности в период с 9.00 до 12.00 часов.

Определялись факторы физической работоспособности и информативные показатели, пригодные для её диагностики. У подростков с разными стадиями полового созревания (СПС) сопоставлялись величины информативных показателей физического состояния, характеризующих каждый из выделенных факторов.

В исследовании использовали гетерогенную батарею эргометрических тестов и функциональных проб, комплексно оценивающих физическую работоспособность [10]. Определяли максимальное потребление кислорода (VO_2max) по Добельну, ватт-пульс (ВтП), мощность нагрузки при пульсе 170 уд./мин (PWC_{170}), максимальную силу (МС), интенсивность накопления пульсового долга (ИНПД) и время работы при выполнении «до отказа» велоэргометрических нагрузок 3 и 5 Вт/кг. Используя уравнение Мюллера, находили индивидуальные константы, характеризующие ёмкость аэробного (b) источника и степень разнокачественности работающих скелетных мышц (a), показатели мощности работы, время удержания которой равно 1, 40, 240 и 900 с (W_1 , W_{40} , W_{240} и W_{900}) [2, 14].

Модель тестирования предполагала использование велоэргометрических нагрузок. Для расчёта параметров уравнения Мюллера выполнялись две нагрузки «до отказа» 3,0 и 5,0 Вт/кг, VO_2max – одна «стандартная» нагрузка 2,5 Вт/кг массы тела длительностью 5 мин, PWC_{170} – нагрузка повышающейся мощности с интервалами для отдыха. Ступени нагрузки составляли 1,5, 2,5 и 3,5 Вт/кг мас-

сы тела. Продолжительность работы на каждой ступени – 5 мин, интервал отдыха между ступенями – 3 мин. Первые две ступени работы реализовывали все испытуемые. Если частота сердечных сокращений (ЧСС) после 2-й ступени работы не достигала 150 уд/мин, выполнялась третья ступень мощностью 2,5–3,5 Вт/кг [15]. Запись сердечного ритма проводили с помощью пульсометра Polar (Polar Electro, Финляндия). Интервал между двумя тестами на удержание нагрузок «до отказа» составлял 7 дней, во всех других случаях – 2 дня. Скорость педалирования была постоянной и составляла 60 об/мин. В качестве критерия «отказа от выполнения работы» рассматривали снижение частоты педалирования более чем на 10 %. Во время тестирования работоспособности у подростков не были выявлены выраженные клинические признаки, указывающие на необходимость прекращения работы. Это подтверждает представление о том, что оценка физической работоспособности подростков посредством напряжённых физических нагрузок при соблюдении мер предосторожности является безопасной процедурой [2, 15].

Батарея контрольных упражнений включала: 6-минутный бег; челночный бег 4 × 9 м; бег 20 м с хода; прыжок в длину с места, поднятие туловища из положения лёжа на спине за 1 мин; наклон вперёд. Общая оценка физической подготовленности (ОФП) рассчитывалась посредством суммирования баллов, полученных за выполнение каждого моторного теста [10].

По методике Д.В. Колесова и Н.Б. Сельверовой определяли 5 стадий полового созревания. В обследуемой выборке выявлены все СПС (I СПС – 4 школьника; II СПС – 63 школьника; III СПС – 58 школьников; IV СПС – 37 школьников; V СПС – 3 школьника). Однако результаты тестирования подростков с I и V СПС не анализировались в связи с их малой численностью. Было установлено, что группы подростков с разными СПС статистически значимо не отличались по паспортному возрасту.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica (StatSoft Inc., США). Для изучения структуры физической работоспособности применялся факторный анализ – метод главных компонент. Возможность проведения факторного анализа оценивалась с помощью критерия Кайзера – Мейера – Олкина (КМО). Выборка рассматривалась как приемлемая при величине этого критерия, превышающей 0,5. Статистическая значимость различий определялась посредством применения параметрических и непараметрических критериев статистической значимости оценок для несвязанных выборочных совокупностей. Для оценки статистической значимости различий использовали уровень вероятности $p < 0,05$. Описанный алгоритм исследования применяли также для выявления структуры физической работоспособности детей 7–8 и 9–10 лет [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основе многомерного статистического анализа идентифицированы факторы, характеризующие мы-

шечную энергетику и работоспособность обучающихся в период полового созревания. Интерпретация факторов проводилась на основе анализа физиологического содержания вошедших в них показателей с учётом величин весовых коэффициентов.

После факторизации матрицы интеркорреляций выделились значимые факторы, отражающие фундаментальные характеристики мышечной энергетики и работоспособности мальчиков-подростков в период полового созревания: I – аэробная ёмкость (окислительная система); II – абсолютная аэробная мощность (окислительная система); III – анаэробная алактатная работоспособность (фосфагенная система); IV – анаэробная гликолитическая работоспособность (лактацидная система); V – относительная аэробная мощность (окислительная система) (табл. 1).

Основу внутренней структуры фактора аэробной ёмкости (38 % общей дисперсии) создают его тесные взаимосвязи с коэффициентами «b» и «a» уравнения Мюллера, временем выполнения «до отказа» нагрузки 3 Вт/кг ($t_{3 \text{ Вт/кг}}$), $W_{900'}$, $W_{240'}$, ИНПД_{3 Вт/кг} и результатами 6-минутного бега (табл. 1).

Все эти физиологические переменные в той или иной степени характеризуют объём выполненной работы аэробной направленности. Исключение составляют показатели $W_{240'}$ и 6-минутный бег, отражающие смешанный аэробно-анаэробный характер энергообеспечения, включённые также в факторы анаэробной гликолитической и анаэробной алактатной работоспособности. Наибольшими весовыми нагрузками по фактору аэробной ёмкости характеризовались коэффициент «b» уравнения Мюллера ($r = 0,98$) и $t_{3 \text{ Вт/кг}}$ ($r = 0,97$).

В факторы абсолютной (17 % дисперсии) и относительной (5 % дисперсии) аэробной мощности вошли $VO_{2\text{max}}$, ВтП и $PWC_{170'}$. Следует отметить, что в первом случае эти физиологические показатели характеризовались высокими отрицательными факторными коэффициентами, а во втором – высокой и средней степенью положительной корреляции. В обоих факторах максимальные весовые нагрузки имели $VO_{2\text{max}}$ ($r = -0,94$ и $r = 0,86$) и ВтП ($r = -0,94$ и $r = 0,85$).

С фактором работоспособности, связанным с фосфагенной системой энергообеспечения, (13 % дисперсии), коррелировали ИНПД после спринтерского бега, оценка двигательной подготовленности (ОДП), W_1 , МС, результаты челночного бега, прыжка в длину, бега на 20 м с хода, 6-минутного бега. Большинство из перечисленных выше показателей характеризовались средней степенью корреляции с рассматриваемым фактором. Самую существенную статистическую взаимосвязь с ним имели ИНПД после спринтерского бега ($r = -0,93$) и ОДП ($r = 0,75$).

Фактор работоспособности, связанный с лактацидной системой энергообеспечения (8 % дисперсии), объединил $t_{5 \text{ Вт/кг}}$, $W_{40'}$, $W_{240'}$, ИНПД_{5 Вт/кг}, результаты выполнения теста на поднятие туловища. Максимальными значениями факторных коэффициентов отличались $t_{5 \text{ Вт/кг}}$ ($r = 0,91$) и $W_{40'}$ ($r = 0,91$).

ТАБЛИЦА 1
ФАКТОРНАЯ СТРУКТУРА ФИЗИЧЕСКОЙ
РАБОТОСПОСОБНОСТИ ПОДРОСТКОВ МУЖСКОГО
ПОЛА 13–14 ЛЕТ

TABLE 1
FACTOR STRUCTURE OF PHYSICAL PERFORMANCE
OF MALE ADOLESCENTS AGED 13–14 YEARS

Показатели	Факторы				
	I	II	III	IV	V
Коэффициент «b», отн. ед.	0,981	–	–	–	–
$t_{3 \text{ Вт/кг}}^{\text{с}}$	0,966	–	–	–	–
$W_{90'}$ Вт/кг	0,901	–	–	–	–
Коэффициент «a», отн. ед.	0,871	–	–	–	–
$W_{240'}$ Вт/кг	0,766	–	–	–	–
$\text{ИНПД}_{3 \text{ Вт/кг}}^{\text{уд/с}}$	–0,686	–	–	–	–
Бег 6 мин, м	0,508	–	–	–	–
VO_2max , л/мин	–	–0,938	–	–	–
ВтП, кгм/уд	–	–0,937	–	–	–
$\text{RWC}_{170'}$ кгм/мин	–	–0,925	–	–	–
ИНПД (спринтерский бег), уд/с	–	–	–0,926	–	–
ОДП, балл	–	–	0,746	–	–
Челночный бег, с	–	–	–0,710	–	–
Прыжок, см	–	–	0,675	–	–
W_1 , Вт/кг	–	–	0,632	–	–
МС, кг/кг	–	–	0,632	–	–
Бег 20 м, с	–	–	–0,603	–	–
Бег 6 мин, м	–	–	0,515	–	–
$t_5 \text{ Вт/кг}}^{\text{с}}$	–	–	–	0,913	–
$W_{40'}$ Вт/кг	–	–	–	0,909	–
Поднимание туловища за 1 мин, раз	–	–	–	0,782	–
$W_{240'}$ Вт/кг	–	–	–	0,539	–
$\text{ИНПД}_{5 \text{ Вт/кг}}^{\text{уд/с}}$	–	–	–	–0,508	–
VO_2max , л/мин*кг	–	–	–	–	0,856
ВтП, кгм/уд*кг	–	–	–	–	0,845
$\text{RWC}_{170'}$ кгм/мин*кг	–	–	–	–	0,746
Дисперсия, %	38	17	13	8	5

Примечание. ОДП – оценка двигательной подготовленности.

С учётом результатов многомерного статистического анализа оценивалось влияние полового созревания на показатели работоспособности, вошедшие в каждый из факторов. Выявлены различия, обусловленные степенью полового созревания (табл. 2).

В зависимости от СПС между большинством переменных, вошедших в фактор аэробной ёмкости, выявлены

статистически значимые различия ($p < 0,05–0,001$). По отдельным показателям между II и III СПС с одной стороны и IV СПС с другой наблюдались различия (табл. 2). При этом у мальчиков с III СПС по сравнению со II СПС и особенно IV СПС отмечались их более высокие значения. Важно отметить, что подростки с III СПС характеризовались высокой обобщённой оценкой аэробной ёмкости (рис. 1).

ТАБЛИЦА 2
ПОКАЗАТЕЛИ ФИЗИЧЕСКОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ
(M ± M), ОТНОСЯЩИЕСЯ К РАЗЛИЧНЫМ ФАКТОРАМ,
У ПОДРОСТКОВ 13–14 ЛЕТ С РАЗНЫМИ СТАДИЯМИ
ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ

TABLE 2
PHYSICAL PERFORMANCE PARAMETERS (M ± M) RELATED
TO DIFFERENT FACTORS IN ADOLESCENTS
AGED 13–14 YEARS AT DIFFERENT STAGES OF PUBERTY

Показатели	СПС		
	II	III	IV
Фактор 1 (аэробная ёмкость)			
Коэффициент «b», отн. ед.	12,5 ± 0,3**	12,7 ± 0,3	11,5 ± 0,3 ^x
t _{3 ВТ/кг} , с	838,5 ± 46,8*	988,3 ± 54,0 ⁺	628,5 ± 80,3 ^x
Коэффициент «a», отн. ед.	5,5 ± 0,2**	5,5 ± 0,2	4,8 ± 0,2 ^x
W _{90'} , Вт/кг	2,8 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,6 ± 0,1 ^x
W _{240'} , Вт/кг	3,6 ± 0,1	3,8 ± 0,1 ⁺⁺	3,5 ± 0,1 ^{xxx}
ИНПД _{3 ВТ/кг} , уд/с	0,4 ± 0,1**	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1
Бег 6 мин, м	1261,9 ± 17,8*	1275,3 ± 18,7	1319,0 ± 13,9
Фактор 2 (абсолютная аэробная мощность)			
VO ₂ max, л/мин	2055,6 ± 38,1***	2184,5 ± 43,1 ⁺	2539,0 ± 48,7 ^{xxx}
ВТП, кгм/уд	7,8 ± 0,2***	9,8 ± 0,2 ⁺⁺⁺	10,7 ± 0,3 ^x
RWC _{170'} , кгм/мин	542,8 ± 18,5***	591,4 ± 15,8 ⁺	755,1 ± 29,2 ^{xxx}
Фактор 3 (анаэробная алактатная способность)			
ИНПД (спринт), уд/с	14,5 ± 0,6*	14,3 ± 0,6	16,7 ± 0,7 ^x
Челночный бег 4 × 9 м, с	10,5 ± 0,1*	10,4 ± 0,1	10,3 ± 0,1
ОДП, балл	18,8 ± 0,4***	19,3 ± 0,4 ⁺⁺⁺	21,7 ± 0,4
Прыжок в длину, см	173,0 ± 1,9***	176,7 ± 2,8	190,9 ± 1,6 ^{xxx}
W _{1'} , Вт/кг	10,3 ± 0,4	10,5 ± 0,3	11,5 ± 0,4 ^x
МС, кг/кг	1,60 ± 0,03**	1,61 ± 0,03	1,74 ± 0,04 ^x
Бег 20 м, с	3,78 ± 0,03***	3,74 ± 0,04	3,47 ± 0,02 ^{xxx}
Бег 6 мин, м	1261,9 ± 17,8*	1275,3 ± 18,7	1319,0 ± 13,9
Фактор 4 (анаэробная гликолитическая способность)			
t _{5 ВТ/кг} , с	42,4 ± 2,3	46,7 ± 2,8	46,3 ± 3,6
W _{40'} , Вт/кг	5,0 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,1
Поднимание туловища, раз	45,4 ± 1,0**	44,6 ± 1,2	40,2 ± 1,5 ^x
W _{240'} , Вт/кг	3,6 ± 0,1	3,8 ± 0,1 ⁺⁺	3,5 ± 0,1 ^{xxx}
ИНПД _{5 ВТ/кг} , уд/с	3,72 ± 0,27*	3,75 ± 0,26	4,59 ± 0,27 ^x
Фактор 5 (относительная аэробная мощность)			
VO ₂ max, мл/мин × кг	51,2 ± 1,0***	47,1 ± 0,9 ⁺⁺	44,4 ± 0,9
ВТП, кгм/уд × кг	0,195 ± 0,004	0,212 ± 0,004 ⁺⁺	0,187 ± 0,005 ^{xxx}
RWC _{170'} , кгм/мин × кг	13,5 ± 0,5	12,8 ± 0,3	13,2 ± 0,5

Примечание. *, **, *** – статистическая значимость различий между II и IV СПС; ⁺, ⁺⁺, ⁺⁺⁺ – между II и III СПС; ^x, ^{xx}, ^{xxx} – между III и IV СПС при p < 0,05, 0,01 и 0,001 соответственно.

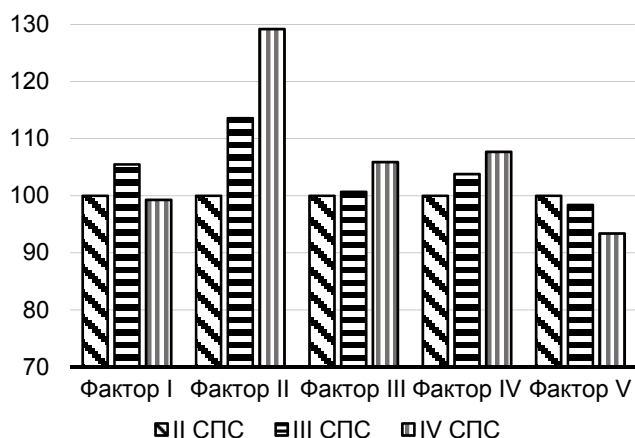


РИС. 1.

Интегральные показатели физической работоспособности подростков с разными стадиями полового созревания (СПС): за 100 % приняты интегральные оценки у подростков со II СПС

FIG. 1.

Integral physical performance parameters of adolescents with different stages of puberty (СПС): integral parameters for adolescents with II stages of puberty were taken as 100 %

Физиологические переменные, связанные с факторами аэробной мощности, также зависели от стадии полового созревания. Наибольшие ($p < 0,05-0,001$) величины абсолютных показателей аэробной производительности отмечались на IV СПС, а самые низкие – на II СПС (табл. 2). В противоположность этому относительные показатели аэробной работоспособности проявляли тенденцию к снижению по мере перехода от II к IV СПС, которая в отдельных случаях была статистически значимой ($p < 0,05-0,001$). Сходную динамику демонстрировали и интегральные оценки абсолютной и относительной аэробной мощности.

Более низкие относительные величины VO_{2max} у подростков 13–14 лет с IV СПС, вероятно, отражают существенное увеличение массы тела и временное уменьшение пропускной способности кислород-транспортной системы, которое в этот период может лишь частично компенсироваться улучшением функционирования системы регуляции вегетативных функций.

Это заключение в частности базируется на анализе полученных нами данных, показывающих, что средние величины массы тела у подростков 13–14 лет статистически значимо ($p = 0,000$) повышаются с увеличением стадии полового созревания, причём обучающиеся со II СПС характеризовались ниже среднего и средней, с III СПС – выше среднего, с IV СПС – высокой оценкой рассматриваемого показателя.

Важно отметить, что средние значения у подростков со II СПС были близки к средним показателям для возраста 12 лет, у подростков с III СПС – для 13 лет, у подростков с IV СПС – для 15 лет [16]. Наиболее выраженные различия обнаружены при сравнении III и IV СПС (рис. 2).

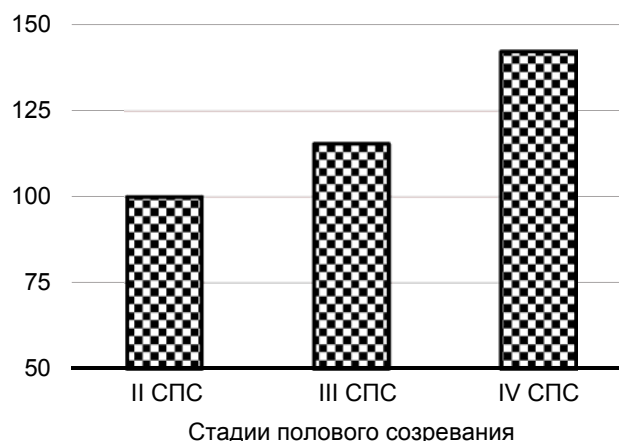


РИС. 2.

Показатель массы тела (%) у подростков с разными стадиями полового созревания (СПС): за 100 % приняты средние величины массы тела у подростков со II СПС

FIG. 2.

Body weight (%) in adolescents at different stages of puberty (СПС): the average values of body weight in adolescents with II stage of puberty were taken as 100 %

Сравнение показателей, связанных с фактором анаэробной алактатной работоспособности, выявило общую направленность их улучшения ($p < 0,05-0,001$) с увеличением стадии полового созревания (табл. 2). Сходная динамика проявилась и в изменениях интегральной оценки анаэробной алактатной работоспособности (рис. 1).

Анализ динамики показателей, включённых в фактор анаэробной гликолитической работоспособности, выявил слабую тенденцию более высоких значений ряда физиологических переменных, характеризующих возможности лактаcidного источника, у подростков с IV СПС по сравнению с подростками со II СПС (табл. 2). Однако статистически значимые различия ($p < 0,05$) обнаружены только в отношении $ИНПД_{5\text{ ВТ/кг}}$. Исключение составляет противоположно направленная динамика результатов теста поднимания туловища, отражающая, по-видимому, не преобразование анаэробной энергетики в процессе полового созревания, а опережающее нарастание массы туловища и увеличение плеча рычага действия мышечной тяги при выполнении данного контрольного упражнения во время пубертатного скачка роста. В целом прогрессивные изменения анаэробных гликолитических возможностей подростков хорошо иллюстрирует динамика интегральных показателей физической работоспособности в процессе полового созревания (рис. 1). Полученные материалы подтверждают сложившееся в возрастной физиологии, физиологии мышечной деятельности и профилактической медицине представление о том, что развитие анаэробных алактатных и анаэробных гликолитических возможностей организма значительно ускоряется на завершающих стадиях полового созревания.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы исследования свидетельствуют о том, что наибольшие факторные нагрузки в структуре физической работоспособности подростков 13–14 лет имеют параметры аэробных, анаэробных гликолитических, анаэробных алактатных возможностей организма и показатели связанных с ними двигательных способностей. Выделенные факторы ассоциируются с зонами относительной мощности В.С. Фарфеля: ёмкость и мощность окислительной системы характеризуют функциональную подготовленность к выполнению мышечной деятельности умеренной и большой мощности, анаэробная гликолитическая способность – результативность реализации нагрузки субмаксимальной мощности, анаэробная алактатная способность – возможность выполнения работы максимальной мощности. Важно отметить, что с рассматриваемыми факторами взаимосвязаны и показатели развития кондиционных двигательных способностей обучающихся.

На долю трёх факторов, характеризующих аэробную работоспособность, приходилось более 60 % общей дисперсии выборки. Это аэробная ёмкость, абсолютная и относительная аэробная мощность. Аэробная мощность, как известно, определяет интенсивность работы и отражает наибольшую скорость образования аденозинтрифосфата (АТФ) за счёт данного источника энергообеспечения, аэробная ёмкость лимитирует объем выполняемой работы и характеризует общее количество АТФ, которое можно ресинтезировать за счёт имеющихся запасов энергетических субстратов [17]. Динамика показателей ёмкости аэробных и анаэробных процессов, в отличие от показателей мощности, в онтогенетическом аспекте практически не изучена [2]. Вместе с тем полученные результаты определяют необходимость оценки аэробной работоспособности подростков не только на основе традиционных показателей мощности, но и метаболической ёмкости. В качестве информативных показателей аэробной ёмкости можно использовать коэффициент «b» уравнения Мюллера и время удержания нагрузки мощностью 3 Вт/кг. Эти физиологические переменные, как показали наши исследования, обладают высокой факторной валидностью.

Наличие двух относительно независимых факторов, связанных с мощностью аэробного источника энергообеспечения мышечной деятельности у подростков, по-видимому, обусловлено тем, что абсолютные показатели аэробной производительности организма в значительной степени повышаются вследствие резкого увеличения общей массы тела во время пубертатного скачка роста и мало отражают реальные изменения в системе транспорта и утилизации кислорода (рис. 2). В противоположность этому относительные показатели характеризуют подлинное изменение аэробных возможностей в процессе полового созревания. Поэтому в качестве информативных параметров аэробной мощности целесообразно использовать величины $\text{VO}_{2\text{max}}$ и ВтП, отнесённые к массе тела. Эти результаты находятся в полном соответствии с данными других исследований, по-

казавших, что в пубертатном периоде наблюдается увеличение абсолютных величин $\text{VO}_{2\text{max}}$, связанное главным образом с нарастанием массы скелетных мышц, тогда как относительные величины этого показателя мало изменяются [2, 6 и др.].

Анаэробная работоспособность представлена двумя факторами. На их долю приходилось более 21 % общей дисперсии выборки. Фактор анаэробной алактатной работоспособности включал показатели, отражающие максимальную мощность и эффективность выполнения предельно интенсивной анаэробной нагрузки, а также уровень развития скоростно-силовых, силовых и скоростных двигательных способностей. Высокой информативностью по отношению к данному фактору отличались ИНПД после спринтерского бега и общая оценка двигательной подготовленности.

Фактор анаэробной гликолитической работоспособности включал показатели, связанные с соответствующим источником энергообеспечения и уровнем развития силовой выносливости. Наиболее информативными переменными оказались продолжительность удержания нагрузки 5 Вт/кг и мощность работы, максимальное время реализации которой составляет 40 с.

Установлено, что величины физиологических показателей, связанных с выделенными факторами физической работоспособности, зависели от стадии полового созревания. Известно, что изменения физической работоспособности и мышечной энергетики в пубертатном периоде контролируются половыми гормонами, влияющими на формирование механизмов энергообеспечения и метаболические возможности скелетной мускулатуры. В этот период у мужчин тестостерон дополняет анаболические эффекты гормона роста [6]. Он играет ключевую роль в регуляции физической работоспособности и двигательной подготовленности на различных стадиях полового созревания: оказывает влияние на состав тела, развитие костной ткани, аэробные и анаэробные возможности, мышечную силу, функции системы кровообращения, активность мышечных ферментов, использование энергетических субстратов, эритропоэз [3, 6, 8, 18]. Важно отметить, что в процессе полового созревания концентрация циркулирующего тестостерона у мужчин повышается, при этом между циркулирующим тестостероном, мышечной массой и силой, а также циркулирующим гемоглобином отмечается зависимость типа «доза-реакция» [8].

Результаты исследования, показывающие, что с увеличением СПС показатели аэробной мощности и ёмкости изменяются разнонаправленно, согласуются с данными других работ. Установлено, что в препубертатном периоде и в начале полового созревания физическая работоспособность детей увеличивается главным образом на основе интенсивного развития аэробного механизма энергообеспечения. На начальных стадиях полового созревания в скелетных мышцах наблюдается и более высокий процент волокон I типа, обеспечивающих реализацию физической активности преимущественно посредством аэробного ресинтеза АТФ [14, 19, 20]. Мощность аэробной системы в это время существенно возраста-

ет, в частности за счёт усиленного развития капиллярной сети, увеличения в скелетных мышцах количества митохондрий по отношению к площади миофибрилл, активности окислительных ферментов [2, 21]. Дальнейшее повышение работоспособности по мере полового созревания происходит преимущественно за счёт интенсификации развития анаэробных механизмов энергообеспечения, на фоне слабо выраженной динамики относительной аэробной мощности [2, 22, 23].

Полученные нами данные о высоких показателях аэробной ёмкости у подростков мужского пола с III СПС находят подтверждение в научной литературе. Показано, что на этой стадии отмечается увеличение функциональных возможностей системы транспорта и утилизации кислорода, связанное с процессами роста и развития организма. В этот период интенсивно растут сердце и лёгкие, увеличиваются систолический объём, объёмная скорость кровотока, жизненная ёмкость лёгких. Всё это создаёт благоприятные условия для улучшения снабжения тканей кислородом и развития механизмов энергообеспечения мышечной деятельности [24]. На III СПС отмечается первая фаза мышечных пубертатных дифференцировок, способствующих проявлению у большинства мышечных волокон явных «черт аэробного метаболизма»: увеличиваются размер и количество митохондрий, растёт активность окислительных ферментов [2, 24]. Композиция скелетных мышц трансформируется в сторону увеличения доли волокон I типа, происходит временное повышение мощности аэробного порога и соответствующее расширение зоны аэробного энергообеспечения [2]. Предполагается, что это во многом связано с изменениями эндокринных функций, возможностей кислородтранспортной системы и организации тканевой энергетики. Так, например, хорошо известны данные о взаимосвязи концентрации циркулирующего тестостерона со сроками и проявлениями полового созревания у подростков мужского пола. Характерные клинические признаки маскулинизации, такие как рост мышечной массы, увеличение длины тела, оволощение тела, изменение голоса, повышение уровня гемоглобина, проявляются только тогда, когда концентрация циркулирующего тестостерона в середине полового созревания достигает уровня взрослых мужчин [8]. Вследствие этого происходит существенное увеличение количества гемоглобина, что обеспечивает биологический эффект возрастания кислородной ёмкости крови, усиления транспорта кислорода к тканям и увеличения аэробных энергозатрат [6, 8], при этом между изменениями уровня гемоглобина и аэробной работоспособностью существует линейная зависимость. Возможно, тестостерон в этих условиях способствует увеличению расхода энергии из-за усиленного митохондриального биогенеза в скелетных мышцах [25], а также регулирует аэробную способность скелетных мышц посредством усиления экспрессии миоглобина [26]. Значительное возрастание аэробной ёмкости на III СПС может быть обусловлено изменениями уровня кортизола [6] и активности щитовидной железы, вызывающей активацию окислительного метаболизма мышц [7, 14, 27].

Развитие анаэробного алактатного и анаэробно-гликолитического механизмов в ходе пубертатного периода происходит как синхронно, так и гетерохронно, что определяет структуру энергетических процессов и специфику формирования связанных с ними двигательных способностей. Наиболее выраженный рост анаэробных возможностей отмечается на завершающих стадиях полового созревания, когда складывается дефинитивная структура энергетического обеспечения мышечной деятельности [11, 22, 23]. Развитие анаэробных источников в значительной степени происходит во взаимосвязи с изменениями базальных концентраций половых гормонов и зависит от стадии полового созревания [6, 8, 11]. По имеющимся данным, при переходе от начальных к завершающим СПС под воздействием мужских половых гормонов в скелетных мышцах отмечается увеличение активности ключевых ферментов анаэробного гликолиза и возрастание толщины волокон IIB подтипа (быстрых гликолитических) [2, 3, 8]. На основе использования Вингейтского теста выявлено существенное увеличение анаэробной мощности у мальчиков в ходе полового созревания [18], при этом обнаружена средняя степень корреляции между пиковой и средней анаэробной мощностью с одной стороны и уровнем тестостерона с другой [28]. Положительная взаимосвязь выявлена между биологическим созреванием и пиковой анаэробной мощностью [11]. Показано также, что двигательная подготовленность подростков мужского пола улучшается в процессе полового созревания [13]. Различия между СПС проявляются прежде всего в отношении силовых и скоростно-силовых способностей [4]. С нарастанием степени половой зрелости не только улучшаются двигательные способности, но и резко увеличиваются длина и масса тела [4]. Значительные различия по антропометрическим показателям позволяют с высокой точностью предсказать стадию полового созревания на основе изменений физического развития [29]. В целом у подростков с IV СПС заметно расширяются границы зон максимальной и субмаксимальной относительной мощности.

Выявленные нами различия в физическом состоянии подростков одного паспортного возраста в значительной мере отражают классические варианты индивидуального морфофункционального развития – обычное, замедленное (индивидуальная ретардация) и ускоренное (индивидуальная акселерация) [15, 30]. В последних двух случаях развитие может быть гармоничным и негармоничным. При негармоничной индивидуальной акселерации, например, может наблюдаться временное уменьшение функциональных возможностей кислородтранспортной системы, снижение эффективности её реакций на стандартные и максимальные физические нагрузки [15].

Как отмечалось выше, темпы полового созревания оказывают заметное влияние на структуру работоспособности и мышечной энергетики. Имеются сведения о том, что у индивидуумов с замедленными темпами полового созревания отмечается более высокая эффективность аэробного источника энергообеспечения мы-

шечной деятельности [6, 20, 30], а при ускоренных темпах созревания – повышенная эффективность анаэробного гликолитического источника ресинтеза АТФ [6, 22]. У подростков с низкими темпами полового созревания в скелетной мускулатуре наблюдается более высокий процент окислительных мышечных волокон (I тип), характеризующихся преобладанием аэробного источника энергообеспечения мышц [1, 19, 20], повышенная плотность митохондрий и более высокая активность окислительных ферментов [1, 11, 20]. Отражением этого и может служить описанная в нашем исследовании тенденция временного снижения относительной величины $\dot{V}O_2\max$ у подростков 13–14 лет с III и особенно IV СПС по отношению ко II стадии. В целом предполагается, что у лиц с высокими темпами полового созревания активность ферментов анаэробного гликолиза выше, чем у лиц с низкими темпами созревания, тогда как активность аэробных ферментов, наоборот, выше у подростков с низкими темпами полового созревания по сравнению с субъектами с опережающим созреванием [11].

Полученные результаты показывают, что у обучающихся одного календарного возраста с разным уровнем половой зрелости может отмечаться выраженная специфика развития мышечной энергетики и работоспособности, что необходимо учитывать в процессе школьного физического воспитания, оздоровительной и спортивной тренировки. Мальчики-подростки 13–14 лет, находящиеся на начальных стадиях полового созревания, отличаются высокой функциональной подготовленностью к выполнению физической работы аэробного характера и благоприятными условиями для эффективного развития общей выносливости, тогда как находящиеся на завершающих стадиях полового созревания – к выполнению работы анаэробного алактатного и анаэробного гликолитического характера, а также развития силовых, скоростно-силовых и скоростных способностей. Всё это свидетельствует о том, что для подростков одного паспортного возраста с высокими и замедленными темпами биологического развития должны разрабатываться отдельные нормативы оценки показателей физической работоспособности и двигательной подготовленности. Основываясь на полученных данных, необходимо в процессе физической подготовки выделять группы подростков с начальными и завершающими стадиями полового созревания. Это позволит оказывать дифференцированное «тренировочное» воздействие на развитие аэробных и анаэробных компонентов физической работоспособности и связанных с ними двигательных способностей с учётом изменения приспособительных возможностей организма в процессе полового созревания. Результаты исследования необходимо принимать во внимание при отборе валидных и надёжных показателей физической работоспособности в разных зонах относительной мощности, создании систем её комплексной оценки в широких границах доступных нагрузок, нормировании тренировочных воздействий и разработке эффективных программ занятий физическими упражнениями в период полового созревания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследовании идентифицированы пять относительно независимых факторов, характеризующих физическую работоспособность подростков мужского пола 13–14 лет в широких границах доступных нагрузок: аэробная ёмкость; абсолютная аэробная мощность; анаэробная алактатная работоспособность; анаэробная гликолитическая работоспособность; относительная аэробная мощность. Эти факторы рассматриваются в качестве ключевых звеньев доминирующей функциональной системы, обеспечивающей адаптацию к напряжённой мышечной деятельности, и хорошо соотносятся с зонами относительной мощности В.С. Фарфеля.

Выявлены добротные показатели диагностики факторов аэробной и анаэробной работоспособности подростков, находящихся на разных стадиях полового созревания. Анализ физической работоспособности подростков 13–14 лет показал, что в процессе полового созревания изменения показателей, объединённых в разные факторы, происходят нелинейно и неодновременно. Полученные результаты свидетельствуют о том, что испытуемые рассматриваемой возрастной группы, находящиеся на II, III и IV стадиях полового созревания, значительно отличаются по уровню ключевых биоэнергетических критериев оценки физической работоспособности. Установлено, что с нарастанием стадии полового созревания происходят прогрессивные изменения большинства показателей анаэробной алактатной и анаэробной гликолитической работоспособности, в то время как показатели аэробной мощности и ёмкости изменяются разнонаправленно, в ряде случаев проявляя тенденцию к временному снижению. Сходным образом изменяются и связанные с рассматриваемыми факторами двигательные способности.

Полученные материалы о факторной структуре и уровне физической работоспособности обучающихся 13–14 лет необходимо учитывать при разработке мероприятий по нормированию физических нагрузок аэробного, анаэробного гликолитического и анаэробного алактатного характера в процессе систематических занятий физическими упражнениями, по оперативному, текущему и этапному контролю функционального состояния подростков с разными стадиями полового созревания. Результаты исследования могут служить основой для эффективного использования физических нагрузок различной метаболической направленности в целях повышения функциональных возможностей организма обучающихся в критический период онтогенеза, связанный с процессом полового созревания.

В заключение необходимо отметить, что в пубертатном периоде в основу комплексного контроля параметров нагрузки в процессе физического совершенствования подростков с разными стадиями полового созревания должен быть положен учёт структуры и уровня физической работоспособности, а также морфофункциональной зрелости ведущих физиологических систем организма, обеспечивающих реализацию напряжённой мышечной деятельности.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tonson A, Ratel S, Le Fur Y, Vilmen C, Cozzone PJ, Bendahan D. Muscle energetics changes throughout maturation: A quantitative ³¹P-MRS analysis. *J Appl Physiology*. 2010; 109(6): 1769-1778. doi: 10.1152/jappphysiol.01423.2009
2. Сонькин В.Д., Тамбовцева Р.В. Развитие мышечной энергетики и работоспособности в онтогенезе. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ»; 2011. [Sonkin VD, Tambovtseva RV. *Development of muscular energy and working capacity in ontogeny*. Moscow: LIBROKOM; 2011. (In Russ.)].
3. Armstrong N, Barker AR, McManus AM. Muscle metabolism changes with age and maturation: How do they relate to youth sport performance? *Br J Sports Med*. 2015; 49(13): 860-864. doi: 10.1136/bjsports-2014-094491
4. Lesinski M, Schmelcher A, Herz M, Puta C, Gabriel H, Arampatzis A, et al. Maturation-, age-, and sex-specific anthropometric and physical fitness percentiles of German elite young athletes. *PLoS One*. 2020; 15(8): e0237423. doi: 10.1371/journal.pone.0237423
5. Фарбер Д.А., Безруких М.М. Методологические аспекты изучения физиологии развития ребенка. *Физиология человека*. 2001; 27(5): 8-16. [Farber DA, Bezrukikh MM. Methodological aspects of studying the physiology of child development. *Human Physiology*. 2001; 27(5): 8-16. (In Russ.)].
6. Goswami B, Singha Roy A, Dalui R, Bandyopadhyay A. Impact of pubertal growth on physical fitness. *Am J Sports Sci Med*. 2014; 2(5A): 34-39. doi: 10.12691/ajssm-2-5A-8
7. Wang Y, He D, Fu C, Dong X, Jiang F, Su M, et al. Thyroid function changes and pubertal progress in females: A longitudinal study in iodine-sufficient areas of East China. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12: 653680. doi: 10.3389/fendo.2021.653680
8. Handelsman DJ, Hirschberg AL, Bermon S. Circulating testosterone as the hormonal basis of sex differences in athletic performance. *Endocr Rev*. 2018; 39(5): 803-829. doi: 10.1210/er.2018-00020
9. Судakov К.В. *Функциональные системы*. М.: Издательство Российской академии наук; 2011. [Sudakov KV. *Functional systems*. Moscow: Publishing house of the Russian Academy of Sciences; 2011. (In Russ.)].
10. Криволапчук И.А., Мышьяков В.В. Особенности факторной структуры физической работоспособности мальчиков и девочек 9–10 лет. *Гигиена и санитария*. 2017; 8: 759-765. [Krivolapchuk IA, Myshyakov VV. Peculiarities of the factor structure of physical working capacity in boys and girls aged of 9–10 years. *Hygiene and Sanitation*. 2017; 96(8): 759-765. (In Russ.)]. doi: 10.47470/0016-9900-2017-96-8-759-765
11. De Almeida-Neto PF, Silva LFD, Miarka B, De Medeiros JA, de Medeiros RCDSC, Teixeira RPA, et al. Influence of advancing biological maturation on aerobic and anaerobic power and on sport performance of junior rowers: A longitudinal study. *Front Physiol*. 2022; 13: 892966. doi: 10.3389/fphys.2022.892966
12. Baxter-Jones AD, Eisenmann JC, Sherar LB. Controlling for maturation in pediatric exercise science. *Pediatr Exercise Sci*. 2005; 17: 18-30. doi: 10.1123/pes.17.1.18
13. Manzano-Carrasco S, Garcia-Unanue J, Lopez-Fernandez J, Hernandez-Martin A, Sanchez-Sanchez J, Gallardo L, et al. Differences in body composition and physical fitness parameters among prepubertal and pubertal children engaged in extracurricular sports: The active health study. *Eur J Public Health*. 2022; 32(1): i67-i72. doi: 10.1093/eurpub/ckac075
14. Корниенко И.А., Сонькин В.Д., Тамбовцева Р.В. Возрастное развитие энергетики мышечной деятельности: Итоги 30-летнего исследования. Сообщение I. Структурно-функциональные перестройки. *Физиология человека*. 2005; 31(4): 42-46. [Kornienko IA, Sonkin VD, Tambovtseva RV. Age-related development of the energetics of muscular activity: Results of a 30-year study. Message I. Structural and functional rearrangements. *Human Physiology*. 2005; 31(4): 42-46. (In Russ.)].
15. Тихвинский С.Б., Хрущев С.В. (ред.). *Детская спортивная медицина*. М.: Медицина; 1991. [Tikhvinsky SB, Khrushchev SV (eds). *Children's sports medicine*. Moscow: Meditsina; 1991. (In Russ.)].
16. Кучма В.Р., Скоблина Н.А., Милушкина О.Ю. (ред.). *Физическое развитие детей и подростков Российской Федерации. Выпуск VII*. М.: Литтера; 2019. [Kuchma VR, Skoblina NA, Milushkina OYu (eds). *Physical development of children and adolescents of the Russian Federation. Issue VII*. Moscow: Littera; 2019. (In Russ.)].
17. Волков Н.И., Олейников В.И. *Биоэнергетика спорта*. М.: Советский спорт; 2011. [Volkov NI, Oleinikov VI. *Bioenergetics of sports*. Moscow: Sovetskiy sport; 2011. (In Russ.)].
18. Falk B, Bar-Or O. Longitudinal changes in peak aerobic and anaerobic mechanical power in circumpubertal boys. *Pediatr Exercise Sci*. 1993; 5: 318-331. doi: 10.1123/pes.5.4.318
19. Kriketos AD, Baur LA, O'Connor J, Carey D, King S, Caterson ID, et al. Muscle fibre type composition in infant and adult populations and relationships with obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997; 21(9): 796-801. doi: 10.1038/sj.ijo.0800476
20. Ratel S, Blazevich AJ. Are prepubertal children metabolically comparable to well-trained adult endurance athletes? *Sports Med*. 2017; 47(8): 1477-1485. doi: 10.1007/s40279-016-0671-1
21. Birat A, Bourdier P, Pionnier E, Blazevich AJ, Maciejewski H, Duché P, et al. Metabolic and fatigue profiles are comparable between prepubertal children and well-trained adult endurance athletes. *Front Physiol*. 2018; 9: 387. doi: 10.3389/fphys.2018.00387
22. Rowland TW. Children's exercise physiology. In: *Human Kinetics*. 2005; 79-80.
23. McNarry MA, Barker AR. Aerobic and anaerobic metabolism. In: *Elite Youth Cycling*. Oxon: Routledge. 2018: 49-69. doi: 10.4324/9781315110776-3
24. Безруких М.М., Сонькин В.Д., Фарбер Д.А. *Возрастная физиология (физиология развития)*. М.: Издательский центр «Академия»; 2003. [Bezrukikh MM, Sonkin VD, Farber DA. *Age physiology (developmental physiology)*. Moscow: Akademiya; 2003. (In Russ.)].
25. Usui T, Kajita K, Kajita T, Mori I, Hanamoto T, Ikeda T, et al. Elevated mitochondrial biogenesis in skeletal muscle is associated with testosterone-induced body weight loss in male mice. *FEBS Lett*. 2014; 588(10): 1935-1941. doi: 10.1016/j.febslet.2014.03.051

26. Mänttari S, Anttila K, Järvillehto M. Testosterone stimulates myoglobin expression in different muscles of the mouse. *J Comp Physiol B*. 2008; 178(7): 899-907. doi: 10.1007/s00360-008-0280-x
27. Taylor PN, Sayers A, Okosieme O, Das G, Draman MS, Tabasum A, et al. Maturation in serum thyroid function parameters over childhood and puberty: Results of a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017; 102(7): 2508-2515. doi: 10.1210/jc.2016-3605
28. Falgairette G, Bedu M, Fellmann N, Spielvogel H, Van Praagh E, Obert P, et al. Evaluation of physical fitness from field tests at high altitude in circumpubertal boys: Comparison with laboratory data. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1994; 69(1): 36-43. doi: 10.1007/BF00867925
29. Medeiros RM, Arrais RF, Azevedo JC, de Andrade RD, Pinto VC, Ronque ER, et al. Prediction of pubertal maturation from anthropometric variables: Proposal for a non-invasive method. *J Sports Med Phys Fitness*. 2018; 58(5): 638-643. doi: 10.23736/S0022-4707.17.06564-1
30. Moore SA, McKay HA, Macdonald H, Nettlefold L, Baxter-Jones AD, Cameron N, et al. Enhancing a somatic maturity prediction model. *Med Sci Sports Exerc*. 2015; 47(8): 1755-1764. doi: 10.1249/MSS.0000000000000588

Сведения об авторах

Криволапчук Игорь Альберович – доктор биологических наук, руководитель лаборатории физиологии мышечной деятельности и физического воспитания, ФГБНУ «Институт развития, здоровья и адаптации ребёнка»; профессор кафедры теории и методики спорта и физического воспитания, ГАОУ ВО г. Москвы «Московский государственный университет спорта и туризма»; профессор кафедры физического воспитания, ФГБОУ ВО «Государственный университет управления», e-mail: i.krivolapchuk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8628-6924>

Чернова Мария Борисовна – кандидат педагогических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории физиологии мышечной деятельности и физического воспитания, ФГБНУ «Институт развития, здоровья и адаптации ребёнка», e-mail: mashacernova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1253-9842>

Сухецкий Валерий Константинович – доцент кафедры спортивных дисциплин, УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы», e-mail: vsukhetski@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5710-3583>

Чичерин Вадим Петрович – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой физического воспитания, ФГБОУ ВО «Государственный университет управления», e-mail: vp_chicherin@guu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4884-4635>

Information about the authors

Igor A. Krivolapchuk – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Physiology of Muscle Activity and Physical Education, Institute of Child Development, Health and Adaptation; Professor at the Department of Theory and Methodology of Sports and Physical Education, Moscow State University of Sport and Tourism; Professor at the Department of Physical Education, The State University of Management, e-mail: i.krivolapchuk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8628-6924>

Maria B. Chernova – Cand. Sc. (Ped.), Docent, Senior Research Officer at the Laboratory of Physiology of Muscle Activity and Physical Education, Institute of Child Development, Health and Adaptation, e-mail: mashacernova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1253-9842>

Valerij K. Suheckij – Associate Professor at the Department of Sports Disciplines, Yanka Kupala State University of Grodno, e-mail: vsukhetski@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5710-3583>

Vadim P. Chicherin – Cand. Sc. (Biol.), Docent, Head of the Department of Physical Education, The State University of Management, e-mail: vp_chicherin@guu.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4884-4635>

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ УРОВНЕЙ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ХРОНИЧЕСКИМ ЭНДОМЕТРИТОМ И НОРМАЛЬНОЙ ИЛИ ИЗБЫТОЧНОЙ МАССОЙ ТЕЛА

Иевлева К.Д.,
Данусевич И.Н.,
Аталян А.В.,
Егорова И.Ю.,
Бабаева Н.И.,
Рашидова М.А.,
Ахмедзянова М.Р.,
Шолохов Л.Ф.,
Наделяева Я.Г.,
Лазарева Л.М.,
Сутурина Л.В.

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

Автор, ответственный за переписку:
Иевлева Ксения Дмитриевна,
e-mail: asiy91@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Хронический эндометрит (ХЭ) является воспалительным заболеванием матки, приводящим к невынашиванию беременности и бесплодию. В связи с высокой инвазивностью основного метода диагностики ХЭ и смазанностью клинической картины является актуальной разработка менее инвазивных подходов установления наличия данного заболевания.

Цель исследования. Установление значимой ассоциации концентрации про- и противовоспалительных интерлейкинов в сыворотке крови с наличием хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста без сопутствующих эндокринных заболеваний.

Материалы и методы. Настоящий ре-анализ данных проведён на основе результатов кросс-секционного исследования, проведённого в период с мая 2017 по декабрь 2019 г. с участием 198 женщин репродуктивного возраста. У всех участниц измеряли массу тела и рост с расчётом индекса массы тела, определяли концентрацию С-реактивного белка, про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и проводили пайпель-биопсию с определением экспрессии CD138 в строме эндометрия. Для статистического анализа использовали непараметрические методы анализа, а также ROC-анализ.

Результаты. В ре-анализ данных включили 86 женщин, из которых у 37 подтвердили диагноз ХЭ. У женщин с ХЭ на фоне нормальной массы тела установлены статистически значимо более высокие значения концентрации интерлейкина (ИЛ) 1 ($p = 0,0028$) и отношения ИЛ-1/фактор некроза опухоли α ($p < 0,001$) с пороговыми значениями данных параметров $\geq 1,35$ пг/мл (чувствительность 75 %, специфичность 83 %; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 0,88; 2,15) и $\geq 1,03$ (чувствительность 85 %, специфичность 78 %; 95% ДИ: 0,81; 1,27) соответственно. У женщин с избыточной массой тела такой зависимости не выявлено.

Выводы. Полученные результаты могут быть основой для проведения более масштабного исследования с установлением концентрации цитокинов не только в сыворотке крови, но и в эндометрии женщин с ХЭ, что позволит разработать малоинвазивный метод определения риска наличия данного заболевания у женщин репродуктивного возраста.

Ключевые слова: хронический эндометрит, интерлейкин 1, фактор некроза опухоли α , цитокины, хроническое воспаление, избыточная масса тела

Для цитирования: Иевлева К.Д., Данусевич И.Н., Аталян А.В., Егорова И.Ю., Бабаева Н.И., Рашидова М.А., Ахмедзянова М.Р., Шолохов Л.Ф., Наделяева Я.Г., Лазарева Л.М., Сутурина Л.В. Диагностическая значимость уровней интерлейкинов в сыворотке крови у женщин репродуктивного возраста с хроническим эндометритом и нормальной или избыточной массой тела. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 38-48. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.4

Статья поступила: 27.03.2024

Статья принята: 05.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF INTERLEUKIN LEVELS IN BLOOD SERUM IN PREMENOPAUSAL WOMEN WITH CHRONIC ENDOMETRITIS AND NORMAL WEIGHT OR OVERWEIGHT

Ievleva K.D.,
Danusevich I.N.,
Atalyan A.V.,
Egorova I.Yu.,
Babaeva N.I.,
Rashidova M.A.,
Akhmedzyanova M.R.,
Sholokhov L.F.,
Nadeliaeva I.G.,
Lazareva L.M.,
Suturina L.V.

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

Corresponding author:
Kseniia D. Ievleva,
e-mail: asi91@mail.ru

ABSTRACT

Background. Chronic endometritis (CE) is an inflammatory hysteropathy causing miscarriage and infertility. High invasiveness of the main method of CE diagnosis and vague clinical picture necessitate the need for the development of less invasive approaches to establish the presence of this disease.

The aim of the study. To establish a significant association of the concentration of pro- and anti-inflammatory interleukins in the blood serum with the presence of chronic endometritis in premenopausal women without concomitant endocrine diseases.

Materials and methods. This re-analysis of the data is based on the results of a cross-sectional study conducted between May 2017 and December 2019 which included 198 premenopausal women. In all participants, body weight and height were measured with the calculation of the body mass index, the concentration of C-reactive protein, pro- and anti-inflammatory cytokines in the blood serum was determined, and a pipelle biopsy was performed to determine the CD138 expression in the endometrial stroma. Non-parametric methods, as well as ROC analysis, were used for statistical analysis.

Results. 86 women were included in the re-analysis of the data, 37 of them had a confirmed diagnosis of chronic endometritis. Statistically significantly higher values of interleukin 1 (IL-1) concentration ($p = 0.0028$) and IL-1/tumor necrosis factor α ratio ($p < 0.001$) were determined in women with CE and normal body weight; threshold values of these parameters were ≥ 1.35 pg/ml (sensitivity 75 %, specificity 83 %; 95% confidence interval (95% CI): 0.88–2.15) and ≥ 1.03 (sensitivity 85 %, specificity 78 %; 95% CI: 0.81–1.27) respectively. Such a relationship was not revealed in women with overweight.

Conclusions. The obtained results can be the basis for conducting a larger-scale study with determining the concentration of cytokines not only in the blood serum, but also in the endometrium of women with CE, which will allow the development of a minimally invasive method for determining the risk of the presence of chronic endometritis in premenopausal women.

Key words: chronic endometritis, interleukin 1, tumor necrosis factor α , cytokines, chronic inflammation, overweight

For citation: Ievleva K.D., Danusevich I.N., Atalyan A.V., Egorova I.Yu., Babaeva N.I., Rashidova M.A., Akhmedzyanova M.R., Sholokhov L.F., Nadeliaeva I.G., Lazareva L.M., Suturina L.V. Diagnostic significance of interleukin levels in blood serum in premenopausal women with chronic endometritis and normal weight or overweight. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 38–48. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.4

Received: 27.03.2024
Accepted: 05.06.2024
Published: 15.07.2024

ОБОСНОВАНИЕ

Одним из главных последствий хронического эндометрита (ХЭ) является снижение рецептивности эндометрия на фоне воспаления, что в дальнейшем может обуславливать развитие невынашивания беременности и бесплодия у женщин репродуктивного возраста. Это происходит в результате увеличения экспрессии провоспалительных цитокинов в полости матки, которые подавляют факторы роста и ангиогенеза эндометрия и приводят к дизрегуляции процессов децидуализации клеток слизистой оболочки матки. Эти процессы обуславливают истончение эндометрия и снижают его способность к имплантации [1–3].

ХЭ является заболеванием, вызывающим затруднения у врачей, поскольку наряду со снижением рецептивности и повышением риска развития бесплодия данное состояние весьма сложно диагностировать из-за неспецифических симптомов, а у некоторых женщин оно может никак не проявляться клинически. Исходя из этого затруднительно установить точную распространённость данного заболевания в общей популяции. Согласно имеющимся данным, ХЭ встречается в среднем у 10–11 % женщин репродуктивного возраста [4].

К настоящему моменту наиболее эффективным и воспроизводимым методом диагностики ХЭ является проведение пайпель-биопсии с определением содержания плазматических клеток, экспрессирующих CD138 в строме эндометрия [5, 6]. Несмотря на высокую чувствительность и специфичность данного метода исследования, имеются некоторые сложности в его использовании. В частности, процедура забора образцов эндометрия для анализа является малой гинекологической операцией и требует показаний для назначения [6, 7]. В связи с этим достаточно высок риск пропустить наличие заболевания у пациентки.

В течение многих лет исследователи пытаются разработать менее инвазивные и более доступные методы диагностики ХЭ, в том числе найти взаимосвязь некоторых показателей сыворотки крови с наличием данного заболевания [8, 9]. Особый интерес вызывают сывороточные уровни про- и противовоспалительных цитокинов, поскольку их дисбаланс регистрируется в слизистой оболочке матки женщин с ХЭ [10]. Некоторые исследователи установили повышение концентрации провоспалительных цитокинов в менструальной или венозной крови у пациенток с ХЭ [11]. Однако в этих исследованиях не учитывались дополнительные параметры, которые могут оказывать влияние на концентрацию цитокинов в крови, например, системное воспаление вследствие наличия сопутствующих заболеваний, в том числе гормональных нарушений и ожирения [12, 13].

Таким образом, **целью настоящего исследования** явилось установление значимой ассоциации концентрации про- и противовоспалительных интерлейкинов в сыворотке крови с наличием хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста без сопутствующих эндокринных заболеваний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

В период с мая 2017 г. по декабрь 2019 г. проведено кросс-секционное исследование, подробно описанное в ранее опубликованных нами работах [8, 14], в котором были обследованы 198 женщин репродуктивного возраста ($33,71 \pm 5,93$ года). Все участницы были рекрутированы во время ежегодных профилактических осмотров на базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека». Все женщины, принявшие участие в исследовании, подписали информированное согласие на обследование. В работе с пациентками соблюдены этические принципы, изложенные в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ред. 1964, 2013 гг.), Федеральном законе Российской Федерации от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» и «Правилах клинической практики в Российской Федерации», утверждённых Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266. Проведение данного исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 2.1 от 24.02.2016).

В качестве критериев включения в настоящий ре-анализ данных использовали: наличие или отсутствие ХЭ; наличие данных по индексу массы тела (ИМТ) и сывороточной концентрации интерлейкинов. В качестве критерия исключения использовали наличие у пациенток такого сопутствующего диагноза, как синдром поликистозных яичников. У всех пациенток на момент проведения исследования отсутствовали признаки острого локального или системного воспаления.

Инструментальные методы

Подробно инструментальные и клинические методы исследования описаны ранее [8, 14]. На основе проведённых обследований всем пациенткам рассчитывали ИМТ, а также по результатам морфологического и иммуногистохимического исследования образцов эндометрия устанавливали диагноз ХЭ.

Лабораторные методы

Для определения сывороточных концентраций интерлейкинов у каждой пациентки после 15-минутного отдыха утром натощак забирали кровь из локтевой вены. Получение сыворотки крови для исследований проводили путём центрифугирования пробирок при 3000 об/мин в течение 10 мин. Сыворотку хранили в одноразовых пробирках типа Eppendorf при температуре -80°C . Количественное определение концентрации интерлейкина (ИЛ) 1, ИЛ-6, ИЛ-8, фактора некроза опухоли (ФНО) α , интерферона (ИНФ), а также С-реактивного белка (СРБ) проводили с использованием тест-систем ООО «Вектор-Бест» (Россия) на иммуноферментном анализаторе ELx808 (BioTek, США) согласно инструкции производителя.

Статистические методы

Статистический анализ включал в себя описательную статистику, тестирование статистических гипотез, ROC-анализ и определение отношения шансов (ОШ). Для определения близости к нормальному закону распределения непрерывных величин использовали критерий Колмогорова – Смирнова. Описание непрерывных переменных представлены в виде медианы и нижнего и верхнего квартилей. Для проверки статистической гипотезы об эквивалентности по расположению двух генеральных совокупностей для независимых случайных выборок использовали U-критерий Манна – Уитни, а для нескольких генеральных совокупностей – критерий Краскала – Уоллиса. Для установления корреляционной связи между значениями параметров ИМТ и СРБ использовали тест ранговой корреляции Спирмена. Для установления пороговых значений параметров и их 95%-х доверительных интервалов (95% ДИ) проводили анализ характеристической кривой (ROC-анализ). Производился подсчёт чувствительности и специфичности, оценивали площадь под кривой (AUC, area under curve). Для каждого порогового значения также рассчитывали ОШ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 198 участниц для проведения настоящего ре-анализа, согласно критериям включения и исключения, использовали данные 86 женщин (рис. 1).

Далее женщин разделили на две группы в зависимости от наличия или отсутствия у них ХЭ и провели сравнение значений концентраций про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, а также их отношений между группами (табл. 1).

По результатам сравнения мы обнаружили статистически значимо более высокие значения концентрации ИЛ-1 ($p = 0,0027$) и отношения ИЛ-1/ФНО- α ($p < 0,0001$) у женщин с ХЭ по сравнению со значением этих параметров у женщин контрольной группы.

Для того чтобы оценить, при каком значении концентрации ИЛ-1 или отношения ИЛ-1/ФНО- α у женщин наблюдается наличие ХЭ, мы провели ROC-анализ, по результатам которого определили пороговые значения для анализируемых параметров (рис. 2).

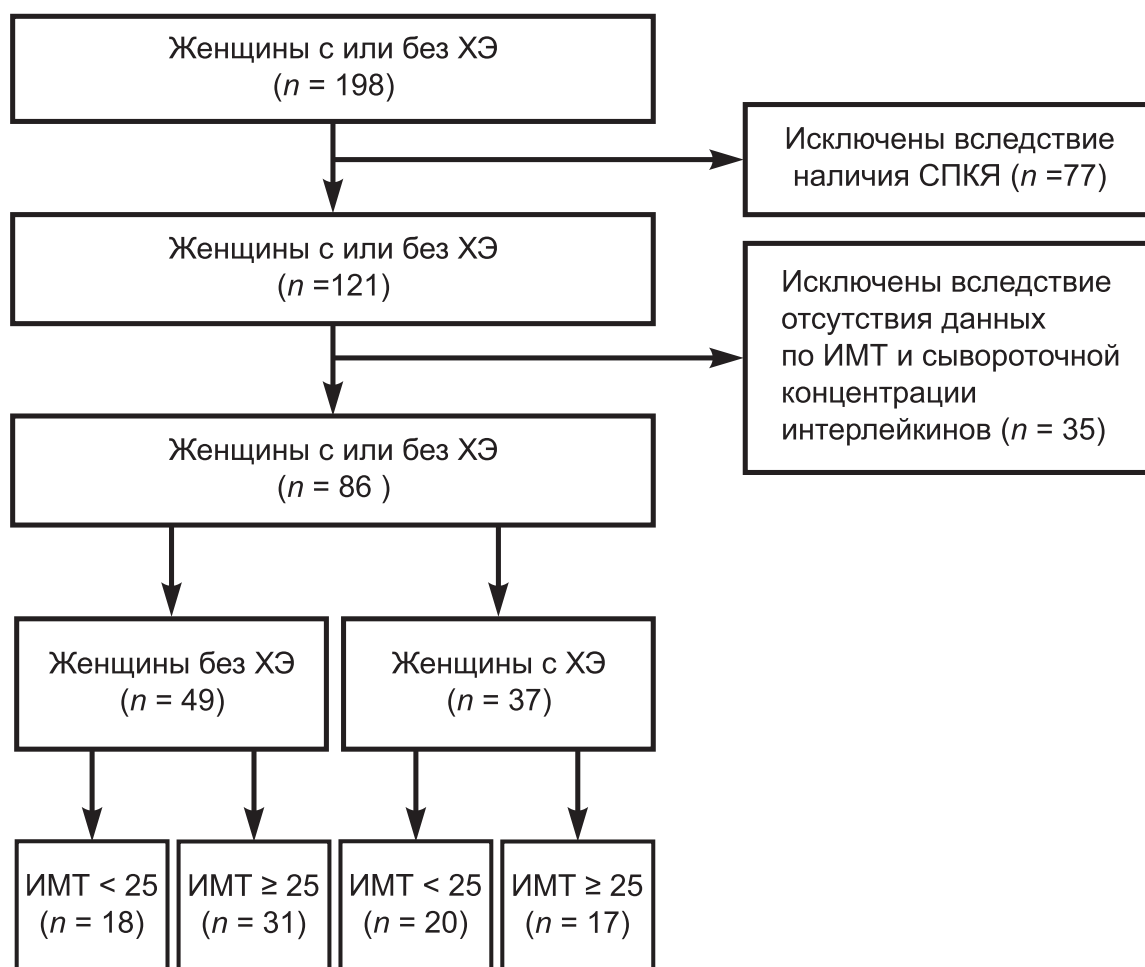


РИС. 1.

Дизайн исследования: СПКЯ – синдром поликистозных яичников

FIG. 1.

Study design: СПКЯ – polycystic ovarian syndrome

ТАБЛИЦА 1

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И КОНЦЕНТРАЦИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ИЛИ БЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА

TABLE 1

MAIN CHARACTERISTICS AND CONCENTRATION OF INTERLEUKINS IN PREMENOPAUSAL WOMEN WITH OR WITHOUT CHRONIC ENDOMETRITIS

Параметры	Контроль (n = 49)	ХЭ (n = 37)	p
Возраст, лет	38 (34; 41)	39 (36; 43)	0,330
ИМТ, кг/м ²	25,92 (22,51; 30,14)	23,84 (21,05; 28,38)	0,105
<i>Провоспалительные цитокины</i>			
ИЛ-1, пг/мл	0,95 (0,70; 1,85)	1,7 (1,10; 2,25)	0,0027
ИЛ-6, пг/мл	1,4 (0,75; 2,25)	0,9 (0,50; 2,10)	0,1640
ИЛ-8, пг/мл	14 (6,75; 33,00)	13 (7,30; 28,30)	0,7762
ФНО-α, пг/мл	1,7 (1,30; 2,20)	1,3 (0,85; 1,85)	0,0976
ИНФ, пг/мл	0,6 (0,30; 1,05)	0,9 (0,35; 1,40)	0,1271
<i>Противовоспалительные цитокины</i>			
ИЛ-10, пг/мл	1,5 (0,27; 2,25)	1,6 (0,70; 3,40)	0,3135
<i>Отношения про- и противовоспалительных цитокинов</i>			
ИНФ/ИЛ-10	0,44 (0,145; 0,790)	0,43 (0,205; 0,89)	0,6712
ИЛ-6/ИЛ-10	1 (0,52; 1,55)	0,46 (0,255; 1,435)	0,0862
ИЛ-1/ИЛ-10	0,68 (0,275; 1,465)	0,88 (0,54; 1,89)	0,1496
ИЛ-8/ИЛ-10	9,6 (5,75; 35,31)	7,5 (2,58; 22,00)	0,1608
ИЛ-6/ФНО-α	0,73 (0,510; 1,820)	0,64 (0,395; 1,450)	0,5163
ИЛ-10/ФНО-α	0,94 (0,310; 1,680)	1 (0,470; 2,630)	0,1788
ИЛ-1/ФНО-α	0,77 (0,43; 1,1)	1,19 (0,890; 2,295)	< 0,0001

Примечание. Данные представлены в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей; p – уровень статистической значимости при сравнении значений параметров между группами с использованием критерия Манна – Уитни.

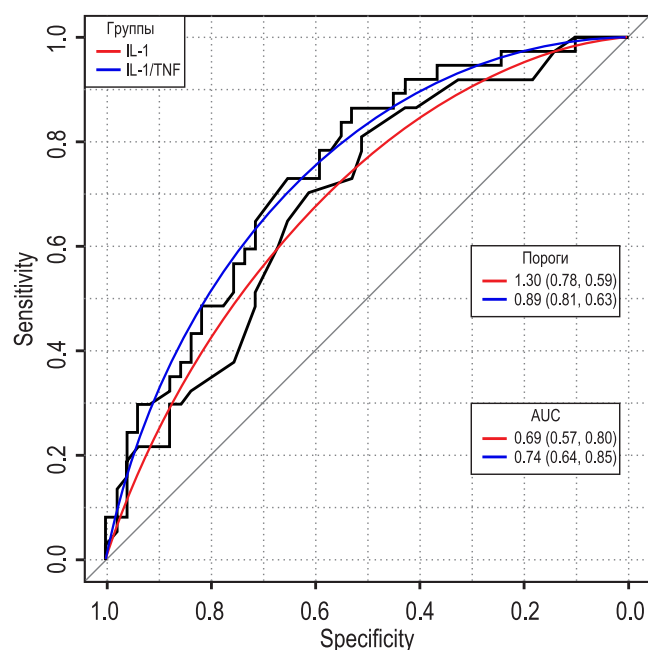


РИС. 2.

ROC-кривая концентрации ИЛ-1 или отношения ИЛ-1/ФНО-α у женщин репродуктивного возраста с или без хронического эндометрита на фоне нормальной или избыточной массы тела: ИЛ-1 – ROC-кривая концентрации ИЛ-1 у пациенток с или без хронического эндометрита; ИЛ-1/TNF – ROC-кривая отношения ИЛ-1/ФНО-α у пациенток с или без хронического эндометрита; Sensitivity – чувствительность; Specificity – специфичность; точка отсечения концентрации ИЛ-1 – 1,3 (95% ДИ: 0,76; 2,15); точка отсечения отношения ИЛ-1/ФНО-α – 0,89 (95% ДИ: 0,69; 1,37)

FIG. 2.

ROC curve of IL-1 concentration or IL-1/TNF-a ratio in premenopausal women with or without chronic endometritis against the background of normal weight or overweight: IL-1 – ROC curve of IL-1 concentration in patients with or without chronic endometritis; IL-1/TNF – ROC curve of IL-1/TNF-a ratio in patients with or without chronic endometritis; the cut-off point for IL-1 concentration is 1.3 (95% CI: 0.76; 2.15); the cut-off point for IL-1/TNF-a ratio is 0.89 (95% CI: 0.69; 1.37)

Так, у женщин с ХЭ значения концентрации ИЛ-1 составили $\geq 1,3$ пг/мл (чувствительность 78 %, специфичность 59 %; 95% ДИ: 0,76; 2,15 пг/мл), а значение отношения ИЛ-1/ФНО- α составило $\geq 0,89$ (чувствительность 81 %, специфичность 63 %; 95% ДИ: 0,69; 1,37). Также мы рассчитали ОШ для установленных пороговых значений, которое для ИЛ-1 составило 3,732 (95% ДИ: 1,503; 9,267), для отношения ИЛ-1/ФНО- α – 6,243 (95% ДИ: 2,356; 16,546).

Низкая специфичность полученных пороговых точек могла быть обусловлена тем, что в группы входили как женщины с нормальной массой тела, так и женщины с избыточной массой тела и ожирением, у ко-

торых на фоне повышенных значений ИМТ могло наблюдаться хроническое воспаление. При этом стоит отметить, что нами не выявлена статистическая значимость различий значения ИМТ в исследованных группах: 25,92 (22,51; 30,14) кг/м² у здоровых женщин против 23,84 (21,05; 28,38) кг/м² у пациенток с ХЭ ($p = 0,105$). Поэтому далее мы сравнили значения концентрации интерлейкинов и их отношений между женщинами с или без ХЭ в зависимости от ИМТ. Также у женщин изученных групп мы оценили концентрацию СРБ в крови в качестве маркера хронического системного воспаления при избыточной массе тела и ожирении (табл. 2) [15].

ТАБЛИЦА 2

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И КОНЦЕНТРАЦИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С ИЛИ БЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО ЭНДОМЕТРИТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МАССЫ ТЕЛА

TABLE 2

MAIN CHARACTERISTICS AND CONCENTRATION OF INTERLEUKINS IN PREMENOPAUSAL WOMEN WITH OR WITHOUT CHRONIC ENDOMETRITIS DEPENDING ON BODY MASS INDEX

Параметры	Контроль (n = 49)		ХЭ (n = 37)		p ^a
	ИМТ < 25 кг/м ² (n = 18)	ИМТ ≥ 25 кг/м ² (n = 31)	ИМТ < 25 кг/м ² (n = 20)	ИМТ ≥ 25 кг/м ² (n = 17)	
	1	2	3	4	
Возраст	38 (33,5; 41)	38 (34; 41)	39 (36; 43)	39 (36; 42,75)	p _{все} = 0,4031
ИМТ, кг/м ²	21,48 (20,13; 23,29)	28,42 (26,27; 31,78)	21,18 (20,06; 23,28)	28,79 (27,12; 29,77)	p _{все} < 0,001 p ₁₋₃ = 0,704 ^b p ₁₋₄ < 0,001 ^b p ₂₋₄ = 0,1069 ^b
p ^b	< 0,001		< 0,001		
Провоспалительные цитокины					
ИЛ-1, пг/мл	0,8 (0,5; 1,25)	1,2 (0,72; 1,9)	1,65 (1,013; 2,975)	1,8 (1,1; 2,15)	p _{все} = 0,0103 p ₁₋₃ = 0,0059 ^b p ₁₋₄ = 0,0024 ^b p ₂₋₄ = 0,1069 ^b
p ^b	0,1187		0,982		
ИЛ-6, пг/мл	0,955 (0,575; 1,825)	1,5 (1,04; 2,4)	0,9 (0,425; 2,5)	0,9 (0,55; 2,1)	0,2159
ИЛ-8, пг/мл	18,5 (6,775; 45,4)	12 (5,4; 33)	12 (7,05; 30)	14 (7,65; 28,3)	0,7762
ФНО-α, пг/мл	1,8 (1,325; 2,4)	1,7 (1,3; 2)	1,3 (0,8; 1,775)	1,4 (1; 2)	0,342
ИНФ, пг/мл	0,75 (0,25; 1,35)	0,6 (0,3; 0,9)	0,85 (0,325; 1,575)	0,9 (0,4; 1,3)	0,4036
СРБ, МЕ/л	1,3 (0,55; 2,20)	2,3 (1,15; 6,35)	0,7 (0,40; 1,90)	2,8 (1,00; 3,05)	p _{все} = 0,0018 p ₁₋₃ = 0,2803 ^b p ₁₋₄ = 0,1036 ^b p ₂₋₄ = 0,5538 ^b
p ^b	0,0130		0,0142		
Противовоспалительные цитокины					
ИЛ-10, пг/мл	1,55 (0,55; 2,3)	1,5 (0,09; 2,3)	2 (0,75; 3,4)	1,3 (0,6; 3,1)	0,6008
Отношения про- и противовоспалительных цитокинов					
ИНФ/ИЛ-10	0,465 (0,215; 0,805)	0,375 (0,095; 0,553)	0,385 (0,178; 0,618)	0,430 (0,270; 1,620)	0,3679
ИЛ-6/ИЛ-10	0,870 (0,658; 1,485)	0,895 (0,588; 1,615)	0,595 (0,248; 1,160)	0,440 (0,260; 2,000)	0,2020
ИЛ-1/ИЛ-10	0,705 (0,338; 1,833)	0,655 (0,230; 1,225)	0,610 (0,420; 2,833)	1,130 (0,690; 1,600)	0,4176
ИЛ-8/ИЛ-10	18,66 (7,95; 36,82)	8,03 (5,28; 28,06)	7,37 (2,64; 24,84)	7,50 (2,39; 20,00)	0,2687
ИЛ-6/ФНО-α	0,725 (0,545; 1,678)	0,880 (0,580; 2,190)	0,655 (0,425; 1,495)	0,640 (0,385; 1,305)	0,6363
ИЛ-10/ФНО-α	1,000 (0,410; 1,343)	0,940 (0,050; 1,880)	1,775 (0,405; 3,093)	0,890 (0,540; 2,425)	0,4826
ИЛ-1/ФНО-α	0,675 (0,315; 0,9475)	0,79 (0,44; 1,19)	1,260 (1,015; 2,683)	1,140 (0,815; 2,015)	p _{все} = 0,0022 p ₁₋₃ = 0,0011 ^b p ₁₋₄ = 0,0157 ^b p ₂₋₄ = 0,2661 ^b
p	0,7619		0,2661		

Примечание. Данные представлены в виде медиан и верхних и нижних квартилей; а – уровень статистической значимости при сравнении значений параметров между группами с использованием критерия Краскела – Уоллиса; б – уровень статистической значимости при попарном сравнении значений параметров между группами с использованием критерия Манна – Уитни.

Мы обнаружили статистически значимо более высокие концентрацию ИЛ-1 и значение отношения ИЛ-1/ФНО- α у женщин с ХЭ вне зависимости от ИМТ по сравнению с результатами у женщин без ХЭ с нормальной массой тела. При этом мы не выявили существенных различий значений данных показателей у женщин без ХЭ и с ХЭ на фоне избыточной массы тела и ожирения. Это можно объяснить предположительным наличием у женщин с избыточной массой тела и ожирением хронического системного воспаления [15], что подтверждается статистически значимо повышенным уровнем СРБ у таких женщин вне зависимости от наличия ХЭ. Кроме того, у женщин с избыточной массой тела и ожирением нами установлена статистически значимая положительная корреляция СРБ с ИМТ ($r = 0,495; p < 0,001$), которая отсутствовала у женщин с нормальной массой тела ($r = 0,050; p = 0,763$).

Далее мы провели ROC-анализ для установления пороговых значений риска наличия ХЭ для ИЛ-1 или отношения ИЛ-1/ФНО- α у женщин с нормальной массой тела (рис. 3).

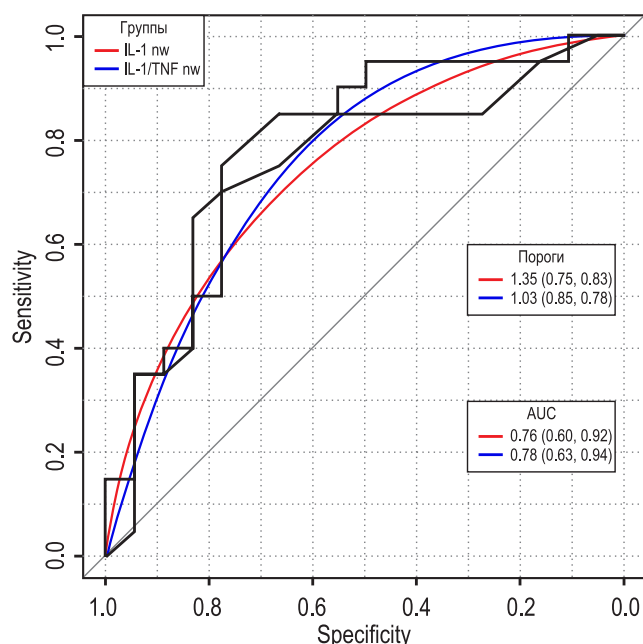


РИС. 3.

ROC-кривая концентрации ИЛ-1 или отношения ИЛ-1/ФНО- α у женщин репродуктивного возраста с или без хронического эндометрита на фоне нормальной массы тела: IL1 nw – ROC-кривая концентрации ИЛ-1 у пациенток с нормальной массой тела; IL1/TNF nw – ROC-кривая отношения ИЛ-1/ФНО- α у пациенток с нормальной массой тела; Sensitivity – чувствительность; Specificity – специфичность; точка отсечения концентрации ИЛ-1 – 1,35 (95% ДИ: 0,88; 2,15); точка отсечения отношения ИЛ-1/ФНО- α – 1,03 (95% ДИ: 0,81; 1,27)

FIG. 3.

ROC curve of IL-1 concentration or IL-1/TNF- α ratio in premenopausal women with or without chronic endometritis against the background of normal weight: IL1 nw – ROC curve of IL-1 concentration in patients with normal weight; IL1/TNF nw – ROC curve of IL-1/TNF- α ratio in patients with normal weight; the cut-off point for IL-1 concentration is 1.35 (95% CI: 0.88; 2.15); the cut-off point for IL-1/TNF- α ratio is 1.03 (95% CI: 0.81; 1.27)

Нами обнаружено, что у женщин с ХЭ на фоне нормальной массы тела концентрация ИЛ-1 составляет $\geq 1,35$ пг/мл (чувствительность 75 %, специфичность 83 %; 95% ДИ: 0,88; 2,15), а значение отношения ИЛ-1/ФНО- α составило $\geq 1,03$ (чувствительность 85 %, специфичность 78 %; 95% ДИ: 0,81; 1,27). ОШ для установленных пороговых значений составило: для ИЛ-1 – 8,167 (95% ДИ: 1,885; 35,381), для отношения ИЛ-1/ФНО- α – 15 (95% ДИ: 3,027; 74,32).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании мы изучили уровни про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови женщин с или без ХЭ, в том числе в зависимости от ИМТ. По результатам исследования мы установили, что у женщин с ХЭ вне зависимости от ИМТ наблюдаются статистически значимо более высокие значения сывороточной концентрации ИЛ-1, а также отношения ИЛ-1/ФНО- α . Также с помощью ROC-анализа нами определены пороговые значения для данных параметров в отношении наличия ХЭ. Однако чувствительность определённых пороговых значений концентрации ИЛ-1 и ИЛ-1/ФНО- α оказалась относительно невысокой, в связи с чем мы решили проанализировать уровни про- и противовоспалительных цитокинов у женщин с или без ХЭ в зависимости от ИМТ, так как наличие избыточной массы тела и ожирения может провоцировать хроническое системное воспаление и оказывать влияние на уровень сывороточных цитокинов [12], что клинически может проявляться повышением уровня СРБ [15]. Согласно проведённому анализу, мы также обнаружили статистически значимую ассоциацию более высоких значений ИЛ-1 и ИЛ-1/ФНО- α с наличием ХЭ только у женщин с нормальной массой тела, но не у женщин с избыточной массой тела и ожирением. При этом у женщин с избыточной массой тела вне зависимости от наличия или отсутствия ХЭ мы выявили существенно более высокий уровень СРБ, чем у женщин с нормальной массой тела, что косвенно подтверждает вклад повышенного ИМТ в развитие системного воспаления. Последующий ROC-анализ с установлением пороговых значений показал более выраженные чувствительность и специфичность для определённых точек по сравнению со значениями, установленными для женщин, без учёта ИМТ. Таким образом, мы выявили, что для женщин репродуктивного возраста с нормальной массой тела ХЭ сопровождается повышением концентрации ИЛ-1 $\geq 1,35$ пг/мл и значения отношения ИЛ-1/ФНО- α $\geq 1,03$.

Провоспалительные цитокины в слизистой оболочке матки вырабатываются нейтрофилами, макрофагами, а также эпителиальными клетками в ответ на действие регуляторных факторов в физиологических условиях и антигенов бактерий и вирусов в случае развития патологического процесса. Так, нейтрофилы, находящиеся в слизистой оболочке матки, под воздействием липополисахаридов (ЛПС) бактерий могут продуцировать ИЛ- γ , а также ИЛ-12 и ФНО- α . ИЛ- γ в свою очередь активирует макрофаги [16], которые располага-

ются в субэпителиальной строме эндометрия и первыми распознают чужеродные антигены [17]. ЛПС могут также напрямую стимулировать макрофаги на продукцию провоспалительного ИЛ-1 β , который обуславливает секрецию эндометриальными эпителиальными клетками человеческого β -дефензина-2 для противостояния бактериальной инвазии [18]. Развитию воспаления в эндометрии также могут способствовать Т-хелперы 1 (Th1, T helpers 1), которые продуцируют ФНО- α [19]. Кроме того, на эпителиальных клетках, моноцитах и дендритных клетках эндометрия экспрессируются белки, которые обеспечивают прямое стимулирование продукции провоспалительных цитокинов (ФНО- α и ИЛ-1 β) [20]. Таким образом, при развитии ХЭ под действием ЛПС бактерий и других провоспалительных факторов в полости матки значительно повышается экспрессия цитокинов, ответственных за воспалительную реакцию.

Провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-15, ФНО- α) наряду со множеством гормонов (эстроген, прогестерон) и факторов децидуализации и деградации внеклеточного матрикса эндометрия (интегрин β 3, IGFBP1 и металлопротеиназы) являются факторами регуляции рецептивности эндометрия, которая определяет успешность имплантации эмбриона. У пациенток с ХЭ отмечают изменения экспрессии и функционирования данных факторов, что может обуславливать развитие бесплодия и привычного невынашивания на фоне данного заболевания [3].

Так W.J. Wang и соавт. (2019) показали, что в эндометрии у женщин репродуктивного возраста с ХЭ повышена экспрессия провоспалительного ИЛ-17 и снижена экспрессия противовоспалительного ИЛ-10 [2]. В наших предыдущих исследованиях мы обнаружили повышение секреции ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, а также ИНФ- γ и ФНО- α в эндометрии женщин с ХЭ по сравнению с результатами у здоровых женщин [21, 22]. С. Tortorella и соавт. (2014) также установили повышенную концентрацию провоспалительных ИЛ-1 β , ИЛ-6, а также ФНО- α в менструальной крови у женщин с хроническим эндометритом. При этом в отношении скрининга ХЭ выявили более высокую чувствительность для таких показателей, как отношение ИЛ-6/ФНО- α и ИЛ-6/ИЛ-1 β [23].

На настоящий момент наиболее эффективным и воспроизводимым методом диагностики ХЭ является выявление CD138⁺ клеток в строме эндометрия при проведении пайпель-биопсии [5]. Несмотря на высокую чувствительность и специфичность данного метода диагностики, он имеет ряд ограничений. В частности, пайпель-биопсия является малой гинекологической операцией, и её назначение требует наличия показаний. При этом известно, что ХЭ зачастую может протекать бессимптомно. Такие затруднения обуславливают необходимость поиска новых менее инвазивных методов диагностики ХЭ [4, 6, 7].

Так, некоторые исследователи предпринимали попытки выявить ассоциацию между уровнем цитокинов в сыворотке крови и наличием ХЭ. По результатам исследования Л.В. Ткаченко и соавт. (2020) в аспиратах полости матки, а также в сыворотке крови женщин с ХЭ обнаружили повышение концентрации провоспалитель-

ных цитокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α и ИНФ- γ [10]. И.П. Кольцов и соавт. (2011) зарегистрировали повышенную секрецию ИЛ-8 моноцитами крови у женщин с хроническим эндометритом [24]. Ю.А. Сорокин и соавт. (2022) в исследовании эффективности лечения ХЭ введением в полость матки кавитированного 0,9%-го раствора хлорида натрия выявили статистически значимо более высокие сывороточные значения ИЛ-1 β (7,65 [6,3–8,98] против 1,22 [0,99–1,45]; $p < 0,05$) и ФНО- α (2,75 [1,42–4,08] против 1,48 [1,29–1,67]; $p < 0,05$) у пациенток репродуктивного возраста с ХЭ по сравнению со значениями аналогичных параметров у женщин без ХЭ [25]. Эти результаты частично соотносятся с данными нашего исследования о том, что у женщин с ХЭ концентрация ИЛ-1 в сыворотке крови $\geq 1,3$ –1,35 мг/мл.

Сывороточный уровень цитокинов может изменяться под действием не только локального, но и системного воспаления. Одной из распространённых причин развития хронического системного воспаления является ожирение. Так, у людей с ожирением могут наблюдаться повышенные уровни провоспалительных цитокинов в сыворотке крови [12], а также СРБ [15]. Исходя из данного факта мы провели анализ уровней провоспалительных цитокинов у женщин репродуктивного возраста с или без ХЭ в зависимости от индекса массы тела. В результате мы выявили, что повышение сывороточного уровня провоспалительного цитокина ИЛ-1 и отношения ИЛ-1/ФНО- α статистически значимо только в группе женщин с ХЭ на фоне нормальной массой тела. При этом существенное повышение уровня СРБ наблюдалось только у женщин с избыточной массой тела и ожирением вне зависимости от наличия ХЭ. Это косвенно может подтверждать вклад избыточной массы тела в развитие хронического системного воспаления, выражающийся в относительном повышении уровня СРБ.

Преимуществом настоящего исследования является то, что уровень интерлейкинов у женщин с ХЭ оценивали в том числе с учётом ИМТ и уровня СРБ, так как наличие избыточной массы тела и ожирения может провоцировать хроническое системное воспаление [12, 15]. Также одним из критериев исключения служило наличие синдрома поликистозных яичников у пациенток, так как данное заболевание также ассоциировано с системным воспалением и может оказывать влияние на сывороточные уровни цитокинов [13]. К недостаткам настоящего исследования относится небольшой размер выборки пациенток, что не позволяет экстраполировать результаты исследований на общую популяцию. Также отсутствие данных об уровнях провоспалительных цитокинов непосредственно в тканях эндометрия с определением их корреляции с концентрацией цитокинов в сыворотке крови не позволяет в полной мере утверждать, что установленные закономерности в виде повышенных уровней ИЛ-1 и отношения ИЛ-1/ФНО- α напрямую связаны с наличием у пациенток ХЭ. Кроме того, мы не проводили оценку наличия у пациенток других хронических заболеваний, которые могут сопровождаться развитием хронического системного или локального воспаления, что могло оказать влия-

ние на результаты анализа уровня интерлейкинов и СРБ у обследованных пациенток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый ре-анализ данных кросс-секционного исследования женщин репродуктивного возраста с или без ХЭ выявил существенно более высокую сывороточную концентрацию ИЛ-1 и более высокие значения отношения ИЛ-1/ФНО-α у пациенток с ХЭ на фоне нормальной массы тела по сравнению с результатами у здоровых пациенток с нормальной массой тела с установлением пороговых значений данных параметров. При этом мы не обнаружили существенных изменений уровня сывороточных цитокинов у пациенток с или без ХЭ на фоне избыточной массы тела и ожирения, что можно объяснить наличием у них системного воспаления, которое также влияет на уровень про- и противовоспалительных цитокинов. Отсутствие значительного изменения концентраций ИЛ у пациенток данной группы, возможно, связано с дисрегуляцией иммунного ответа на фоне избыточной массы тела и ожирения, ассоциированных с повышенным уровнем СРБ.

Таким образом, необходимо проведение дополнительных исследований с большим объёмом выборки, а также с оценкой уровня цитокинов не только в сыровотке крови, но и в эндометрии женщин с или без ХЭ для подтверждения полученных результатов и выявления прямой взаимосвязи между исследуемыми параметрами в сыровотке крови и эндометрии. Это позволит разработать новый метод малоинвазивной диагностики или определения степени риска наличия ХЭ у женщин репродуктивного возраста.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Данусевич И.Н. Частота встречаемости хронического эндометрита у женщин с различными вариантами репродуктивных нарушений. *Acta biomedica scientifica*. 2013; 4(92): 14-16. [Danusevich IN. The frequency of occurrence of chronic endometritis in women with different variants of reproductive disorders. *Acta biomedica scientifica*. 2013; 4(92): 14-16. (In Russ.)].
2. Wang WJ, Zhang H, Chen ZQ, Zhang W, Liu XM, Fang JY, et al. Endometrial TGF-β, IL-10, IL-17 and autophagy are dysregulated in women with recurrent implantation failure with chronic endometritis. *Reprod Biol Endocrinol*. 2019; 17(1): 1-9. doi: 10.1186/s12958-018-0444-9
3. Wu D, Kimura F, Zheng L, Ishida M, Niwa Y, Hirata K, et al. Chronic endometritis modifies decidualization in human endometrial stromal cells. *Reprod Biol Endocrinol*. 2017; 15(1): 1-10. doi: 10.1186/s12958-017-0233-x
4. Kitaya K, Yasuo T. Immunohistochemical and clinicopathological characterization of chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol*. 2011; 66(5): 410-415. doi: 10.1111/j.1600-0897.2011.01051.x
5. Асатунова А.В., Бадлаева А.С., Трегубова А.В., Табеева Г.И. Воспроизводимость диагностики хронического эндометрита до и после применения иммуногистохимического исследования плазматических клеток в эндометрии. *Новости клинической цитологии России*. 2023; 27(1): 5-10. [Asaturova AV, Badlaeva AS, Tregubova AV, Tabeeva GI. Reproducibility of diagnosis of chronic endometritis before and after the use of immunohistochemical examination of plasma cells in the endometrium. *Russian News of Clinical Cytology*. 2023; 27(1): 5-10. (In Russ.)]. doi: 10.24412/1562-4943-2023-1-0001
6. Yasuo T, Kitaya K. Challenges in clinical diagnosis and management of chronic endometritis. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12(11): 2711. doi: 10.3390/diagnostics12112711
7. *Воспалительные болезни женских тазовых органов. Клинические рекомендации*. М.; 2021. [Inflammatory diseases of the female pelvic organs. *Clinical recommendations*. Moscow; 2021. (In Russ.)]. URL: <https://www.infomed39.ru/upload/iblock/007/t7cdo4j9ro5jyc55f0524xi4d2i730iw/Vospalitelnye-bolezni-zhen-skikh-tazovykh-organov.pdf> [дата доступа: 03.05.2021].
8. Шарифулин Э.М., Игумнов И.А., Круско О.В., Аталян А.В., Сутурина Л.В., Особенности хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 27-36. [Sharifulin EM, Igumnov IA, Krusko OV, Atalyan AV, Suturina LV. Features of chronic endometritis in women of reproductive age with polycystic ovary syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 27-36. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.3
9. Иевлева К.Д., Данусевич И.Н., Аталян А.В., Шарифулин Э.М., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., и др. Уровень адипокинов и их ассоциация с хроническим эндометритом у женщин репродуктивного возраста. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2023; 22(5): 60-68. [Ievleva KD, Danusevich IN, Atalyan AV, Sharifulin EM, Lazareva LM, Nadelyaeva IG, et al. Adipokine levels and their association with chronic endometritis in reproductive-aged women. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology*. 2023; 22(5): 60-68. (In Russ.)]. doi: 10.20953/1726-1678-2023-5-60-68
10. Ткаченко Л.В., Свиридова Н.И., Жаркин Н.А., Бурова Н.А., Белан Э.Б. Оценка цитокинового статуса у пациенток с хроническим эндометритом в сочетании с гиперпластическими процессами эндометрия в репродуктивном периоде. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(4): 762-768. [Tkachenko LV, Sviridova NI, Zharkin NA, Burova NA, Belan EB. Assessing cytokine status of patients with chronic endometritis combined with endometrial hyperplastic processes in reproductive period. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2020; 10(4): 762-768. (In Russ.)]. doi: 10.15789/2220-7619-AOC-1357
11. Мотовилова Т.М., Качалина Т.С., Гречканев Г.О., Боровкова Л.В., Зиновьев А.Н., Николаева О.А., и др. Определение биомаркеров в менструальной крови как возможность неинвазивной диагностики воспалительного процесса в полости матки. *Медицинский альманах*. 2016; 45(5): 88-91. [Motvilova TM, Kachalina TS, Grechkanov GO, Borovkova LV, Zinov'ev AN, Nikolaeva OA, et al. Determining of biomarkers in menstrual blood as possibility of non-invasive diagnostics of inflammatory process in uterine cavity. *Medical Almanac*. 2016; 45(5): 88-91. (In Russ.)].

12. Bays HE, Bindlish S, Clayton TL. Obesity, diabetes mellitus, and cardiometabolic risk: An Obesity Medicine Association (OMA) Clinical Practice Statement (CPS). *Obesity Pillars*. 2023; 2023: 100056. doi: 10.1016/j.obpill.2023.100056
13. Daan NMP, Koster MPH, de Wilde MA, Dalmeijer GW, Evelein AMV, Fauser BCJM, et al. Biomarker profiles in women with PCOS and PCOS offspring; a pilot study. *PLoS One*. 2016; 11(11): e0165033. doi: 10.1371/journal.pone.0165033
14. Шарифулин Э.М., Лазарева Л.М., Каня О.В., Стефаненкова А.А., Белых Д.В., Сутурина Л.В. Состояние эндометрия при синдроме поликистозных яичников в репродуктивном возрасте. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(3): 136-142. [Sharifulin EM, Lazareva LM, Kanya OV, Stefanenkova AA, Belykh DV, Suturina LV. Endometrial morphology in women of reproductive age with PCOS. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(3): 136-142. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.21
15. Calabro P, Chang DW, Willerson JT, Yeh ETH. Release of C-reactive protein in response to inflammatory cytokines by human adipocytes: Linking obesity to vascular inflammation. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 46(6): 1112-1113. doi: 10.1016/j.jacc.2005.06.017
16. Yeaman GR, Collins JE, Currie JK, Guyre PM, Wira CR, Fanger MW. IFN gamma is produced by polymorphonuclear neutrophils in human uterine endometrium and by cultured peripheral blood polymorphonuclear neutrophils. *J Immunol*. 1998; 160: 5145-5153.
17. Soares MJ, Chakraborty D, Kubota K, Renaud SJ, Rumi MA. Adaptive mechanisms controlling uterine spiral artery remodeling during the establishment of pregnancy. *Int J Dev Biol*. 2014; 58: 247-259. doi: 10.1387/ijdb.140083ms
18. Pioli PA, Weaver LK, Schaefer TM, Wright JA, Wira CR, Guyre PM. Lipopolysaccharide-induced IL-1 beta production by human uterine macrophages up-regulates uterine epithelial cell expression of human beta-defensin 2. *J Immunol*. 2006; 176: 6647-6655. doi: 10.4049/jimmunol.176.11.6647
19. D'Ippolito S, Di Nicuolo F, Pontecorvi A, Gratta M, Scambia G, Di Simone N. Endometrial microbes and microbiome: Recent insights on the inflammatory and immune "players" of the human endometrium. *Am J Reprod Immunol*. 2018; 80: e13065. doi: 10.1111/aji.13065
20. Zhu N, Yang X, Liu Q, Chen Y, Wang X, Li H, et al. "Iron triangle" of regulating the uterine microecology: Endometrial microbiota, immunity and endometrium. *Front Immunol*. 2022; 13: 928475. doi: 10.3389/fimmu.2022.928475
21. Danusevich IN, Sharifulin EM, Nemchenko UM, Kolesnikova LI. Features of the immune system functioning with persistence of infectious agents in women with chronic endometrial inflammation and reproductive disorders. *Int J Biomed*. 2020; 10(4): 362-368. doi: 10.21103/Article10(4)_OA6
22. Danusevich IN, Lazareva LM, Nemchenko UM, Kolesnikova LI. Endometrial cytokines in women with reproductive disorders. *Int J Biomed*. 2021. 11(4): 526-531. doi: 10.21103/Article11(4)_OA20
23. Tortorella C, Piazzolla G, Matteo M, Pinto V, Tinelli R, Sabbà C, et al. Interleukin-6, interleukin-1β, and tumor necrosis factor α in menstrual effluents as biomarkers of chronic endometritis. *Fertil Steril*. 2014; 101(1): 242-247. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.09.041
24. Кольцов И.П., Храмова И.А. Взаимосвязь секреторно-синтетических процессов в моноцитах/макрофагах с уровнем секреции интерлейкина-8 моноцитами крови при эндометрите. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2011; (3): 58-60. [Koltsov IP, Khramova IA. Interrelation between secretory and synthetic processes in monocytes/macrophages and level of interleukine-8 secretion by blood monocytes in case of endometritis. *Pacific Medical Journal*. 2011; (3): 58-60. (In Russ.)].
25. Сорокин Ю.А., Гизингер О.А., Радзинский В.Е. Клинико-иммунологическое обоснование ультразвуковой кавитации в комплексном лечении бесплодия при хроническом эндометрите. *Гинекология*. 2022; 24(5): 355-361. [Sorokin YuA, Gizinger OA, Radzinsky VE. A clinical and immunological rationale for ultrasonic cavitation use in the complex treatment of infertility in chronic endometritis. *Gynecology*. 2022; 24(5): 355-361. (In Russ.)]. doi: 10.26442/20795696.2022.5.201866

Сведения об авторах

Иевлева Ксения Дмитриевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: asiya91@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0177-234X>

Данусевич Ирина Николаевна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: irinaemails@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

Аталян Алина Валерьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории социально-значимых проблем репродуктологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alinaa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>

Егорова Ирина Юрьевна – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: egorovairina1994@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6847-9810>

Бабаева Наталья Игоревна – младший научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: miracle_909@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7604-6246>

Рашидова Мария Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rashidovama@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4730-5154>

Ахмедзянова Маргарита Рашидовна – младший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: margarita.ahmedzyanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1677-3054>

Шолохов Леонид Федорович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lfshol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Наделяева Яна Геннадьевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ianadoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5747-7315>

Лазарева Людмила Михайловна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lirken_@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7662-8529>

Сутурина Лариса Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Information about the authors

Kseniia D. Ievleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: asi91@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0177-234X>

Irina N. Danusevich – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: irinaemails@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

Alina V. Atalyan – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Socially Significant Problems of Reproduction, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alinaa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>

Irina Yu. Egorova – Postgraduate at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: egorovairina1994@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6847-9810>

Natalia I. Babaeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: miracle_909@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7604-6246>

Maria A. Rashidova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rashidovama@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4730-5154>

Margarita R. Akhmedzyanova – Junior Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: margarita.axmedzyanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1677-3054>

Leonid F. Sholokhov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lfshol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Iana G. Nadeliaeva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: ianadoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5747-7315>

Lyudmila M. Lazareva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lirken_@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7662-8529>

Larisa V. Suturina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

УЛЬТРАСОНОГРАФИЧЕСКИЕ НОРМАТИВЫ СТРУКТУРЫ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА РАЗЛИЧНОЙ ЭТНИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Лазарева Л.М.,
Аталян А.В.,
Данусевич И.Н.,
Наделяева Я.Г.,
Беленькая Л.В.,
Егорова И.Ю.,
Бабаева Н.И.,
Сутурина Л.В.

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

Автор, ответственный за переписку:
Лазарева Людмила Михайловна,
e-mail: lirken_@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Поликистозная структура яичников (ПКЯ) является общепризнанным ультразвуковым маркером овуляторной дисфункции, служит одним из критериев синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) и устанавливается на основании оценки объёма яичников (ОЯ) и количества фолликулов на яичник (КФЯ) с учётом верхних нормальных значений, определяемых в здоровых популяциях женщин репродуктивного возраста. Однако отмечается необходимость регулярного пересмотра характеристик ПКЯ в зависимости от этнических и возрастных особенностей.

Цель. Разработать дифференцированные нормативы для оценки ультразвукографической структуры яичников у женщин репродуктивного возраста различной этнической принадлежности.

Материалы и методы. В период с марта 2016 по декабрь 2019 г. проведено многоцентровое поперечное (кросс-секционное) проспективное исследование на территории Восточной Сибири (Иркутская область) и в сопредельной Республике Бурятия. В исследование вошли 1134 участницы: 715 женщин европеоидной принадлежности, 312 – азиатской, 107 – смешанной этнической субпопуляции.

Результаты. Установлено, что для европеоидов ПКЯ целесообразно диагностировать при объёме яичников 9 см^3 и/или КФЯ ≥ 12 ; для женщин азиатской популяции – при объёме яичников 7 см^3 и/или КФЯ ≥ 11 ; для женщин смешанной этнической принадлежности – при объёме 8 см^3 и/или КФЯ ≥ 9 . Важным преимуществом нашего исследования является то, что все участницы были рекрутированы в неселективной мультиэтнической популяции женщин с сопоставимыми социально-демографическими характеристиками, проживающих в одинаковых географических условиях.

Выводы. Для дифференцированного подхода к выявлению поликистозной структуры яичников у женщин репродуктивного возраста различных этнических групп необходимо принимать этнически дифференцированные нормативные значения.

Ключевые слова: СПКЯ, поликистозная структура, количество фолликулов на яичник, объём яичника, УЗИ органов малого таза, женщины репродуктивного возраста, этника

Для цитирования: Лазарева Л.М., Аталян А.В., Данусевич И.Н., Наделяева Я.Г., Беленькая Л.В., Егорова И.Ю., Бабаева Н.И., Сутурина Л.В. Ультрасонографические нормативы структуры яичников у женщин репродуктивного возраста различной этнической принадлежности. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 49-68. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.5

Статья поступила: 10.04.2024

Статья принята: 24.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

ULTRASONOGRAPHIC THRESHOLD OF OVARIAN STRUCTURE IN PREMENOPAUSAL WOMEN OF DIFFERENT ETHNICITY

Lazareva L.M.,
Atalyan A.V.,
Danusevich I.N.,
Nadeliaeva I.G.,
Belenkaya L.V.,
Egorova I.Yu.,
Babaeva N.I.,
Suturina L.V.

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

Corresponding author:
Lyudmila M. Lazareva,
e-mail: lirken_@mail.ru

ABSTRACT

The polycystic ovarian morphology (PCOM) is a generally accepted ultrasound marker for ovulatory dysfunction, is one of the criteria for polycystic ovary syndrome (PCOS) and is established based on the assessment of ovarian volume (OV) and the follicle number per ovary (FNPO), taking into account the upper normal values determined in healthy premenopausal women. However, there is a necessity for regular revision of the PCOM characteristics depending on ethnic and age characteristics.

The aim. To develop differentiated standards for assessing the ultrasonographic ovary structure in premenopausal women of various ethnicity.

Materials and methods. From March 2016 to December 2019, a multicenter cross-sectional prospective study was conducted in Eastern Siberia (Irkutsk region) and in the neighboring Republic of Buryatia. The study included 1134 participants: 715 women of Caucasian origin, 312 Asian women, 107 women of mixed ethnic subpopulation.

Results. It has been established that for Caucasians, it is advisable to diagnose PCOM when the ovarian volume is 9 cm^3 and/or $\text{FNPO} \geq 12$; for women of the Asian population – when the ovarian volume is 7 cm^3 and/or $\text{FNPO} \geq 11$; for women of mixed ethnicity – when the ovarian volume is 8 cm^3 and/or $\text{FNPO} \geq 9$. An important advantage of our study is that all participants were recruited from a non-selective multi-ethnic population of women with comparable socio-demographic characteristics living in the same geographical conditions.

Conclusion. Differentiated approach for identifying the polycystic ovarian morphology in premenopausal women of different ethnic groups requires using ethnically differentiated normative readings.

Key words: PCOS, polycystic morphology, follicle number per ovary, ovarian volume, pelvic ultrasound, premenopausal women, ethnicity

Received: 10.04.2024
Accepted: 24.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Lazareva L.M., Atalyan A.V., Danusevich I.N., Nadeliaeva I.G., Belenkaya L.V., Egorova I.Yu., Babaeva N.I., Suturina L.V. Ultrasonographic threshold of ovarian structure in premenopausal women of different ethnicity. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 49-68. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.5

ВВЕДЕНИЕ

Поликистозная структура яичников (ПКЯ) является общепризнанным ультразвуковым маркером овulatoryной дисфункции и с 2003 г., после принятия Роттердамского консенсуса [1], служит одним из критериев синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) [2–4]. В настоящее время ПКЯ определяется на основании оценки объёма яичников (ОЯ) и количества фолликулов на яичник (КФЯ) с учётом верхних нормальных значений, определяемых в здоровых популяциях женщин репродуктивного возраста [2, 4]. В последнем руководстве, посвящённом диагностике СПКЯ и ведению пациентов с этим синдромом, опубликованном в 2023 г. [4], предлагается рассматривать положения, принятые в Роттердаме как базовые относительно диагностики СПКЯ [4, 5]. Однако отмечается необходимость регулярного пересмотра характеристик ПКЯ с учётом этнических и возрастных особенностей. Актуальными являются следующие обновлённые критерии для определения ПКЯ у женщин репродуктивного возраста: наиболее эффективным ультразвуковым маркером для выявления поликистозной структуры яичников (ПКЯ) у взрослых при трансвагинальном доступе следует считать число фолликулов на яичник (КФЯ), при этом КФЯ ≥ 20 хотя бы в одном яичнике должно считаться пороговым значением для ПКЯ. В качестве не менее эффективного маркера ПКЯ наряду с ОЯ ≥ 10 мл вновь предложено рассматривать количество фолликулов в срезе яичника (КФС) ≥ 10 по крайней мере в одном яичнике. При использовании старых ультразвуковых технологий и/или трансабдоминального ультразвукового исследования (УЗИ) и/или при недостаточном качестве изображения для точной оценки количества фолликулов во всём яичнике необходимыми критериями постановки ПКЯ являются следующие: ОЯ ≥ 10 мл или КФС ≥ 10 в обоих яичниках. При описании УЗИ предлагается использовать чёткие стандартизированные протоколы для оценки ПКЯ, включая как минимум: дату последней менструации (или фазы цикла); характеристику используемого датчика; качественный подсчёт общего количества фолликулов размером 2–9 мм на яичник. Обязательными являются замер яичника в трёх измерениях и расчёт объёма каждого яичника; описание других особенностей и/или патологий яичников, включая кисты яичников, жёлтые тела, доминантные фолликулы (≥ 10 мм) (которые не должны учитываться при расчёте объёма яичников). Рекомендовано полагаться на КФЯ контралатерального яичника для диагностики ПКЯ при наличии доминантного фолликула в оцениваемом яичнике. Нельзя игнорировать особенности и/или патологию матки, включая толщину и структуру эндометрия.

Этнические различия в количестве фолликулов и/или объёма яичников активно изучаются. Так, у китайок достаточными критериями для определения ПКЯ [6] являются меньшие объёмы яичников и количество фолликулов по сравнению с женщинами европейской популяции: $\geq 6,3$ см³ и ≥ 10 фолликулов соответственно. Более низкие значения по сравнению с западным населением

продемонстрировали также турецкие женщины. Пороговыми критериями ПКЯ для них является ОЯ = 6,43 см³ и КФЯ ≥ 8 [7]. В популяции корейских пациенток количество фолликулов принято считать более значимым, чем объём яичника, критерием поликистоза в связи с характерным для азиаток меньшим объёмом яичников [8].

Объём яичников и количество фолликулов меняются в течение репродуктивного периода женщины, достигая максимального значения в подростковом возрасте с постепенным уменьшением в зрелом возрасте и быстрым – в возрасте менопаузы. Например, у женщин старше 35 лет распространённость ПКЯ составляет 7,8 %, по сравнению с 21 % у женщин более молодого возраста [9]. Причём уменьшение количества фолликулов происходит быстрее, чем уменьшение объёма яичников [10]. Возрастные процессы у женщин предполагают сокращение количества растущих антральных фолликулов [10].

Актуальность выявления ПКЯ определяется тем, что даже у женщин с нормальной менструальной функцией и без клинических признаков гиперандрогении (ГА) ПКЯ ассоциирован с более высокими уровнями андрогенов и инсулина и более низкой частотой наступления беременности [11]. Однако гирсутизм, овulatoryная дисфункция и нарушения менструального цикла в равной степени присутствовали у пациенток с нормальным объёмом яичников и увеличенными яичниками.

Диагностическая значимость ПКЯ зависит от возрастных и этнических особенностей, что требует крупномасштабных эпидемиологических исследований с определением популяционных характеристик ПКЯ. Стандартизация диагностических критериев ПКЯ является залогом эффективной диагностики СПКЯ и, соответственно, профилактики осложнений и сопутствующих заболеваний, ассоциированных с СПКЯ.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать дифференцированные нормативы для оценки ультрасонографической структуры яичников у женщин репродуктивного возраста различной этнической принадлежности.

ГИПОТЕЗА

Ультрасонографические характеристики яичников различаются у женщин в зависимости от этнической и возрастной принадлежности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования и популяция. Испытуемые были набраны в ходе кросс-секционного проспективного исследования (ClinicalTrials.gov: NCT05194384), проведённого в двух крупных регионах Восточной Сибири (Иркутская область и Республика Бурятия) с марта

2016 г. по декабрь 2019 г. [12, 13]. В исследование были включены женщины репродуктивного возраста, подлежащие ежегодному медицинскому осмотру по месту работы. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964) и одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск) (протокол № 2.1 от 24.02.2016). Информированное согласие было получено от всех испытуемых. Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Прогнозирование метаболических и психоэмоциональных нарушений у женщин разных возрастных групп с гиперандрогенными нарушениями для разработки персонализированных подходов к профилактике и лечению» (регистрационный номер 123051600030-1). Исследование выполнено с использованием оборудования Центра разработки прогрессивных персонализированных медицинских технологий ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ).

Критерии включения в выборку: возраст от 18 до 44 лет включительно; подписание информированного согласия; готовность участника соблюдать все процедуры исследования в полном объёме; доступность в течение всего срока исследования. Критерии невключения: возраст моложе 18 и старше 45 лет; нежелание участвовать или трудности в понимании информированного согласия или целей и требований исследования; наличие факторов, мешающих полному выполнению участником условий исследования. В исследование были приглашены 1490 женщин репродуктивного возраста, из них 92 не были включены в исследование из-за отсутствия информированного согласия. В итоге в исследование вошли 1398 женщин репродуктивного возраста.

Гиперандрогенизм определялся как гирсутизм (Гс) больше 4 (≥ 5 баллов) согласно пороговым значениям для показателя модифицированной визуальной шкалы Ферримана – Галлвея (mFG, modified Ferriman – Gallwey), установленным нами ранее для всей популяции с помощью 2k-кластерного анализа, и/или как гиперандрогения – при концентрации общего тестостерона (Тс) в сыворотке крови $\geq 73,90$ нг/дл и/или значении индекса свободных андрогенов (ИСА) $\geq 6,90$ для европеоидов и концентрации общего Тс в сыворотке крови $\geq 41,03$ нг/дл, и/или ИСА $\geq 2,92$ для азиатов и/или уровне дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭА-С) 355 мг/дл для всей аудитории (согласно пороговым значениям, отражающим 98-й перцентиль концентраций общего Тс, ДГЭА-С и ИСА в сыворотке крови в референтной когорте). Олигоменореей считалась продолжительность менструального цикла < 21 или > 35 дней или частота менструаций менее 9 циклов в год (согласно рекомендациям Роттердамского консенсуса) [1], а при сохранном менструальном цикле – снижение уровня прогестерона в сыворотке крови на 20–24-й дни цикла ниже 3–4 нг/мл. Первичная аменорея определялась как отсутствие менструаций в течение жизни или ненаступле-

нии менархе к 15 годам или через 3 года после телархе [14]. Вторичная аменорея определялась как отсутствие ранее регулярных менструаций в течение 3 месяцев, а при ранее нерегулярных менструациях – их отсутствие в течение 6 месяцев.

Клинические методы исследования включали анкетный опрос, общий медицинский и гинекологический осмотры. При объективном осмотре проводилась оценка гирсутного числа с использованием mFG [15] в соответствии со стандартизированной технологией подсчёта баллов. При осмотре гинекологом всем женщинам проведены: оценка состояния молочных желёз; гинекологическое бимануальное исследование органов малого таза; исследование Пар-мазков.

Для определения уровня гормонов у каждой пациентки натощак, с 8 до 9 часов утра, после 15-минутного отдыха (согласно общепринятой методике) и с учётом фаз менструального цикла проводился забор крови из локтевой вены с помощью одноразовых вакуумных систем BD Vacutainer (Becton, Dickinson and Company, США).

Определение концентраций тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (Св. Т4), пролактина (ПРЛ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), 17-ОН-прогестерона (17-ОН-Пр), секс-стероид-связывающего глобулина (СССГ) и прогестерона проводилось с использованием метода конкурентного твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Алкор-Био» (Россия). Исследование общего Тс произведено с использованием жидкостного хромато-масс-спектрометра (ВЭЖХ/МС) LCMS-8060 (Shimadzu, Япония). ДГЭА-С в сыворотке крови определяли с помощью хемилюминесцентного иммуноферментного анализатора Immulite 1000 (Siemens, США).

Инструментальные методы исследования включали УЗИ органов малого таза, которое проводили трое опытных специалистов, обученных единообразному проведению УЗИ с коэффициентами вариации результатов исследований менее 6 %, используя только аппарат Mindray M7 (Mindray Bio-Medical Electronics Co., Китай) с трансвагинальным датчиком (5,0–8,0 МГц) для сексуально активных субъектов. Объём яичников рассчитывался по формуле для сжатого эллипсоида: длина \times ширина \times высота $\times \pi/6$ [4, 5, 16]. Количество фолликулов определяли путём сканирования каждого яичника от внутреннего до внешнего края в продольном сечении (количество фолликулов на яичник). Фолликулы измеряли в двух плоскостях яичника, а диаметр фолликулов определяли как среднее значение двух диаметров (продольного и поперечного).

Расчёты размера выборки проводились по формуле:

$$n = [(z_{1-\alpha})^2(P(1-P) / D^2)],$$

где: n – размер выборки для исследования; $z_{1-\alpha} = 1,96$ (при $\alpha = 0,05$); P – предполагаемая распространённость СПКЯ согласно ранее опубликованным данным; D – абсолютная ошибка.

В итоге размер выборки, который позволил бы нам выявить значительный диагностический потенциал значений объёма яичников и количества фолликулов на яичник с помощью ROC-кривых, составил не менее 198 женщин на всю выборку.

Ввод данных исследования и управление ими (создание отчётов, экспорт данных для статистического анализа) осуществлялись при помощи информационной системы REDCap, которая развёрнута на сервере ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Методы статистического анализа включали описательную статистику, тестирование статистических гипотез, анализ связей между переменными, построение статистических моделей. Интервальная оценка долей и частот проводится путём подсчёта 95%-х доверительных интервалов (95% ДИ). Для проверки статистических гипотез использовали параметрический t-критерий Стьюдента, непараметрический критерий Манна – Уитни, параметрический однофакторный анализ вариаций (ANOVA, ANalysis Of VAriance) или непараметрический ранговый анализ вариаций по Краскелу – Уоллису и медианный тест, z-критерий, критерий χ^2 . Уровень значимости определён значением 0,05. Для определения верхней границы нормы (ВГН) для ультразвукографических параметров использовался ROC-анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди общей популяции женщин репродуктивного возраста, включённых в исследование и прошедших полное обследование, удовлетворительную визуализацию яичников по результатам ультразвукографии имели 1134 участницы, среди которых нами были сформированы следующие группы: женщины с регулярным циклом и без признаков гиперандрогенизма – группа 0 (группа контроля) ($n = 642$); группа женщин с СПКЯ по критериям NIH (National Institutes of Health) – участницы определены по совокупности наличия олигоменореи/олигоановуляции (ОА) [4, 5] и гиперандрогении (гирсутизм и/или гиперандрогения) [4, 5, 17] – группа 11 ($n = 82$); группа с наличием одного любого критерия СПКЯ по NIH (гиперандрогения или гирсутизм или олигоановуляция) – группа 11 ($n = 410$) (рис. 1).

Количество женщин в подгруппах в зависимости от этнической принадлежности представлено на диаграмме (рис. 1).

Основные социодемографические, антропометрические характеристики, менструальный и репродуктивный анамнез женщин репродуктивного возраста по группам представлены в таблицах 1 и 2.

Женщины с СПКЯ по критериям NIH и участницы исследования, имеющие любой один признак СПКЯ, были моложе по сравнению с представительницами группы контроля ($p < 0,001$ и $p = 0,013$ соответственно). Этнический состав анализируемых групп был сопоставим.

Женщины с СПКЯ имели больший вес и окружность талии (ОТ) по сравнению с женщинами группы

контроля и участницами, имеющими один любой признак СПКЯ ($p < 0,001$ и $p = 0,018$; $p = 0,003$ и $p = 0,020$ соответственно). Нами отмечена тенденция к более высоким цифрам артериального давления в группе женщин с двумя признаками СПКЯ по сравнению с группой контроля ($p = 0,007$). Как и ожидалось, у участниц с СПКЯ были выше частота встречаемости овуляторной дисфункции, гиперандрогении и гирсутизма по сравнению с группой с одним критерием ($p < 0,001$ для всех частот). Показатель mFG статистически значимо отличался в обеих группах по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$ для всех групп), а также между женщинами с одним и двумя критериями СПКЯ с предсказуемо более высокими значениями в группе 11 ($p < 0,001$) (табл. 2).

Средний возраст наступления менархе не отличался у женщин в изучаемых группах. Однако у женщин с двумя признаками СПКЯ продолжительность менструального цикла была выше в сравнении как с группой контроля ($p < 0,001$), так и с группой с одним критерием ($p < 0,001$); тем не менее, у участниц в группе 12 длительность цикла была также статистически значимо больше, чем в контрольной группе ($p < 0,001$). Соответственно частота циклов в год была значительно ниже в группе с СПКЯ в сравнении как с группой с одним критерием ($p < 0,001$), так и с группой контроля ($p < 0,001$), и в группе с одним критерием по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). При оценке репродуктивного анамнеза (табл. 2) нами отмечено меньшее количество беременностей и родов у женщин в группах с одним и двумя критериями СПКЯ по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$ для обеих групп) с максимально низким показателем в группе с СПКЯ. Меньшей частотой наступления беременностей, вероятно, можно объяснить и отсутствие статистически значимых отличий в частоте внематочных и неразвивающихся беременностей, а также терапевтических аборт по желанию женщины у представительниц групп с одним и двумя признаками СПКЯ по сравнению с контрольной группой. Вместе с этим нами отмечено большее число антенатальной гибели плода в группе женщин с одним критерием СПКЯ по сравнению с группой с двумя критериями и контрольной группой и большее количество самопроизвольных абортов у женщин с двумя критериями СПКЯ по сравнению с группой контроля и группой с одним критерием ($p < 0,001$). Безусловно, эти данные подтверждают отрицательное влияние как гиперандрогенизма, так и олигоановуляции на репродуктивную функцию женщины и обосновывают необходимость раннего выявления, ведения и лечения таких пациенток.

Не было значительных различий в средних уровнях пролактина, ТТГ, ФСГ и 17-ОН между группами, хотя участницы с СПКЯ имели несколько более высокие значения 17-ОН, находящиеся, впрочем, в пределах нормы, по сравнению с женщинами с одним критерием СПКЯ и контрольной группой. Представительницы группы с двумя критериями СПКЯ демонстрировали более высокие уровни тестостерона, ДГЭА-С, соотношение

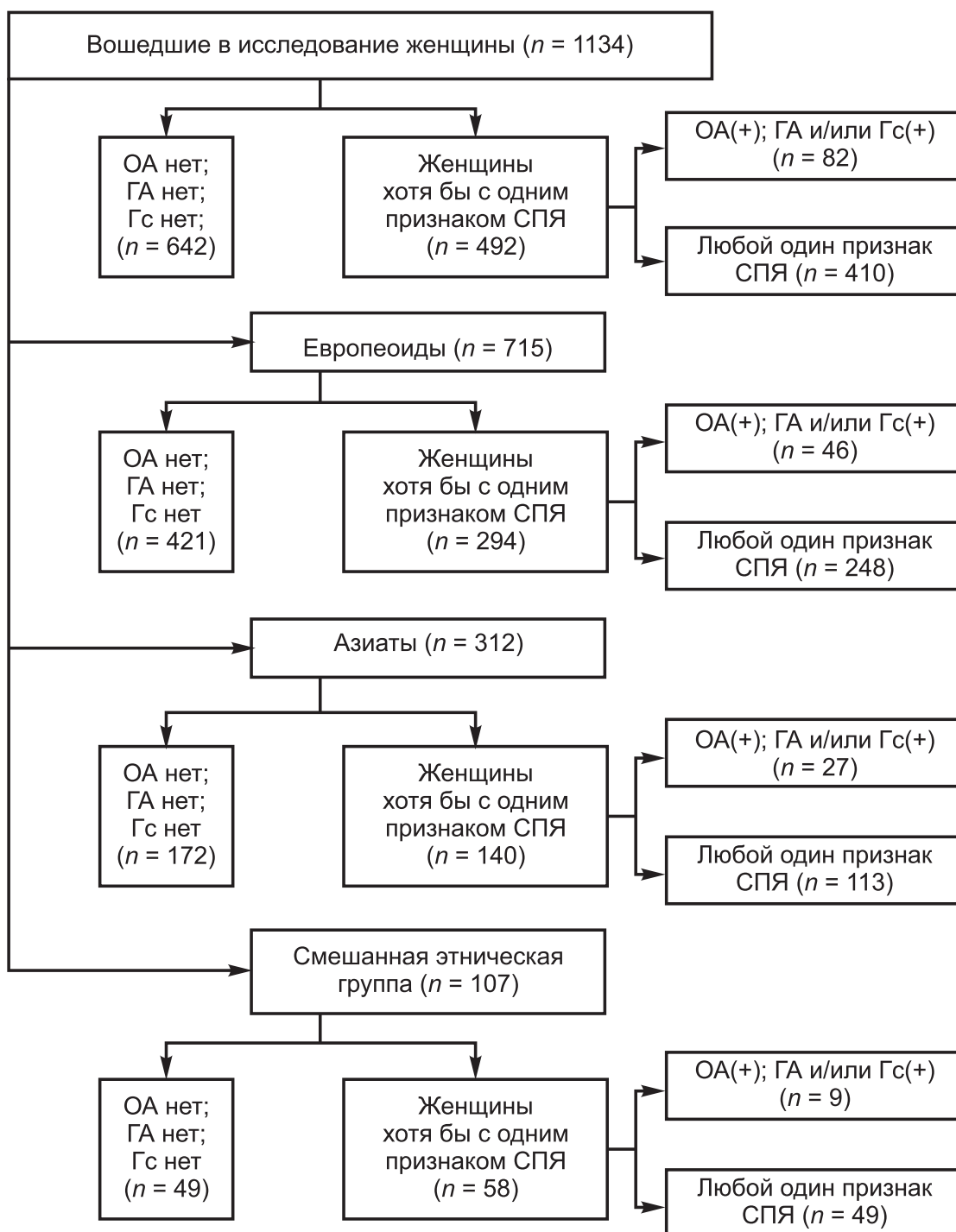


РИС. 1.

Диаграмма распределения женщин в подгруппы с отсутствием критериев СПКЯ, с одним и двумя критериями в целом и в зависимости от этнической принадлежности

FIG. 1.

Diagram of the distribution of women into subgroups with no PCOS criteria, with one and two criteria overall, and according to ethnicity

ЛГ/ФСГ, ИСА и АМГ и, соответственно, самый низкий показатель СССГ по сравнению с группой контроля и женщинами с одним критерием ($p < 0,001$ для всех значений). Тем не менее, женщины с одним критерием СПКЯ аналогично статистически значимо отличались по этим гормонам с группой контроля ($p < 0,001$ для всех значений) (табл. 3).

Что касается КФЯ и ОЯ, то здесь были получены следующие основные результаты: среди изучаемых групп количество антральных фолликулов (КАФ) и ОЯ как для правого, так и для левого яичника были увеличены в группах с гиперандрогенизмом. Среди групп с наличием критериев СПКЯ наибольшие значения КАФ и ОЯ были обнаружены в группе с двумя критериями (табл. 3).

ТАБЛИЦА 1
СОЦИОДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ЖЕНЩИН ГРУПП ИССЛЕДОВАНИЯ

Названия переменных	Группа без ОА, ГА, Гс (n = 642)	Группа NIH (n = 82)	Группа с любым одним признаком (n = 410)	p
	0	11	12	
Возраст (лет), M (SD), Me (LQ; UQ)	35,12 ± 6,17 36,0 (31,0; 40,0)	31,65 ± 6,55 32,0 (26,25; 36,0)	33,67 ± 6,55 34,0 (29,0; 39,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,013_{11-12}$
Этнический состав				
Европеоиды, n/N (%)	421/642 (65,58 %)	46/82 (56,10 %)	248/410 (60,49 %)	$p_{\chi^2} > 0,05$
Азиаты, n/N (%)	172/642 (26,79 %)	27/82 (32,93 %)	113/410 (27,56 %)	$p_{\chi^2} > 0,05$
Смешанная этническая принадлежность, n/N (%)	49/642 (7,63 %)	9/82 (10,98 %)	49/410 (11,95 %)	$p_{\chi^2} > 0,05$

Примечание. p_{χ^2} – критерий χ^2 ; p_u – критерий Манна – Уитни.

ТАБЛИЦА 2
АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ,
МЕНСТРУАЛЬНЫЙ И РЕПРОДУКТИВНЫЙ АНАМНЕЗ
ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

TABLE 2
ANTHROPOMETRIC CHARACTERISTICS, MENSTRUAL
AND REPRODUCTIVE HISTORY OF PREMENOPAUSAL
WOMEN

Названия переменных	Группа 0 (n = 642)	Группа 11 (n = 82)	Группа 12 (n = 410)	p
ИМТ (кг/м ²), M (SD), Me (LQ; UQ)	25,42 ± 5,11 24,7 (21,5; 28,18)	27,78 ± 6,09 26,9 (22,82; 31,85)	26,17 ± 6,02 24,9 (21,8; 29,4)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,175_{0-12}$ $p_u = 0,018_{11-12}$
Окружность талии (см), M (SD), Me (LQ; UQ)	77,76 ± 12,02 76,0 (68,0; 85,0)	82,91 ± 14,41 82,0 (72,0; 93,0)	79,05 ± 13,83 76,0 (69,0; 86,0)	$p_u = 0,003_{0-11}$ $p_u = 0,346_{0-12}$ $p_u = 0,020_{11-12}$
САД (мм рт. ст.), M (SD), Me (LQ; UQ)	78,43 ± 9,85 78,0 (71,0; 84,0)	80,7 ± 10,75 80,0 (74,0; 84,75)	78,65 ± 9,91 79,0 (71,25; 84,0)	$p_u = 0,109_{-11}$ $p_u = 0,424_{0-12}$ $p_u = 0,280_{11-12}$
ДАД (мм рт. ст.), M (SD), Me (LQ; UQ)	121,69 ± 13,75 121,0 (113,0; 128,0)	126,2 ± 14,78 124,0 (115,25; 135,0)	122,7 ± 13,66 122,0 (113,0; 130,0)	$p_u = 0,007_{0-11}$ $p_u = 0,170_{0-12}$ $p_u = 0,069_{11-12}$
Олигоановуляция, n/N (%)	0/642 (0,00 %)	82/82 (100 %)	208/410 (50,73 %)	$p_{\chi^2} = 0,000_{11-12}$
Гиперандрогенемия, n/N (%)	0/642 (0,00 %)	58/82 (70,73 %)	162/410 (39,51 %)	$p_{\chi^2} = 0,000_{11-12}$
Гирсутизм, n/N (%)	0/642 (0,00 %)	38/82 (46,34 %)	52/410 (12,68 %)	$p_{\chi^2} = 0,000_{11-12}$
Гирсутизм (баллы), M (SD), Me (LQ; UQ)	0,56 ± 1,01 0,0 (0,0; 1,0)	3,99 ± 3,62 4,0 (0,25; 6,0)	1,61 ± 2,51 0,0 (0,0; 2,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
Возраст менархе (лет), M (SD), Me (LQ; UQ)	13,3 ± 1,35 13,0 (12,0; 14,0)	13,29 ± 1,72 14,0 (12,0; 14,0)	13,2 ± 1,45 13,0 (12,0; 14,0)	$p_u = 0,843_{0-11}$ $p_u = 0,384_{0-12}$ $p_u = 0,556_{11-12}$
Длительность менструального цикла, M (SD), Me (LQ; UQ)	27,67 ± 2,2 28,0 (27,0; 29,0)	35,22 ± 12,49 32,0 (28,0; 38,0)	29,27 ± 5,3 28,0 (27,0; 30,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
Минимальная длительность менструального цикла (дни), M (SD), Me (LQ; UQ)	26,17 ± 2,39 26,0 (25,0; 28,0)	27,8 ± 6,5 28,0 (25,0; 30,0)	25,8 ± 4,49 27,0 (24,0; 28,0)	$p_u = 0,001_{0-11}$ $p_u = 0,945_{0-12}$ $p_u = 0,004_{11-12}$
Максимальная длительность менструального цикла (дни), M (SD), Me (LQ; UQ)	29,39 ± 2,74 30,0 (28,0; 30,0)	65,95 ± 37,43 51,0 (40,0; 90,0)	40,73 ± 28,68 31,0 (28,0; 40,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
Количество менструальных циклов в год, M (SD), Me (LQ; UQ)	12,23 ± 1,23 12,0 (12,0; 12,0)	9,2 ± 2,56 9,0 (8,0; 11,75)	11,41 ± 1,86 12,0 (11,0; 12,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$

ТАБЛИЦА 2 (продолжение)

TABLE 2 (continued)

Беременности				
Количество беременностей, М (SD), Ме (LQ; UQ)	2,7 ± 2,54 2,0 (1,0; 4,0)	1,66 ± 2,48 1,0 (0,0; 2,0)	2,32 ± 2,18 2,0 (1,0; 3,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,019_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
Количество родов, М (SD), Ме (LQ; UQ)	1,37 ± 1,01 1,0 (1,0; 2,0)	0,74 ± 0,89 0,0 (0,0; 1,0)	1,27 ± 1,11 1,0 (0,0; 2,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,035_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
Количество мертворождений, М (SD), Ме (LQ; UQ)	0,02 ± 0,17 0,0 (0,0; 0,0)	0,0 ± 0,0 0,0 (0,0; 0,0)	0,0 ± 0,07 0,0 (0,0; 0,0)	$p_u = 0,193_{0-11}$ $p_u = 0,039_{0-12}$ $p_u = 0,529_{11-12}$
Количество самопроизвольных абортов, М (SD), Ме (LQ; UQ)	0,2 ± 0,56 0,0 (0,0; 0,0)	0,07 ± 0,31 0,0 (0,0; 0,0)	0,16 ± 0,54 0,0 (0,0; 0,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,092_{0-12}$ $p_u = 0,135_{11-12}$
Количество внематочных беременностей, М (SD), Ме (LQ; UQ)	0,04 ± 0,24 0,0 (0,0; 0,0)	0,06 ± 0,24 0,0 (0,0; 0,0)	0,04 ± 0,23 0,0 (0,0; 0,0)	$p_u = 0,275_{0-11}$ $p_u = 0,720_{0-12}$ $p_u = 0,205_{11-12}$
Количество неразвивающихся беременностей, М (SD), Ме (LQ; UQ)	0,03 ± 0,22 0,0 (0,0; 0,0)	0,04 ± 0,19 0,0 (0,0; 0,0)	0,02 ± 0,15 0,0 (0,0; 0,0)	$p_u = 0,546_{0-11}$ $p_u = 0,939_{0-12}$ $p_u = 0,531_{11-12}$
Количество медицинских абортов, М (SD), Ме (LQ; UQ)	1,06 ± 1,85; 0,0 (0,0; 2,0)	0,76 ± 1,87 0,0 (0,0; 0,75)	0,88 ± 1,41 0,0 (0,0; 1,0)	$p_u = 0,003_{0-11}$ $p_u = 0,295_{0-12}$ $p_u = 0,016_{11-12}$
Бесплодие, n/N (%)	120/633 (18,96 %)	30/82 (37,04 %)	104/404 (25,74 %)	$p_{\chi^2} = 0,000_{0-11}$ $p_{\chi^2} = 0,018_{0-12}$ $p_{\chi^2} = 0,071_{11-12}$

Примечание. p_{χ^2} – критерий χ^2 ; p_u – критерий Манна – Уитни.

ТАБЛИЦА 3

ГОРМОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЖЕНЩИН
РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА И ДАННЫЕ УЗИ
ОРГАНОВ МАЛОГО ТАЗА

TABLE 3

HORMONAL CHARACTERISTICS OF PREMENOPAUSAL
WOMEN AND DATA OF PELVIC ULTRASOUND

Названия переменных	Группа без ОА, ГА, Гс (n = 642)	Группа НИН (n = 82)	Группа с любым одним признаком (n = 410)	p
	0	11	12	
ТТГ (мМ/мл), М (SD); Ме (LQ; UQ)	372,01 ± 256,99 314,5 (221,0; 445,5)	403,91 ± 315,13 319,0 (239,5; 467,0)	393,92 ± 251,01 329,0 (235,0; 483,0)	$p_u = 0,807_{0-11}$ $p_u = 0,065_{0-12}$ $p_u = 0,869_{11-12}$
ПРЛ (мЕД/л), М (SD); Ме (LQ; UQ)	1,73 ± 1,2 1,5 (1,1; 2,1)	1,75 ± 1,05 1,6 (1,0; 2,28)	1,94 ± 1,95 1,5 (1,1; 2,2)	$p_u = 0,756_{0-11}$ $p_u = 0,340_{0-12}$ $p_u = 0,826_{11-12}$
ЛГ (мМЕ/мл), М (SD); Ме (LQ; UQ)	8,03 ± 10,89 5,3 (3,2; 7,9)	12,94 ± 13,06 8,5 (5,28; 16,95)	10,06 ± 12,31 6,0 (3,7; 10,85)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
ФСГ (мМЕ/л), М (SD); Ме (LQ; UQ)	7,02 ± 8,25 5,4 (3,8; 7,3)	6,91 ± 5,07 6,15 (4,32; 7,7)	9,34 ± 5,9 5,5 (3,9; 7,52)	$p_u = 0,100_{0-11}$ $p_u = 0,260_{0-12}$ $p_u = 0,289_{11-12}$
Соотношение ЛГ/ФСГ, М (SD); Ме (LQ; UQ)	1,24 ± 1,12 0,93 (0,66; 1,5)	1,91 ± 1,31 1,61 (1,02; 2,38)	1,4 ± 1,07 1,04 (0,67; 1,83)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,022_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
Тестостерон (г/дл), М (SD); Ме (LQ; UQ)	247,03 ± 132,3 246,38 (153,5; 326,87)	571,09 ± 659,06 432,47 (306,46; 609,6)	403,15 ± 384,43 298,2 (209,63; 434,57)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
СССГ, М (SD); Ме (LQ; UQ)	82,86 ± 54,5 67,45 (43,7; 105,65)	60,08 ± 43,87 44,3 (29,72; 75,4)	76,32 ± 52,78 64,8 (38,1; 98,9)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,027_{0-12}$ $p_u = 0,003_{11-12}$

ТАБЛИЦА 3 (продолжение)

TABLE 3 (continued)

ИСА, М (SD); Me (LQ; UQ)	1,41 ± 1,09 1,16 (0,63; 1,92)	4,52 ± 4,92 3,36 (1,82; 5,36)	3,1 ± 6,78 1,65 (0,94; 3,5)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
ДГЭА-С (мг/дл), М (SD); Me (LQ; UQ)	158,59 ± 65,38 150,0 (110,5; 200,0)	244,67 ± 109,9 233,0 (168,75; 316,25)	190,59 ± 98,33 170,0 (118,0; 240,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
17-оксипрогестерон, М (SD); Me (LQ; UQ)	5,5 ± 3,35 5,2 (2,48; 7,7)	6,01 ± 3,18 5,6 (4,3; 6,9)	5,83 ± 4,78 4,9 (2,9; 6,9)	$p_u = 0,222_{0-11}$ $p_u = 0,912_{0-12}$ $p_u = 0,107_{11-12}$
АМН, М (SD); Me (LQ; UQ)	2,78 ± 2,45 2,1 (1,0; 4,0)	6,58 ± 5,51 5,3 (2,65; 8,12)	4,66 ± 4,74 3,2 (1,7; 6,1)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,001_{11-12}$
Ультразвуковые характеристики яичников				
<i>Все яичники</i>				
ОЯ	6,36 ± 2,57 5,93 (4,71; 7,46)	9,66 ± 5,43 8,82 (5,96; 11,40)	7,35 ± 3,73 6,53 (4,83; 9,09)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,001_{11-12}$
КФЯ	6,74 ± 2,83 6,00 (5,00; 8,00)	10,92 ± 4,97 12,00 (7,00; 13,5)	7,97 ± 3,70 7,00 (5,00; 10,00)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,001_{11-12}$
<i>Левые яичники</i>				
ОЯ	8,12 ± 9,0 6,34 (4,92; 8,57)	10,25 ± 8,67 8,68 (6,02; 11,69)	8,33 ± 6,75 6,9 (5,0; 9,7)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,001_{11-12}$
КФЯ	6,4 ± 2,65 6,0 (5,0; 8,0)	10,44 ± 5,31 10,0 (7,0; 13,0)	7,26 ± 3,38 7,0 (5,0; 9,25)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
<i>Правые яичники</i>				
ОЯ	9,06 ± 23,65 6,72 (5,23; 8,84)	11,23 ± 7,15 9,74 (6,67; 12,55)	8,98 ± 8,19 7,46 (5,34; 10,54)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,005_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$
КФЯ	6,68 ± 2,79 6,0 (5,0; 8,0)	10,77 ± 4,8 12,0 (7,0; 14,0)	7,66 ± 3,84 7,0 (5,0; 10,0)	$p_u = 0,000_{0-11}$ $p_u = 0,000_{0-12}$ $p_u = 0,000_{11-12}$

Примечание. p_u – критерий Манна – Уитни.

Определение точек отсечения объёма яичников и количества фолликулов в целом в популяции и с учётом этнической принадлежности

На следующем этапе мы провели оценку ультразвуковых характеристик яичников женщин, включённых в исследование. Критерием исключения для яичника было наличие в нём образования, кисты или фолликула 10 мм и более в диаметре, выявленных при проведении ультразвукового сканирования в данном исследовании. В итоге в анализ были включены 1665 яичников, соответствовавшие критериям включения. В группе контроля подлежали оценке 927 яичников (группа 0 на диаграмме); в группе хотя бы с одним критерием СПКЯ (группа 12 на диаграмме) оценивали 597 яичников; у женщин с двумя критериями СПКЯ (группа 11) оценке подлежали 132 яичника (рис. 2). У женщин европеоидной этнической принадлежности критериям включения соответствовали 1024 яичника, у азиаток – 458, а в группе смешанной этнической принадлежности – 174 яичника. Далее были

определены точки отсечения (верхние нормальные значения) объёма яичников и количества фолликулов, позволяющие классифицировать женщин, не имеющих признаков СПКЯ с группой участниц, демонстрирующих единичные критерии СПКЯ, и с женщинами с СПКЯ как в целом, так и с учётом их этнической принадлежности. Для уточнения верхних нормальных значений для объёма яичников и КАФ на яичник у женщин с любым одним критерием СПКЯ при стратификации по этническим группам были выделены следующие подгруппы. Общая популяция – группа 0/12, в которую вошли 1052 участницы, средний возраст $34,4 \pm 6,35$ года, количество яичников в этой группе – 1524. Группа 0е/12е – европеоиды ($n = 669$, количество яичников – 953), средний возраст $34,4 \pm 6,4$ года. Группа 0а/12а – азиаты ($n = 285$, количество яичников – 412), средний возраст $33,8 \pm 6,7$ года. Группа 0с/12с – участницы смешанной этнической принадлежности ($n = 98$, количество яичников – 159), средний возраст $32,1 \pm 7,3$ года (рис. 2).



РИС. 2.

Диаграмма включения участниц исследования для определения точек отсечения объёма яичников и количества фолликулов при классификации на группы 0–12 в целом и с учётом этнической принадлежности

FIG. 2.

Inclusion diagram of study participants to determine cut-off points for ovarian volume and follicle number when classifying patients into groups 0–12 overall and by ethnicity

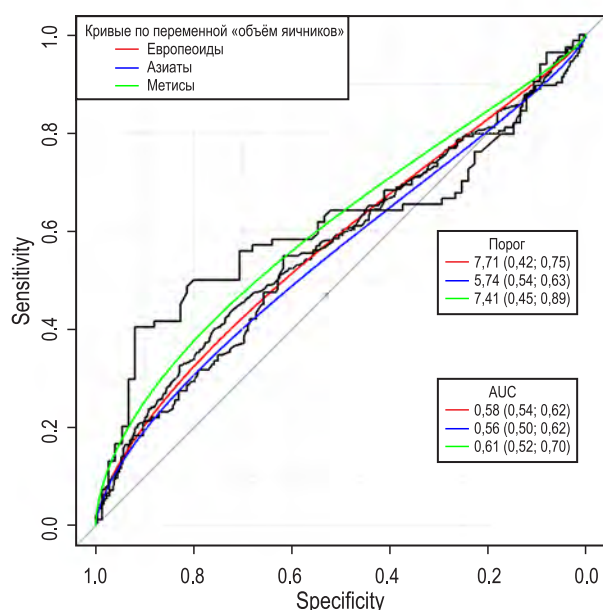


РИС. 3.

ROC-кривые для объёма яичников и количества антральных фолликулов на яичник для женщин репродуктивного возраста (группа 0/группа 12 (один любой признак СПКЯ по критериям NIH (ГА/ОА))) для общей популяции, европеоидов, азиаток и смешанной группы

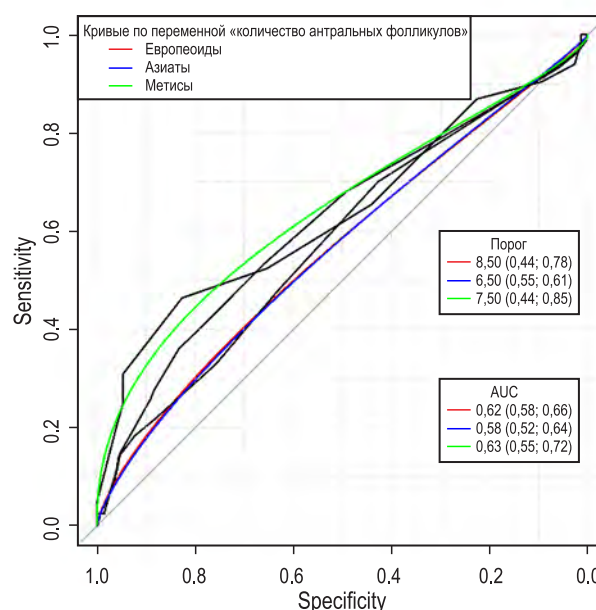


FIG. 3.

ROC curves for ovarian volume and antral follicles number per ovary for premenopausal women (group 0/group 12 (any one sign of PCOS according to NIH criteria (hyperandrogenism/oligoanovulation))) for overall population, Caucasian women, Asian women, and women of mixed ethnicity

ROC-анализ был проведён на наборе данных, полученных в группах женщин, представленных на рисунке 3.

Пороговые значения и диагностическая эффективность ОЯ и КАФ приведены в таблице 4.

ТАБЛИЦА 4

ТОЧКИ ОТСЕЧЕНИЯ ОБЪЁМА ЯИЧНИКОВ И КОЛИЧЕСТВА Фолликулов при классификации на группы в целом и по этнической принадлежности (ГРУППА 0/ГРУППА 12 (ОДИН ЛЮБОЙ ПРИЗНАК СПКЯ ПО КРИТЕРИЯМ NIH (ГА/ОА))

TABLE 4

CUT-OFF POINTS FOR OVARIAN VOLUME AND FOLLICLE NUMBER WHEN CLASSIFYING THE PATIENTS INTO GROUPS OVERALL AND BY ETHNICITY (GROUP 0/GROUP 12 (ANY ONE SIGN OF PCOS ACCORDING TO NIH CRITERIA (HYPERANDROGENISM/ OLIGOANOVULATION))

Параметры	Точка отсечения	95% ДИ для точек отсечения	AUC	95% ДИ для AUC	Чувствительность	Специфичность	ПЗПР	ПЗНР
Объём яичников								
Все этнические группы	7,55	(6,83; 8,75)	0,57	(0,54; 0,60)	0,39	0,77	0,11	0,54
Европеоиды	7,71	(6,95; 9,79)	0,58	(0,54; 0,62)	0,42	0,75	0,14	0,51
Азиаты	5,74	(5,19; 9,36)	0,56	(0,50; 0,62)	0,54	0,63	0,24	0,35
Смешанная этническая принадлежность	7,41	(6,04; 7,47)	0,61	(0,52; 0,70)	0,45	0,89	0,11	0,67
Количество антральных фолликулов на яичник								
Все этнические группы	8,50	(6,50; 9,50)	0,60	(0,57; 0,63)	0,39	0,80	0,09	0,61
Европеоиды	8,50	(6,50; 9,50)	0,62	(0,58; 0,66)	0,44	0,78	0,12	0,56
Азиатки	6,50	(5,50; 10,50)	0,58	(0,52; 0,64)	0,55	0,61	0,23	0,36
Смешанная этническая принадлежность	7,50	(7,50; 8,50)	0,63	(0,55; 0,72)	0,44	0,85	0,14	0,57

Примечание. ПЗПР – прогностическая значимость положительного результата; ПЗНР – прогностическая значимость негативного результата.

Определение точек отсечения объёма яичников и количества фолликулов при классификации на группы 0–12 женщин европеоидной, азиатской и смешанной этнической принадлежности в возрасте до 35 лет и с 35 лет включительно

Для уточнения пороговых значений для ОЯ и КФЯ у женщин с любым одним критерием СПКЯ при стратификации по этническим группам и по возрасту были выделены следующие подгруппы. Общая популяция – группа 0/12, в которую вошли 1052 участницы, средний возраст $34,4 \pm 6,35$ года, количество яичников – 1524; в дальнейшем женщины были поделены в зависимости от возраста на участниц в возрасте 18–34 лет и 35–44 лет. В итоге распределение по группам выглядит следующим образом: группа 0_{в1}/12_{в1} – 496 участниц, средний возраст $28,91 \pm 3,84$ года, оценке подлежало 726 яичников; группа 0_{ев1}/12_{ев1} – европеоиды в возрасте 18–34 лет ($n = 324$, количество яичников – 466), средний возраст $28,94 \pm 3,85$ года; группа 0_{ав1}/12_{ав1} – азиаты в возрасте ($n = 122$, количество яичников – 177), средний возраст $28,84 \pm 3,95$ года; группа 0_{св1}/12_{св1} – участницы смешанной этнической принадлежности ($n = 50$, количество яичников – 83), средний возраст $28,88 \pm 4,06$ года (рис. 4).

Женщины в возрасте 35–44 лет распределились следующим образом: группа 0_{в2}/12_{в2} – 556 женщин, средний возраст $39,59 \pm 3,03$ года, 798 яичников; группа 0_{ев2}/12_{ев2} – европеоиды в возрасте 18–34 лет ($n = 345$, количество яичников – 487), средний возраст $39,56 \pm 3,08$ года; группа 0_{ав2}/12_{ав2} – азиаты в возрасте 35–44 лет ($n = 163$, количество яичников – 235), средний возраст $39,69 \pm 2,92$ года; группа 0_{св2}/12_{св2} – женщины смешанной этнической принадлежности ($n = 48$, количество яичников – 76), средний возраст $39,42 \pm 3,07$ года (рис. 4).

Далее ROC-анализ был проведён на наборе данных, полученных в группах, представленных на рисунке 3. Пороговые значения и диагностическая эффективность ОЯ и КАФ приведены в таблице 4.

Пороговые значения для ОЯ у женщин с одним критерием СПКЯ составили: для всех этнических групп – 7,55 см³; для европеоидов – 7,74 см³; для азиатов – 5,74 см³; для представительниц смешанной этнической принадлежности – 7,41 см³. Площадь под кривой (AUC, area under curve) для объёма яичников составила 0,57, 0,58, 0,56 и 0,61 соответственно. Пороговые значения для КАФ у женщин с одним критерием СПКЯ составили: для всех этнических групп – 8,50; для европеоидов – 8,50; для азиатов – 6,50; для представительниц смешанной

этнической принадлежности – 7,50. AUC КАФ составила 0,60, 0,62, 0,58 и 0,63 соответственно (табл. 3).

Пороговые значения для ОЯ у женщин с одним любым критерием СПКЯ с учётом возраста для всех этнических групп у участниц в возрасте 18–34 лет составили 7,48 см³ (AUC = 0,63), что было статистически зна-

чительно выше пороговых уровней для женщин 35–44 лет (4,63 см³; AUC = 0,53; $p < 0,05$) (табл. 5). Для европеоидов в возрастной группе 18–34 лет данный показатель составил 8,02 см³ (AUC = 0,62), что было статистически значимо выше пороговых уровней для женщин 35–44 лет (5,22 см³; AUC = 0,535; $p < 0,05$) (табл. 5).

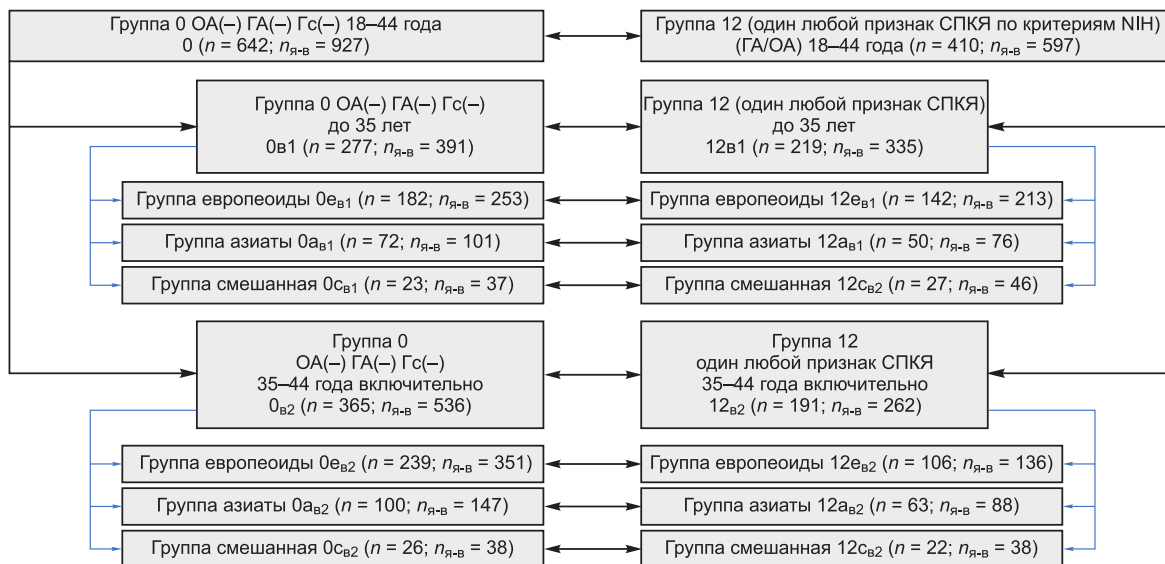


РИС. 4.

Диаграмма включения участниц исследования для определения точек отсечения объёма яичников и количества фолликулов при классификации на группы 0–12 в целом с учётом возраста и этнической принадлежности

FIG. 4.

Inclusion diagram of study participants to determine cut-off points for ovarian volume and follicle number when classifying patients into groups 0–12 overall, by age and by ethnicity

ТАБЛИЦА 5

ТОЧКИ ОТСЕЧЕНИЯ ОБЪЁМА ЯИЧНИКОВ И КОЛИЧЕСТВА Фолликулов ПРИ КЛАССИФИКАЦИИ НА ГРУППЫ 0–12 ПАЦИЕНТОК В ВОЗРАСТЕ ДО 35 ЛЕТ И 35–44 ЛЕТ

TABLE 5

CUT-OFF POINTS FOR OVARIAN VOLUME AND FOLLICLE NUMBER WHEN CLASSIFYING PATIENTS UNDER 35 YEARS OF AGE AND 35–44 YEARS OF AGE INTO GROUPS 0–12

Параметры	Точка отсечения	95% ДИ для точек отсечения	AUC	95% ДИ для AUC	Чувствительность	Специфичность	ПЗПР	ПЗНР
Объём яичников								
Все этнические группы до 35 лет, 0/12в1 (n = 726)	7,48	(6,19; 9,13)	0,63	(0,59; 0,67)	0,53	0,69	0,22	0,40
Все этнические группы 35–44 лет, 0/12в2 (n = 798)	4,63	(3,02; 5,42)	0,53	(0,49; 0,58)	0,40	0,72	0,27	0,23
Европеоиды до 35 лет, 0/12в1 (n = 466)	8,05	(6,33; 9,76)	0,62	(0,57; 0,67)	0,52	0,71	0,21	0,42
Европеоиды 35–44 лет, 0/12в2 (n = 487)	5,22	(3,65; 6,27)	0,55	(0,49; 0,61)	0,49	0,65	0,29	0,26
Азиаты до 35 лет, 0/12в1 (n = 177)	5,30	(5,04; 9,53)	0,64	(0,55; 0,72)	0,78	0,51	0,49	0,19
Азиаты 35–44 лет, 0/12в2 (n = 235)	4,73	(3,09; 6,18)	0,62	(0,54; 0,70)	0,26	0,87	0,21	0,18
Смешанная этническая принадлежность до 35 лет, 0/12в1 (n = 83)	7,30	(5,56; 8,63)	0,66	(0,54; 0,78)	0,57	0,84	0,21	0,52
Смешанная этническая принадлежность 35–44 лет, 0/12в2 (n = 76)	6,83	(5,79; 8,63)	0,62	(0,50; 0,73)	0,37	0,95	0,09	0,71

ТАБЛИЦА 5 (продолжение)

TABLE 5 (continued)

Количество антральных фолликулов на яичник								
Все этнические группы до 35 лет, 0/12в1 (n = 726)	9,50	(7,50; 10,50)	0,63	(0,58; 0,67)	0,48	0,75	0,16	0,51
Все этнические группы 35–44 лет, 0/12в2 (n = 798)	6,50	(6,50; 10,50)	0,52	(0,48; 0,57)	0,38	0,72	0,12	0,49
Европеоиды до 35 лет, 0/12в1 (n = 466)	9,50	(8,50; 11,50)	0,63	(0,58; 0,68)	0,53	0,72	0,20	0,45
Европеоиды 35–44 лет, 0/12в2 (n = 487)	6,50	(6,50; 10,50)	0,52	(0,45; 0,58)	0,43	0,68	0,16	0,44
Азиаты до 35 лет, 0/12в1 (n = 177)	9,50	(5,50; 10,50)	0,60	(0,52; 0,69)	0,37	0,86	0,09	0,66
Азиаты 35–44 лет, 0/12в2 (n = 235)	5,50	(1,0; 0,45)	0,59	(0,51; 0,67)	0,56	0,59	0,27	0,31
Смешанная этническая принадлежность до 35 лет, 0/12в1 (n = 83)	7,50	(7,50; 8,50)	0,68	(0,57; 0,80)	0,57	0,86	0,25	0,49
Смешанная этническая принадлежность 35–44 лет, 0/12в2 (n = 76)	7,50	(7,50; 8,50)	0,64	(0,53; 0,75)	0,34	0,87	0,07	0,69

Определение точек отсечения объёма яичников и количества фолликулов при классификации на группы 0–11 в целом и с учётом этнической принадлежности

Для уточнения верхних нормальных значений для ОЯ и КФЯ у женщин с двумя признаками СПКЯ по критериям NIH при стратификации по этническим группам были выделены следующие подгруппы. Общая популяция – груп-

па 0/11, в которую вошли 724 участницы, средний возраст $33,1 \pm 7,2$ года, количество яичников – 1059. Группа 0е/11е – европеоиды (n = 467, количество яичников – 675), средний возраст $34,8 \pm 6,9$ года. Группа 0а/11а – азиаты (n = 199, количество яичников – 294), средний возраст $32,1 \pm 6,9$ года. Группа 0с/11с – женщины смешанной этнической принадлежности (n = 58, количество яичников – 90), средний возраст $32,9 \pm 8,3$ года (рис. 5).



РИС. 5.

Диаграмма включения участниц исследования для определения точек отсечения объёма яичников и количества фолликулов при классификации на группы 0–11 в целом и с учётом этнической принадлежности

FIG. 5.

Inclusion diagram of study participants to determine cut-off points for ovarian volume and follicle number when classifying patients into groups 0–11 overall and by ethnicity

ROC-анализ был проведён на наборе данных, полученных в группах, представленных на рисунке 6. Поро-

говые значения и диагностическая эффективность ОЯ и КФЯ приведены в таблице 6.

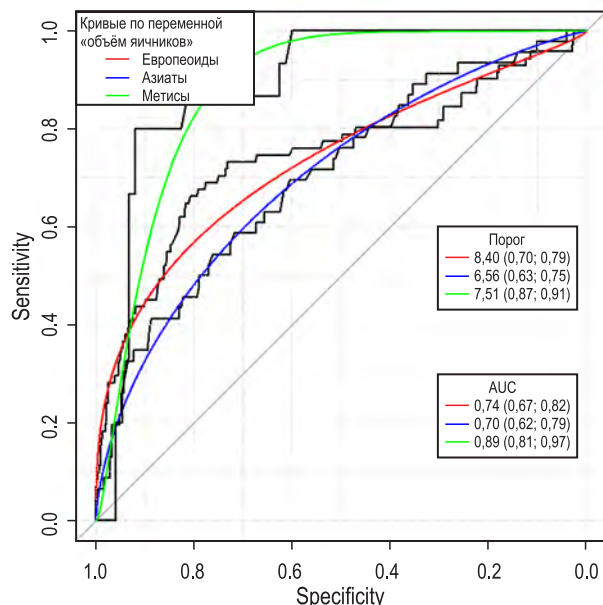


РИС. 6.

ROC-кривые для объёма яичников и количества антральных фолликулов на яичник для женщин репродуктивного возраста (группа 0/группа 11 (СПКЯ по критериям NIH (ГА/ОА)) для европеоидов, азиатов и смешанной группы

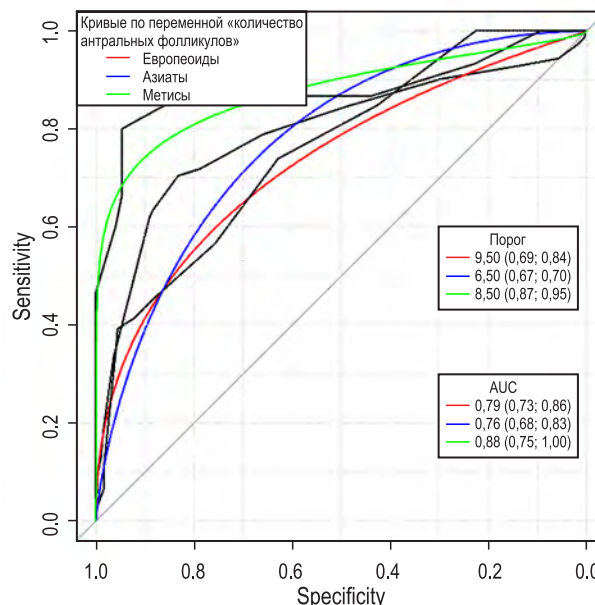


FIG. 6.

ROC curves for ovarian volume and antral follicles number per ovary for premenopausal women (group 0/group 11 (PCOS according to NIH criteria (hyperandrogenism/oligoanovulation)) for overall population, Caucasian women, Asian women, and women of mixed ethnicity

ТАБЛИЦА 6

ТОЧКИ ОТСЕЧЕНИЯ ОБЪЁМА ЯИЧНИКОВ И КОЛИЧЕСТВА ФОЛЛИКУЛОВ ПРИ КЛАССИФИКАЦИИ НА ГРУППЫ В ЦЕЛОМ И ПО ЭТНИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ (ГРУППА 0/ГРУППА 11 (СПКЯ ПО КРИТЕРИЯМ NIH (ГА/ОА)))

TABLE 6

CUT-OFF POINTS FOR OVARIAN VOLUME AND FOLLICLE NUMBER WHEN CLASSIFYING PATIENTS INTO GROUPS OVERALL AND BY ETHNICITY (GROUP 0/GROUP 11 (PCOS ACCORDING TO NIH CRITERIA (HYPERANDROGENISM/OLIGOANOVOULATION)))

Параметры	Точка отсечения	95% ДИ для точек отсечения	AUC	95% ДИ для AUC	Чувствительность	Специфичность	ПЗПР	ПЗНР
Объём яичников								
Все этнические группы	8,11	(7,62; 8,66)	0,73	(0,67; 0,78)	0,62	0,80	0,15	0,61
Европеоиды	8,40	(7,61; 8,81)	0,74	(0,67; 0,82)	0,70	0,79	0,18	0,59
Азиаты	6,56	(4,71; 9,37)	0,70	(0,62; 0,79)	0,63	0,75	0,20	0,51
Смешанная этническая принадлежность	7,51	(5,73; 8,57)	0,89	(0,81; 0,97)	0,87	0,91	0,17	0,73
Количество антральных фолликулов на яичник								
Все этнические группы	9,50	(7,50; 10,50)	0,78	(0,73; 0,82)	0,61	0,86	0,12	0,70
Европеоиды	9,50	(8,50; 11,50)	0,79	(0,73; 0,86)	0,69	0,84	0,15	0,65
Азиатки	6,50	(6,50; 11,00)	0,76	(0,68; 0,83)	0,67	0,70	0,29	0,40
Смешанная этническая принадлежность	8,50	(7,50; 9,00)	0,88	(0,75; 1,00)	0,87	0,95	0,15	0,78

Примечание. ПЗПР – прогностическая значимость положительного результата; ПЗНР – прогностическая значимость негативного результата.

Пороговые значения для ОЯ у женщин с двумя критериями СПКЯ составили: для всех этнических групп – 8,11 см³; для европеоидов – 8,4 см³; для азиатов – 6,56 см³; для представительниц смешанной этнической принадлежности – 7,11 см³. AUC для объёма яичников составила 0,73, 0,74, 0,71 и 0,89 соответственно. Пороговые значения для КФЯ у женщин с одним критерием СПКЯ: для всех этнических групп – 9,50; для европеоидов – 9,50; для азиатов – 6,50; для представительниц смешанной этнической принадлежности – 8,50. AUC КАФ составила 0,78, 0,79, 0,76 и 0,88 соответственно (табл. 6). Учитывая высокие значения чувствительности и специфичности для пороговых уровней ОЯ и КФЯ как в общей популяции, так и в зависимости от этнической принадлежности, мы можем сделать вывод об удовлетворительной диагностической способности исследуемых переменных.

Определение точек отсечения объёма яичников и количества фолликулов при классификации на группы 0–11 пациенток в возрасте до 35 лет и с 35 лет включительно

На следующем этапе для определения верхних нормальных значений для ОЯ и КФЯ у женщин с двумя признаками СПКЯ по критериям NIH при стратификации по этническим группам и по возрасту были выделены следующие подгруппы. Общая популяция – группа 0/11, в которую вошли 724 участницы, средний возраст $34,72 \pm 6,30$ года, $n_{\text{я-в}} = 1059$. В дальнейшем женщины были поделены в зависимости от возраста на участниц 18–34 лет (B1) и 35–44 лет (B2).

С учётом возраста в итоге были сформированы следующие группы. Группа 0_{B1}/11_{B1} – 329 участниц, средний

возраст $28,96 \pm 3,93$ года, $n_{\text{я-в}} = 480$. Группа 0e_{B1}/11e_{B1} – европеоиды в возрасте 18–34 лет ($n = 212$; $n_{\text{я-в}} = 302$), средний возраст $28,83 \pm 3,94$ года. Группа 0a_{B1}/11a_{B1} – азиаты в возрасте ($n = 87$; $n_{\text{я-в}} = 128$), средний возраст $29,55 \pm 3,68$ года. Группа 0c_{B1}/11c_{B1} – лица смешанной этнической принадлежности ($n = 30$; $n_{\text{я-в}} = 50$), средний возраст $28,17 \pm 4,49$ года (рис. 7).

Женщины в возрасте 35–44 лет распределились следующим образом: в группе 0_{B2}/11_{B2} – 395 участниц, средний возраст $39,52 \pm 4,04$ года, $n_{\text{я-в}} = 579$; группа 0e_{B2}/11e_{B2} – европеоиды в возрасте 18–34 лет ($n = 255$; $n_{\text{я-в}} = 373$), средний возраст $39,49 \pm 3,08$ года; группа 0a_{B2}/11a_{B2} – азиаты в возрасте ($n = 112$; $n_{\text{я-в}} = 166$), средний возраст $39,44 \pm 3,01$ года; группа 0c_{B2}/11c_{B2} – лица смешанной этнической принадлежности ($n = 28$; $n_{\text{я-в}} = 40$), средний возраст $40,14 \pm 2,85$ года (рис. 7).

Пороговые значения для ОЯ у женщин с двумя критериями СПКЯ с учётом возраста для всех этнических групп составили: у участниц в возрасте 18–34 лет – 8,39 см³ (AUC = 0,77); для женщин 35–44 лет – 8,43 см³ (AUC = 0,58); для европеоидов в возрастной группе 18–34 лет – 8,57 см³ (AUC = 0,80); в группе женщин 35–44 лет – 8,51 см³ (AUC = 0,80) (табл. 7).

Для азиатских женщин 18–34 лет порог для объёма яичников был определён как 6,52 см³ (AUC = 0,75), для возрастной группы 35–44 лет – 6,75 см³ (AUC = 0,72). Для 18–34-летних участниц смешанной группы порог составил 7,50 см³ (AUC = 0,86), для возрастной группы 35–44 лет – 7,50 см³ (AUC = 0,87) (табл. 7). Нами отмечено отсутствие статистически значимых различий в объёме яичников у женщин в возрасте 18–34 и 35–44 лет во всех этнических группах.



РИС. 7.

Диаграмма включения участниц исследования для определения точек отсечения объёма яичников и количества фолликулов при классификации на группы 0–11 в целом, с учётом возраста и этнической принадлежности

FIG. 7.

Inclusion diagram of study participants to determine cut-off points for ovarian volume and follicle number when categorized into groups 0–11 overall, by age and by ethnicity

ТАБЛИЦА 7

ТОЧКИ ОТСЕЧЕНИЯ ОБЪЁМА ЯИЧНИКОВ И КОЛИЧЕСТВА
ФОЛЛИКУЛОВ ПРИ КЛАССИФИКАЦИИ НА ГРУППЫ 0–11
ПАЦИЕНТОК В ВОЗРАСТЕ ДО 35 ЛЕТ И 35–44 ЛЕТ

TABLE 7

CUT-OFF POINTS FOR OVARIAN VOLUME AND FOLLICLE
NUMBER WHEN CLASSIFYING PATIENTS UNDER 35 YEARS
OF AGE AND 35–44 YEARS OF AGE INTO GROUPS 0–11

Параметры	Точка отсечения	95% ДИ для точек отсечения	AUC	95% ДИ для AUC	Чувствительность	Специфичность	ПЗПР	ПЗНР
Объём яичников								
Все этнические группы до 35 лет, 0/11в1 (n = 815)	8,39	(7,58; 9,04)	0,77	(0,71; 0,82)	0,73	0,76	0,24	0,51
Все этнические группы 35–44 лет, 0/11в2 (n = 579)	8,43	(4,58; 10,62)	0,58	(0,49; 0,68)	0,40	0,87	0,05	0,75
Европеоиды до 35 лет, 0/11в1е (n = 302)	8,57	(7,58; 9,06)	0,80	(0,72; 0,87)	0,84	0,74	0,29	0,48
Европеоиды 35–44 лет, 0/11в2е (n = 373)	8,51	(7,58; 9,17)	0,80	(0,73; 0,87)	0,41	0,87	0,06	0,75
Азиаты до 35 лет, 0/11в1а (n = 128)	6,52	(5,23; 9,53)	0,75	(0,64; 0,85)	0,78	0,67	0,35	0,37
Азиаты 35–44 лет 0/11в2а (n = 166)	6,85	(5,34; 9,50)	0,72	(0,62; 0,82)	0,84	0,42	0,54	0,15
Смешанная этническая принадлежность до 35 лет, 0/11в1с (n = 50)	7,51	(5,73; 8,57)	0,86	(0,75; 0,97)	0,92	0,84	0,30	0,57
Смешанная этническая принадлежность 35–44 лет, 0/11в2с (n = 40)	7,50	(5,73; 8,57)	0,87	(0,77; 0,97)	1,00	0,71	0,35	0,46
Количество антральных фолликулов на яичник								
Все этнические группы до 35 лет, 0/11в1 (n = 815)	10,50	(8,50; 11,50)	0,82	(0,77; 0,87)	0,73	0,85	0,19	0,63
Все этнические группы 35–44 лет, 0/11в2 (n = 579)	6,50	(6,50; 9,50)	0,65	(0,55; 0,74)	0,58	0,72	0,73	0,49
Европеоиды до 35 лет, 0/11в1е (n = 302)	11,50	(9,50; 11,50)	0,84	(0,77; 0,90)	0,82	0,82	0,23	0,59
Европеоиды 35–44 лет, 0/11в2е (n = 373)	11,50	(9,50; 11,50)	0,84	(0,78; 0,90)	0,59	0,79	0,13	0,62

ТАБЛИЦА 7 (продолжение)

TABLE 7 (continued)

Азиаты до 35 лет 0/11в1а (n = 128)	10,50	(7,50; 11,00)	0,76	(0,65; 0,87)	0,63	0,91	0,11	0,75
Азиаты 35–44 лет, 0/11в2а (n = 166)	6,50	(6,50; 11,00)	0,76	(0,68; 0,83)	0,67	0,70	0,29	0,40
Смешанная этническая принадлежность до 35 лет, 0/11в1с (n = 50)	8,50	(7,50; 10,00)	0,96	(0,92; 1,00)	1,00	0,92	0,30	0,64
Смешанная этническая принадлежность 35–44 лет, 0/11в2с (n = 40)	8,50	(7,50; 11,00)	0,96	(0,92; 1,00)	1,00	0,45	0,4	0,27

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании точки отсечения для ОЯ и КФЯ определялись с использованием попарного сравнения трёх групп: 1) женщины с регулярным циклом и без признаков гиперандрогенизма против 2) участниц исследования с наличием олигоменореи/олиановуляции [4, 5] и гиперандрогении (гирсутизм и/или гиперандрогенемия) [4, 5, 17], совокупность которых позволяет диагностировать СПКЯ без оценки ультрасонографических характеристик яичников, или 3) женщины с наличием или олигоановуляции, или одного любого признака гиперандрогенизма.

По нашим данным, для дифференциации 1-й и 2-й групп сравнения у европеоидов наилучший компромисс между чувствительностью и специфичностью был достигнут при диагностическом пороге для ОЯ $\geq 9 \text{ см}^3$, что не зависело от возраста (8,57 см^3 и 8,51 см^3 в младшей и старшей возрастных группах соответственно) и было несколько ниже по сравнению с результатами предыдущих исследований, представленных E. Carmina и соавт. [18], D. Dewailly и соавт. [19] и M.E. Lujan и соавт. [20], где ВГН составили 10 см^3 .

Для азиатских женщин определённое нами верхнее нормальное значение для ОЯ также статистически значимо не отличалось в зависимости от возраста. Так, в возрасте 18–34 лет ВГН для ОЯ был определена как 6,52 см^3 , а для возрастной группы 35–44 лет – 6,75 см^3 , что согласуется с данными, полученными ранее у корейских пациенток с СПКЯ [8], у которых объём правого яичника составлял 6,4 см^3 , левого – 6,7 мл [8], а также у женщин китайской национальности [21]: значения ВГН для ОЯ – 6,3 см^3 [22] и 7 см^3 [23]. Более низкий ОЯ у женщин азиатской популяции с СПКЯ по сравнению с европеоидами упоминался и ранее [24–26].

При сравнении пациенток с двумя критериями СПКЯ и контрольной группы европеоидной этниче-

ской принадлежности высокие значения чувствительности и специфичности определены при пороговом уровне КФЯ ≥ 12 , в то время как D. Dewailly и соавт. [19] и M.E. Lujan и соавт. [20] на аналогичной выборке предлагали ВГН для КФЯ на уровне ≥ 19 и ≥ 26 соответственно. Авторы обосновали свои результаты высокой чувствительностью современных ультразвуковых аппаратов и предполагали, что применение меньшего порога при оценке КФЯ приведёт к избыточной диагностике ПКЯ у молодых женщин с высоким овариальным резервом.

Наше исследование продемонстрировало высокую эффективность КФЯ как маркера ПКЯ и у женщин азиатской субпопуляции. Наилучший компромисс между чувствительностью и специфичностью был достигнут при пороге для КФЯ ≥ 11 , что согласуется с результатами оценки ВГН для КФЯ, полученными у азиаток другими исследователями: ≥ 10 [22], $> 11,25$ для молодых женщин до 35 лет и $> 10,75$ для старшей возрастной группы [27].

Для женщин смешанной этнической принадлежности по результатам нашего исследования ВГН для ОЯ составил $\geq 8 \text{ см}^3$, а для КФЯ ≥ 9 . Полученные данные являются уникальными, так как ранее подобные исследования в популяциях женщин смешанной (европеоидно-азиатской) этнической принадлежности не проводились.

Полученные значения можно объяснить включённым в исследование контингентом (малое количество молодых женщин 18–25 лет) со средним возрастом участниц в группе 18–35 лет $28,83 \pm 3,94$ года. При этом известно, что период самой быстрой потери фолликулов как у женщин с СПКЯ, так и у не имеющих СПКЯ приходится на возраст от 18 до 30 лет [28].

Сильные стороны исследования. В целом, учитывая высокие значения чувствительности и специфичности для определённых нами пороговых уровней объёма яичников и КАФ как в общей популяции,

так и в зависимости от этнической принадлежности, мы можем сделать вывод об удовлетворительной диагностической способности исследуемых переменных. Важным преимуществом нашего исследования является то, что все участницы были рекрутированы в неселективной мультиэтнической популяции женщин с сопоставимыми социально-демографическими характеристиками и проживающих в одинаковых географических условиях [12, 29]. Мы рассматриваем популяцию Восточной Сибири как идеальную модель для изучения особенностей поликистозной структуры яичников у европеоидов и азиатов с использованием этнически зависимых нормативных диапазонов андрогенов [30]. Ещё одним преимуществом является то, что измерение тестостерона для диагностики гиперандрогении в нашем исследовании проводилось с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС [31], при этом были использованы разработанные нами ранее популяционно-специфические нормативы для оценки гирсутизма.

Ограничения исследования. В нашей работе обследование пациенток проводилось с использованием ультразвукового оборудования среднего класса. В то же время ультразвуковые аппараты среднего класса являются наиболее часто эксплуатируемым оборудованием в практическом здравоохранении и наши данные максимально приближены к реалиям рутинной лечебной практики.

ВЫВОДЫ

Для дифференцированного подхода к выявлению поликистозной структуры яичников у женщин репродуктивного возраста различных этнических групп необходимо принимать во внимание разработанные нами нормативные значения: так, у европеоидов ПКЯ целесообразно диагностировать при объёме яичников 9 см^3 и/или КФЯ ≥ 12 ; у женщин азиатской популяции диагностически значимым является объём яичников 7 см^3 и/или КФЯ ≥ 11 , а для женщин смешанной этнической принадлежности – 8 см^3 и/или ≥ 9 соответственно. При оценке возрастных аспектов нами отмечено отсутствие статистически значимых различий верхних нормальных значений ОЯ и КФЯ у женщин в возрасте 18–34 и 35–44 лет во всех этнических группах.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 2004; 19(1): 41-47. doi: 10.1093/humrep/deh098
2. Dewailly D, Alebić M, Duhamel A, Stojanović N. Using cluster analysis to identify a homogeneous subpopulation of women with polycystic ovarian morphology in a population of non-hyperandrogenic women with regular menstrual cycles. *Hum Reprod.* 2014; 29(11): 2536-2543. doi: 10.1093/humrep/deu242
3. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2018; 89(3): 251-268. doi: 10.1111/cen.13795
4. Teede HJ, Tay CT, Laven J, Dokras A, Moran LJ, Piltonen TT, et al. Recommendations from the 2023 international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2023; 120(4): 767-793. doi: 10.1016/j.fertnstert.2023.07.025
5. Teede HJ, Norman RJ, Garad RM. A new evidence-based guideline for assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Med J Aust.* 2019; 210(6): 285-285.e1. doi: 10.5694/mja.2.50053
6. Chen X, Yang D, Mo Y, Li L, Chen Y, Huang Y. Prevalence of polycystic ovary syndrome in unselected women from southern China. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008; 139(1): 59-64. doi: 10.1016/j.ejogrb.2007.12.018
7. Köşüş N, Köşüş A, Turhan N, Kamalak Z. Do threshold values of ovarian volume and follicle number for diagnosing polycystic ovarian syndrome in Turkish women differ from western countries? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011; 154(2): 177-181. doi: 10.1016/j.ejogrb.2010.10.007
8. Han YS, Lee AR, Song HK, Choi JI, Kim JH, Kim MR, et al. Ovarian volume in Korean women with polycystic ovary syndrome and its related factors. *J Menopausal Med.* 2017; 23(1): 25-31. doi: 10.6118/jmm.2017.23.1.25
9. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, et al. The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: The complete task force report. *Fertil Steril.* 2009; 91(2): 456-488. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.06.035
10. Hsu MI. Changes in the PCOS phenotype with age. *Steroids.* 2013; 78(8): 761-766. doi: 10.1016/j.steroids.2013.04.005
11. Adams JM, Taylor AE, Crowley WF, Hall JE. Polycystic ovarian morphology with regular ovulatory cycles: Insights into the pathophysiology of polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(9): 4343-4350. doi: 10.1210/jc.2003-031600
12. Suturina L, Lizneva D, Danusevich I, Lazareva L, Belenkaya L, Nadeliaeva Ia, et al. The design, methodology, and recruitment rate for the Eastern Siberia PCOS Epidemiology & Phenotype (ES-PEP) Study. *Proceedings of the 41st Annual Meeting of the Androgen Excess & PCOS Society (Lorne, Victoria, Australia, 10–12.11.2016).* 2016: 76.
13. Аталян А.В., Колесникова Л.И., Колесников С.И., Гржибовский А.М., Сутурина Л.В. Информационная система REDCap для сбора и хранения данных популяционных биомедицинских исследований. *Экология человека.* 2019; 26(2): 52-59. [Atalyan VV, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Grjibovski AM, Suturina LV. Research electronic data capture (REDCap) for building and managing databases for population-based biomedical studies. *Human Ecology.* 2019; 26(2): 52-59. (In Russ.)]. doi: 10.33396/1728-0869-2019-2-52-59

14. Klein DA, Paradise SL, Reeder RM. Amenorrhea: A systematic approach to diagnosis and management. *Am Fam Physician*. 2019; 100(1): 39-48.
15. Yildiz BO, Bolour S, Woods K, Moore A, Azziz R. Visually scoring hirsutism. *Hum Reprod Update*. 2010; 16(1): 51-64. doi: 10.1093/humupd/dmp024
16. Rao P, Bhide P. Controversies in the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Ther Adv Reprod Health*. 2020; 14: 2633494120913032. doi: 10.1177/2633494120913032
17. Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach, polycystic ovary syndrome. In: Dunaif A, Dunaif AGJ, Haseltine F (eds). *Polycystic ovary syndrome*. Boston: Blackwell Scientific; 1992: 377-384.
18. Carmina E, Campagna AM, Fruszzetti F, Lobo RA. AMH measurement versus ovarian ultrasound in the diagnosis of polycystic ovary syndrome in different phenotypes. *Endocr Pract*. 2016; 22(3): 287-293. doi: 10.4158/EP15903.OR
19. Dewailly D, Gronier H, Poncelet E, Robin G, Leroy M, Pigny P, et al. Diagnosis of polycystic ovary syndrome (PCOS): Revisiting the threshold values of follicle count on ultrasound and of the serum AMH level for the definition of polycystic ovaries. *Hum Reprod*. 2011; 26(11): 3123-3129. doi: 10.1093/humrep/der297
20. Lujan ME, Jarrett BY, Brooks ED, Reines JK, Peppin AK, Muhn N, et al. Updated ultrasound criteria for polycystic ovary syndrome: reliable thresholds for elevated follicle population and ovarian volume. *Hum Reprod*. 2013; 28(5): 1361-1368. doi: 10.1093/humrep/det062
21. Le NSV, Le MT, Nguyen ND, Tran NQT, Nguyen QHV, Cao TN. A cross-sectional study on potential ovarian volume and related factors in women with polycystic ovary syndrome from infertile couples. *Int J Womens Health*. 2021; 13: 793-801. doi: 10.2147/IJWH.S329082
22. Chen Y, Li L, Chen X, Zhang Q, Wang W, Li Y, et al. Ovarian volume and follicle number in the diagnosis of polycystic ovary syndrome in Chinese women. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008; 32(5): 700-703. doi: 10.1002/uog.5393
23. Jonard S, Robert Y, Dewailly D. Revisiting the ovarian volume as a diagnostic criterion for polycystic ovaries. *Hum Reprod*. 2005; 20(10): 2893-2898. doi: 10.1093/humrep/dei159
24. Wongwananuruk T, Panichyawat N, Indhavivadhana S, Ratatanachaiyanont M, Angsuwathana S, Techatrasak K, et al. Accuracy of anti-Müllerian hormone and total follicles count to diagnose polycystic ovary syndrome in reproductive women. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2018; 57(4): 499-506. doi: 10.1016/j.tjog.2018.06.004
25. Welt CK, Gudmundsson JA, Arason G, Adams J, Palsdottir H, Gudlaugsdottir G, et al. Characterizing discrete subsets of polycystic ovary syndrome as defined by the Rotterdam criteria: The impact of weight on phenotype and metabolic features. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(12): 4842-4848. doi: 10.1210/jc.2006-1327
26. Dewailly D. Diagnostic criteria for PCOS: Is there a need for a rethink? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2016; 37: 5-11. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.03.009
27. Lie Fong S, Laven JSE, Duhamel A, Dewailly D. Polycystic ovarian morphology and the diagnosis of polycystic ovary syndrome: Redefining threshold levels for follicle count and serum anti-Müllerian hormone using cluster analysis. *Hum Reprod*. 2017; 32(8): 1723-1731. doi: 10.1093/humrep/dex226
28. Wisner A, Shalom-Paz E, Hyman JH, Sokal-Arnon T, Bantant N, Holzer H, et al. Age-related normogram for antral follicle count in women with polycystic ovary syndrome. *Reprod Biomed Online*. 2013; 27(4): 414-418. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.06.016
29. Suturina L. The epidemiology of polycystic ovary syndrome. In: Kovacs GT, Fauser B, Legro RS (eds). *Polycystic ovary syndrome; 3rd ed*. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2022: 21-28.
30. Suturina L, Lizneva D, Atalyan A, Lazareva L, Belskikh A, Bairova T, et al. Establishing normative values to determine the prevalence of biochemical hyperandrogenism in premenopausal women of different ethnicities from Eastern Siberia. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 13(1): 33. doi: 10.3390/diagnostics13010033
31. Сутурина Л.В., Бельских А.В., Шолохов Л.Ф., Рашидова М.А., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., и др. Опыт разработки и валидации метода определения тестостерона в сыворотке крови женщин репродуктивного возраста с использованием высокоэффективной жидкостной обращенно-фазовой хроматографии с tandemной масс-селективной детекцией аналита. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(6): 92-101. [Suturina LV, Belskikh AV, Sholokhov LF, Rashidova MA, Danusevich IN, Lazareva LM, et al. The experience in the development and validation of method for testosterone measurement in blood serum of premenopausal women using HPLC-MS/MS. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(6): 92-101. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.6.9

Сведения об авторах

Лазарева Людмила Михайловна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lirken_@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7662-8529>

Атalyan Алина Валерьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории социально-значимых проблем репродуктологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alinaa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>

Наделяева Яна Геннадьевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ianadoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5747-7315>

Данусевич Ирина Николаевна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: irinaemails@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

Беленькая Лилия Васильевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: Drblv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4904-3709>

Егорова Ирина Юрьевна – аспирант лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: egorovairina1994@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6847-9810>

Бабеева Наталья Игоревна – младший научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: miracle_909@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7604-6246>

Сутурина Лариса Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Information about the authors

Lyudmila M. Lazareva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lirken_@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7662-8529>

Alina V. Atalyan – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Socially Significant Problems of Reproduction, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alinaa@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>

Iana G. Nadeliaeva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: ianadoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5747-7315>

Irina N. Danusevich – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: irinaemails@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

Lilia V. Belenkaya – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: Drbly@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4904-3709>

Irina Yu. Egorova – Postgraduate at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: egorovairina1994@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6847-9810>

Natalia I. Babaeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: miracle_909@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7604-6246>

Larisa V. Suturina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

ФАКТОРЫ РИСКА СНИЖЕНИЯ ОВАРИАЛЬНОГО РЕЗЕРВА ЖЕНЩИН: АКТУАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Зотов С.В.¹,
Лихачева В.В.²,
Мотырева П.Ю.³,
Азарова О.В.⁴,
Айзикович Б.И.⁵

¹ ООО «ЦРТ-МЕД»

(630099, г. Новосибирск,
ул. Урицкого, 20, Россия)

² Новокузнецкий государственный
институт усовершенствования врачей –
филиал ФГБОУ ДПО «Российская
медицинская академия непрерывного
профессионального образования»
Минздрава России (654005,
г. Новокузнецк, просп. Строителей, 5,
Россия)

³ АО Медицинский центр
«Авиценна» (630099, г. Новосибирск,
ул. Коммунистическая, 17, Россия)

⁴ ООО «Эксперт» г. Новокузнецк (654041,
г. Новокузнецк, ул. Кутузова, 17А, Россия)

⁵ ФГАОУ ВО «Новосибирский
национальный исследовательский
государственный университет»
(630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Зотов Семён Вадимович,
e-mail: doczotov@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Овариальный резерв – основа женской фертильности. Основными маркерами овариального резерва являются уровень антимюллерова гормона и количество антральных фолликулов. Помимо естественной возрастной потери фолликулов, многие женщины сталкиваются с преждевременным снижением овариального резерва, связанным с множеством факторов. Причинами данного явления могут стать как различные заболевания, так и факторы внешней среды, образ жизни, социальные аспекты.

Целью настоящего обзора стало рассмотрение влияния внешних факторов на овариальный резерв и фертильность женщин. Проведён систематический анализ данных современной научной литературы, отечественных и зарубежных источников. В поиске были задействованы такие информационные ресурсы, как PubMed, MEDLINE, Science Direct, eLibrary, Scopus, Cyberleninka. Проведён подробный анализ влияния загрязнения окружающей среды, образа жизни (сон, питание, физические нагрузки), перенесённых операций, вредных привычек, ожирения, психологических и социальных факторов на овариальный резерв и репродуктивную функцию женщин. Отмечено существенное снижение овариального резерва при низком качестве сна, чрезмерных физических нагрузках, несбалансированной диете, обеднённой животными белками. Регулярное употребление алкоголя, курение табака и воздействие некоторых химических загрязнителей окружающей среды приводят к преждевременному апоптозу фолликулов и наступлению менопаузы. Циркадианная дизритмия, хронический стресс и ожирение могут приводить к нарушениям овариально-менструального цикла и развитию бесплодия у женщин. Перенесённые операции на придатках являются существенным фактором риска снижения овариального резерва. Для выяснения точных механизмов воздействия различных факторов на фертильность женщин необходимы дальнейшие популяционные исследования.

Ключевые слова: овариальный резерв, фолликулы, менопауза, фертильность, бесплодие, образ жизни, курение, экологические факторы

Статья поступила: 20.06.2023

Статья принята: 24.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Зотов С.В., Лихачева В.В., Мотырева П.Ю., Азарова О.В., Айзикович Б.И. Факторы риска снижения овариального резерва женщин: актуальное состояние проблемы. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 69-78. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.6

RISK FACTORS FOR DIMINISHED OVARIAN RESERVE IN WOMEN: CURRENT STATE OF THE PROBLEM

Zotov S.V.¹,
Likhacheva V.V.²,
Motyрева P.Yu.³,
Azarova O.V.⁴,
Ayzikovich B.I.⁵

¹ CRT-MED LLC

(Uritskogo str. 20, Novosibirsk 630099,
Russian Federation)

² Novokuznetsk State Institute

for Advanced Medical Education – Branch
Campus of the Russian Medical Academy
of Continuing Professional Education
(Stroiteley ave, 5, Novokuznetsk 654005,
Russian Federation)

³ "Avicenna" Medical Center JSC

(Kommunisticheskaya str. 17/1,
Novosibirsk 630099, Russian Federation)

⁴ Expert LLC of Novokuznetsk

(Kutuzova str. 17A, Novokuznetsk 654041,
Russian Federation)

⁵ Novosibirsk State University

(Pirogova str. 1, Novosibirsk 630090,
Russian Federation)

Corresponding author:

Semen V. Zotov,

e-mail: doczotov@gmail.com

ABSTRACT

Ovarian reserve is the basis of female fertility. The main markers of ovarian reserve are the level of anti-Mullerian hormone and the number of antral follicles. In addition to the natural age-related loss of follicles, many women experience a premature diminished ovarian reserve associated with a number of factors. This can be caused by both various diseases and environmental factors, lifestyle, and social aspects.

The aim of this review was to examine the influence of external factors on the ovarian reserve and women fertility. A systematic analysis of data from modern scientific literature, domestic and foreign sources was carried out. The search involved such resources as PubMed, MEDLINE, Science Direct, eLibrary, Scopus, Cyberleninka. A detailed analysis of the influence of environmental pollution, lifestyle (sleep, nutrition, physical activity), previous surgeries, bad habits, obesity, psychological and social factors on the ovarian reserve and reproductive function of women was carried out. Significantly diminished ovarian reserve was noted with low sleep quality, excessive physical activity, and an unbalanced diet poor with animal proteins. Regular consumption of alcohol, smoking and exposure to certain chemical environmental pollutants cause premature follicle apoptosis and the onset of menopause. Circadian dysrhythmia, chronic stress and obesity can lead to the ovarian menstrual cycle disorders and the development of infertility in women. Previous parovarium surgeries are a significant risk factor for diminished ovarian reserve. Further population-based studies are needed to determine the precise mechanisms of influence of various factors on female fertility.

Key words: ovarian reserve, follicles, menopause, fertility, infertility, lifestyle, smoking, environmental factors

Received: 20.06.2023

Accepted: 24.05.2024

Published: 15.07.2024

For citation: Zotov S.V., Likhacheva V.V., Motyрева P.Yu., Azarova O.V., Ayzikovich B.I. Risk factors for diminished ovarian reserve in women: Current state of the problem. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 69-78. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.6

ВВЕДЕНИЕ

По данным российских и международных ассоциаций репродуктологии и эмбриологии человека, за последние десятилетия среди супружеских пар увеличилась частота случаев бесплодия и при этом снизился средний возраст его проявления. На сегодняшний день бесплодие в паре – частая проблема среди молодых женщин и мужчин. Загрязнение окружающей среды, различные соматические заболевания, образ жизни, психологический стресс, социальные аспекты являются факторами, негативно влияющими на репродуктивную функцию. И если для мужчин возможно полное обновление пула сперматозоидов за относительно короткий срок, то для женщин воздействие на яйцеклетки в ряде случаев может быть необратимым и существенно сказываться на их способности к зачатию [1].

Продолжительность репродуктивной жизни у женщин начинается в период полового созревания и заканчивается в период менопаузы, после истощения запаса фолликулов в яичниках, формирующего овариальный резерв [1]. Овариальный резерв является основой женской фертильности. Для его оценки в клинической практике обычно используются такие показатели, как возраст женщины, количество антральных фолликулов (КАФ), уровень антимюллерова гормона (АМГ) и базальный уровень половых гормонов, включая фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон и эстрадиол [2].

Многочисленными исследованиями выявлен ряд определяющих факторов, которые могут оказывать негативное влияние на овариальный резерв и фертильность женщины, однако большинство факторов следует рассматривать в комплексе из-за их взаимодействия друг с другом и сложности интерпретации [2]. В настоящем обзоре подробно рассмотрены такие факторы риска снижения овариального резерва, как экологические, социальные, психологические факторы, образ жизни (сон, питание, вредные привычки, физические нагрузки), ожирение, перенесенные операции на органах малого таза. Для более подробного изучения влияния каждого из факторов необходимо проведение многоцентровых и популяционных научных исследований.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Всё больше данных эпидемиологических исследований и экспериментальных работ на животных моделях показывают, что воздействие ряда повсеместно распространенных экологически токсичных для репродуктивной системы химических веществ (RTEC, *reproductively toxic environmental chemicals*) может способствовать наступлению более ранней менопаузы и преждевременной недостаточности яичников. К таким веществам относятся свинец, ртуть, толуол, перхлораты, бисфенол А и некоторые фталаты, пестициды, перфторхимикаты, полихлорированные бифенилы и полибромированные дифенольные эфиры [3, 4].

Негативное воздействие токсических веществ на яичники может происходить тремя способами: нарушение функционирования эндокринной системы; индукция окислительного стресса; эпигенетические изменения [4, 5]. В зависимости от момента воздействия на онтогенез яичников влияние RTEC на функцию яичников может быть временным или постоянным. Данное влияние наносит наибольший вред пренатально, воздействуя на онтогенез яичников у плода женского пола в момент развития фолликулов, и сказывается на репродуктивной функции девочек, чьи матери подверглись влиянию RTEC во время беременности [6].

Токсические вещества из окружающей среды могут запускать образование реактивных форм кислорода, таких как свободные радикалы, ионы кислорода и перекись водорода, в клетках организма. Индукция окислительного стресса происходит при перенасыщении клеток активными формами кислорода (АФК), когда клеточные механизмы и эндогенные антиоксиданты, регулирующие уровень АФК, перегружены экзогенными активными формами кислорода. Имеются убедительные доказательства того, что АФК участвуют в инициации апоптоза антральных фолликулов [7]. Была подтверждена роль окислительного стресса в патогенезе преждевременной недостаточности яичников [7, 8].

Эпигенетические модификации могут возникать в результате воздействия загрязнителей окружающей среды на метилирование ДНК, которое может изменять функцию яичников. Так, например, бисфенол А, который используют при изготовлении пластика, может уничтожать метильные группы и подавлять ферменты, ответственные за метилирование ДНК [5].

В ряде научных работ показано влияние химических загрязнителей окружающей среды на любые стадии формирования фолликулов, а также на развитие яичников в целом. Обнаружены доказательства того, что воздействие RTEC во внутриутробном, неонатальном, предпубертатном периодах и даже во взрослом состоянии приводит к нарушению функционирования яичников и сокращению продолжительности репродуктивной функции самок грызунов [3].

Из-за сходства с естественными лигандами многие соединения окружающей среды обладают способностью связываться с рецепторами половых гормонов (хотя и с более низким сродством) и, таким образом, могут влиять либо на начальные стадии формирования овариального резерва во время развития плода, либо на сохранение овариального резерва у взрослых [9]. Воздействие химических веществ может негативно влиять на овариальный резерв через рецепторы арилуглеводорода или эстрогенов. Так, после связывания с таким экзогенным лигандом рецептор арилуглеводорода индуцирует синтез проапоптотических факторов, способствующих атрезии фолликулов.

Крупные международные организации, в том числе Эндокринологическое общество [10], Всемирная организация здравоохранения и Международная сеть по устранению загрязнителей [11], а также Международная федерация гинекологии и акушерства [12], констатируют

рост количества химических загрязнений в последние десятилетия и подчёркивают необходимость более подробного изучения химического воздействия на женскую репродуктивную систему. Так, например, в работе по изучению фертильности женщин, проживающих в бассейне Аральского моря, показано, что количество антральных фолликулов у них снижено по сравнению с женщинами того же возраста, проживающих в экологически более благоприятном регионе [13]. Осушение Аральского моря привело к увеличению уровней различных токсинов в почве, воде и воздухе, а именно таких веществ, как пестициды и тяжёлые металлы, которые способствуют развитию различных заболеваний среди местного населения. Данные перекрёстных исследований показывают, что воздействие определённых химических веществ окружающей среды может поставить под угрозу репродуктивное здоровье женщины и в некоторых случаях коррелировать с более ранним наступлением менопаузы [3]. Однако у человека неблагоприятные последствия воздействия химических веществ обычно диагностируются спустя несколько лет либо десятков лет, что затрудняет определение связи между воздействием RTEC и репродуктивным здоровьем [6].

Необходимы дополнительные эпидемиологические и экспериментальные исследования для определения прямых и косвенных эффектов, вызванных воздействием химических загрязнителей окружающей среды на функцию яичников, и более подробного изучения механизмов их действия.

ОБРАЗ ЖИЗНИ

Сон, питание и физические нагрузки. В последнее время всё больше внимания уделяется влиянию образа жизни женщины, рациона питания, режима сна и бодрствования, физических нагрузок на репродуктивную функцию женщин. Сегодня всё больше женщин увлекаются различными диетами, лечебным голоданием, экстремальными физическими нагрузками, выбирают наравне с мужчинами «сложные профессии» со сменными графиками работы и высоким уровнем стресса. Исследователями было показано, что интенсивные физические упражнения и низкое качество сна оказывают значительное негативное влияние на количество антральных фолликулов у женщин в возрасте от 31 до 36 лет [14]. Чрезмерные физические нагрузки приводят к нарушениям менструального цикла, снижению частоты овуляции, нарушению развития эндометрия, а в ряде случаев – к аменорее и субфертильности. Вероятной причиной этих состояний является дисрегуляция гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси вследствие снижения системных стимулирующих сигналов высвобождения гонадотропин-рилизинг-гормона и нарушения секреции гонадотропинов [15].

Приверженность определённому типу питания в некоторых случаях также может влиять на овариальный резерв. Так, было показано, что переход на исключительно растительную диету без животных компонентов, со-

державшую сахар и не дополненную фолиевой кислотой и витамином B12, связан с риском раннего наступления менопаузы, в то время как «здоровая» растительная диета, дополнительно обогащённая комплексом витаминов, не влияла на сроки наступления менопаузы [16]. В другом исследовании авторы делают вывод, что отказ от вегетарианства способствует более длительному сохранению фертильности [17]. На выборке более 2000 женщин была обнаружена взаимосвязь между регулярным употреблением молочных продуктов и снижением риска ранней менопаузы [18]. Сегодня это приобретает особое значение, так как среди современных женщин широко распространена приверженность к веганству, влекущая за собой отказ от молочных продуктов.

Длительное голодание также может негативно сказываться на репродуктивной функции женщин. Так, нарушение режима питания приводит к снижению амплитуды пульсовой секреции тиреотропного гормона: снижению его базальной концентрации в сыворотке крови, а также к уменьшению пика его уровня ночью [19], что в свою очередь приводит к дисфункции щитовидной железы и опосредованно отражается на женской фертильности.

Расхождение биологических часов с режимом сна и бодрствования в результате длительных и частых перелётов, посменного режима работы, стрессовых ситуаций лежит в основе феномена циркадианной дизритмии [20]. Циркадианная дизритмия ассоциирована с более высоким индексом массы тела (ИМТ), ожирением [21], повышенным риском развития метаболического синдрома и сахарного диабета 2-го типа [22]. Выработка тиреотропного гормона также ассоциирована и с циркадианными ритмами. Так, в работе, включающей обследование более 5 тысяч пациентов, был обнаружен повышенный риск субклинического гипертиреоза у малоспящих (менее 7 часов в сутки) пациентов, в отличие от людей, спящих более 8 часов в сутки [23]. А гипотиреоз в свою очередь нередко является причиной эндокринного бесплодия, так как сопровождается повышением уровня пролактина, ановуляторными менструальными циклами, дефектами лютеиновой фазы и изменением уровня половых гормонов [24, 25].

Циркадианная дизритмия может оказывать и прямое влияние на секрецию репродуктивных гормонов, приводя к ановуляции, а также в ряде случаев сочетается с инсулинорезистентностью [26].

Курение. По данным множества научных исследований, курение табака имеет ряд последствий, потенциально вредных для репродуктивной функции женщины, так как может оказывать неблагоприятное воздействие на функцию яичников, вызывать мутации половых клеток и повышать риск ранних выкидышей и неблагоприятных исходов циклов вспомогательных репродуктивных технологий [27].

Показано, что табачные токсины оказывают пагубное воздействие на пул фолликулов и увеличивают скорость атрофии и атрезии фолликулов, что приводит к снижению их количества, изменениям уровня половых гормонов и в конечном счёте – к снижению фертильно-

сти [2, 28]. Было обнаружено, что курение сопровождается снижением концентрации эстрадиола и эстриола, повышением уровня тестостерона и тенденцией к повышению уровня ФСГ в сыворотке крови [29].

Другие негативные эффекты табачных токсинов включают повышенную скорость апоптоза, а также некроз в различных тканях организма человека и усиление апоптоза в первичных зародышевых клетках, дифференцированных из стволовых клеток человека *in vitro* [30]. Эти эффекты могут также проявляться в виде увеличения скорости апоптоза фолликулов или дисфункции яичников. Действительно, полициклические ароматические углеводороды сигаретного дыма токсичны для фолликулов, что было доказано как на животных моделях, так и многочисленными исследованиями на людях [2, 28].

Курение оказывает влияние на увеличение скорости потери фолликулов у женщин европеоидной расы. У 14 620 женщин среднего возраста в исследовании «Здоровье женщин в разных странах» курение было связано с более ранним возрастом наступления менопаузы (на 0,3–1,2 года раньше), но дозозависимого эффекта от количества выкуриваемых сигарет в день не наблюдалось [28]. Были получены данные, свидетельствующие о более высокой частоте проявления синдрома раннего истощения яичников, снижении процента оплодотворения и имплантации, частоты наступления беременности и рождения здорового ребёнка в программах вспомогательных репродуктивных технологий у курящих женщин [31, 32].

Среди женщин репродуктивного возраста, использующих популярные сегодня электронные сигареты, были выявлены более высокие уровни нескольких показателей воздействия токсинов (включая метаболиты никотина, канцерогенный биомаркер табака (NNAL, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol), свинец и летучие органические соединения) [33]. В данной работе было показано, что исключительное использование электронных сигарет может снизить воздействие некоторых токсинов по сравнению с курением обычных сигарет, но электронные сигареты приводят к большему воздействию токсических веществ по сравнению с полным отказом от курения. Даже сниженный уровень токсинов табака у пользователей электронных сигарет может привести к потенциально опасным последствиям для репродуктивного здоровья [33, 34].

Алкоголь также относится к одному из факторов риска снижения женской фертильности. Биологические механизмы того, почему алкоголь может негативно влиять на репродуктивную функцию, до сих пор недостаточно изучены. Одна из гипотез состоит в том, что алкоголь может снижать способность к зачатию за счёт изменения концентрации эндогенных гормонов [35]. Другая теория предполагает прямое негативное влияние алкоголя на созревание яйцеклетки, раннее развитие бластоцисты и имплантацию [36].

Группой исследователей из Дании на когорте более 6 тыс. женщин показано, что регулярное употребление 14 порций алкоголя в неделю связано с повышением концентрации эстрогенов, что снижает секрецию ФСГ,

в результате чего подавляются фолликулогенез и овуляция, а также количество биодоступных форм эстрогенов. «Порцию» алкоголя в данной работе считали в зависимости от его крепости (пиво – 330 мл, вино – 120 мл, крепкие напитки – 20 мл) [35].

Потребление алкоголя сочетается с потреблением других токсинов, присутствующих в алкогольных напитках, таких как этилкарбаматы, тетра-бета-карболины или пищевые добавки, которые оказывают токсическое воздействие на ооциты, в том числе через развитие оксидативного стресса, ускоряющего апоптоз фолликулов [36]. На сегодняшний день исследователи сходятся во мнении о негативном влиянии употребления алкоголя на репродуктивную функцию женщин.

Данные однофакторного и многофакторного анализа [2], проведённого в Китае на когорте 1513 женщин, показали значительную отрицательную корреляцию между употреблением алкоголя и уровнем АМГ как в возрастных группах 20–30 лет, так и в возрастных группах 31–36 лет. В 2017 г. группой учёных из Китая на основе 19 исследований с общим числом более 98 тыс. женщин был проведён метаанализ «доза-реакция» и была установлена линейная дозозависимая связь между снижением способности к спонтанному зачатию и увеличением дозы употребляемых алкогольных напитков в пересчёте на каждые 12,5 г этанола в сутки (относительный риск – 0,98; 95%-й доверительный интервал: 0,97–0,99) [36]. Данные этих исследований демонстрируют, что отказ от алкоголя важен для сохранения репродуктивной функции, что особенно актуально для молодых женщин в возрасте до 36 лет [2].

ОЖИРЕНИЕ

Ожирение – это заболевание, которое тесно связано с образом жизни человека и в настоящее время принимает всё более глобальные масштабы. На сегодняшний день от избыточной массы тела и ожирения страдают более 2 млрд человек во всём мире [37]. Ожирение оказывает негативное влияние на репродуктивную функцию женщины, связанное с изменениями в регуляции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси, снижением качества яйцеклеток и нарушением физиологических процессов эндометрия, что было доказано на когорте более 47 тыс. женщин из Дании и подтверждается данными российских учёных [38, 39].

Ожирение приводит к нарушениям овариально-менструального цикла и росту числа ановуляторных циклов. Доказано, что снижение фертильности у больных ожирением может быть, в частности, связано со снижением овариального резерва [40].

В зависимости от степени ожирения у пациенток наблюдают прогрессивное снижение параметров овариального резерва: уровня концентрации АМГ, уменьшение объёма яичников и количества антральных фолликулов, параллельно с ростом сывороточной концентрации тестостерона [39, 40]. В других исследованиях было показано, что у женщин репродуктивного возраста с аб-

доминантным типом ожирения на фоне инсулинорезистентности снижается овариальный резерв и ускоряются процессы старения репродуктивной системы [41, 42]. Некоторые исследователи наблюдали обратную корреляцию уровня АМГ и ИМТ, в том числе при синдроме поликистозных яичников, который также часто ассоциирован с бесплодием, что было показано на выборке 489 женщин с бесплодием, обследованных в США [43].

Интересным представляется тот факт, что индекс массы тела в позднем подростковом возрасте является важным прогностическим фактором фертильности в репродуктивном периоде: так, женщинам в рамках Исследования здоровья медсестёр, проведённого в Бостоне, США на когорте 1950 человек [44], которые имели недостаточный вес в 18 лет ($\text{ИМТ} < 18,5 \text{ кг/м}^2$), требовалось в среднем на 25 % больше времени для получения беременности, чем женщинам с нормальным весом в подростковом возрасте. Это позволяет предположить, что препубертатный период является критическим временем для программирования реализации репродуктивной функции [15]. Для более подробного изучения роли индекса массы тела в снижении овариального резерва необходимы крупные рандомизированные многоцентровые клинические исследования, включающие женщин различного возраста и расовой принадлежности и комплексно оценивающие влияние сопутствующих факторов.

ПОЗДНЕЕ ПЛАНИРОВАНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Одним из основных факторов, влияющих на овариальный резерв, является возраст. На сегодняшний день во всём мире наблюдается тенденция к увеличению возраста первородящих женщин. В России с 1990 г. по настоящее время средний возраст матери на момент рождения первого ребёнка вырос с 22 до 26 лет [45]; а в США за последние 30 лет доля рожениц старше 35 лет выросла с 8 % до 18 % [46]. С возрастом фертильность женщин снижается, и оптимальным для рождения первого ребёнка является возрастной промежуток от 20 до 30 лет, тогда как после 35 лет снижается способность к спонтанному зачатию, при этом возрастает риск рождения ребёнка с врождёнными пороками развития или хромосомной патологией [1].

С другой стороны, социальные, культурные и экономические факторы, применение контрацепции и возможности вспомогательных репродуктивных технологий формируют в обществе тенденцию к планированию беременности в возрасте 35 лет и старше [47]. В исследовании, проведённом в Испании на выборке 326 женщин, было выявлено, что женщины, которые состояли в стабильных отношениях, становились матерями в более старшем возрасте ($31,83 \pm 0,29$ года), чем незамужние. Среднее время, необходимое для наступления беременности, возрастало с увеличением возраста матери и составило в среднем 24 месяца для женщин в возрасте около 35 лет по сравнению с 3 месяцами и менее для женщин в возрасте около 29 лет. Женщины 35 лет

и старше чаще нуждались в медицинской помощи для наступления беременности [47]. При этом возрастное снижение овариального резерва в сочетании с сопутствующими заболеваниями (ожирение, сахарный диабет и т. д.) зачастую приводило к тому, что к моменту планирования беременности женщина имеет всё меньше шансов на спонтанное зачатие [1, 46].

ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ И СТРЕСС

К факторам, оказывающим неблагоприятное воздействие на функцию эндокринной системы, относится хронический стресс. Индивидуальное восприятие повышенных физических и психических нагрузок может влиять на регуляторную функцию через рост уровня кортикостероидных гормонов, а те в свою очередь – на функционирование гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси [48].

В 2015 г. было опубликовано экспериментальное исследование на животных моделях, которое доказывает, что вызванные стрессом изменения нейроэндокринных и иммунных реакций приводят к преждевременной недостаточности яичников и ранней менопаузе [49]. Последнее исследование китайских учёных вызвало большой резонанс: на животных моделях было показано, что продолжительный трёхнедельный стресс последовательно снижал концентрацию АМГ и эстрадиола в плазме крови, индуцировал потерю примордиальных и преантральных фолликулов, увеличивал апоптоз гранулёзных клеток в растущих фолликулах и в конечном итоге уменьшал размер помёта у крыс. Основываясь на этих результатах, учёные предполагают, что у людей хронический психологический стресс также вызывает потерю овариального резерва за счёт ускоренной активации примордиальных фолликулов и разрушения растущих фолликулов и приводит к истощению яичников и снижению фертильности [50].

Данными некоторых популяционных исследований было показано, что выявление бесплодия в семье само по себе является стрессовым фактором и может приводить к депрессии. По данным литературы, бесплодные мужчины и женщины воспринимаются обществом как неполноценные, социально неприспособленные, а негативное социальное отношение усугубляет их бедственное положение. По данным исследователей из Индии, как у мужчин, так и у женщин такие факторы, как слабая поддержка супруга, финансовые ограничения и социальная дезадаптация в первые годы брака сами по себе являются стрессовыми факторами [51]. Таким образом, пациенты попадают в «замкнутый круг», когда бесплодие вызывает стресс, усугубляющий течение болезни.

При исследовании эмоционального состояния используют шкалу оценки позитивного и негативного аффекта [52]. Так, высокий уровень позитивного аффекта определяют как состояние приятной вовлечённости, высокой энергичности и полной концентрации в противовес унынию и вялости. При исследовании женской

фертильности и стресса на выборке более 1000 женщин из США было показано, что у женщин с низким уровнем позитивного аффекта может наблюдаться ускоренное снижение КАФ, и, напротив, высокий позитивный аффект может быть защитным фактором, смягчающим негативное влияние психологического стресса на количество антральных фолликулов [53].

ОПЕРАЦИИ НА ОРГАНАХ МАЛОГО ТАЗА

Операции на органах малого таза оказывают выраженное негативное влияние на состояние овариального резерва, поскольку при хирургическом вмешательстве уносится часть яичниковой ткани, а также нарушается кровоснабжение репродуктивных органов. Проведённый в Китае на когорте 8323 женщин однофакторный и многофакторный анализ подтвердил, что операции на придатках оказывают значительное негативное влияние на такие показатели овариального резерва, как КАФ и АМГ, у женщин в возрасте 20–30 и 31–36 лет [42].

Операции на придатках приводят к нарушению кровоснабжения яичников и созреванию антральных фолликулов, а удаление ткани яичника при энуклеации доброкачественных и злокачественных новообразований яичника – к уменьшению количества коркового вещества яичника и, как следствие, к снижению овариального резерва [54]. Многие исследователи связывают основное травмирующее воздействие на яичник с методом биполярной коагуляции, часто применяемым при хирургических вмешательствах, однако в работе корейских исследователей на группе 125 пациенток [55] было показано, что уровень антимюллерова гормона снижается после операций на придатках независимо от метода, используемого при проведении хирургического гемостаза. Отмечают также, что повторные вмешательства на яичниках существенно более травматичны для овариального резерва, чем первичные [56], а послеоперационное снижение АМГ происходит значительно интенсивнее при исходно сниженных показателях этого гормона. Это следует учитывать при консультировании и планировании оперативного вмешательства на придатках для женщин, планирующих деторождение.

При этом хирургические вмешательства на матке не имеют неблагоприятных последствий для овариального резерва; количество антральных фолликулов или уровень антимюллерова гормона не изменяются после миомэктомии либо других операций на матке [57].

Таким образом, при планировании оперативного вмешательства на придатках матки у женщин репродуктивного возраста необходимо провести тщательную оценку овариального резерва, а также обсудить возможные способы сохранения фертильности, например, при проведении стимуляции суперовуляции и криоконсервации ооцитов до операции, либо альтернативные способы оперативного лечения, такие как редукционная терапия эндометриоидных кист яичников, вместо их резекции, перед вступлением в программы экстракорпорального оплодотворения [58]. Однако, ратуя

за сохранение овариального резерва каждой женщины репродуктивного возраста, не следует упускать из внимания и онкологическую насторожённость, то есть в каждом конкретном случае использовать индивидуальный подход.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Репродуктивная система женщины – тонкий механизм, который подвержен влиянию множества факторов. Изменения на любом этапе гаметогенеза могут негативно сказываться на способности к зачатию. Жизнь в современном мире, экологические проблемы, социальные поведенческие тренды, психологические факторы накладывают определённый отпечаток на детородную функцию в целом и овариальный резерв в частности. Хотя женская фертильность обладает определённой способностью адаптироваться к новому образу жизни, загрязнению окружающей среды, социальному поведению и другим факторам, следует серьёзно относиться к возрастным факторам риска, хирургическим вмешательствам на придатках, интенсивным физическим нагрузкам, нормализации режима труда и отдыха, а также к употреблению токсинов. Научные исследования показывают, что женская фертильность с возрастом более восприимчива к воздействию внешних факторов [2].

К путям решения проблемы риска снижения овариального резерва можно отнести проведение бесед, просвещение и грамотное проспективное консультирование девочек-подростков и женщин молодого репродуктивного возраста, которое может предотвратить негативное влияние ряда факторов и скорректировать образ жизни и репродуктивные планы женщин как в нашей стране, так и во всём мире. И если влияние экологических факторов не всегда представляется возможным выявить и вовремя скорректировать, то минимизировать воздействие токсинов табака и алкоголя является возможным для женщин, стремящихся к рождению здорового ребёнка.

Широкие современные возможности «отложенного деторождения», связанные с криоконсервацией ооцитов, эмбрионов и ткани яичника, могут частично решить вопрос возрастной потери овариального резерва и поздней реализации репродуктивных планов женщины.

Взвешенный подход к выбору метода, объёма и сроков оперативных вмешательств на придатках матки, составление корректного плана ведения пациенток совместно с хирургом-гинекологом и репродуктологом позволят минимизировать последствия этих операций относительно фертильности пациенток.

Отказ от вредных привычек, выбор в пользу здорового образа жизни, стабилизация режима сна и бодрствования, соблюдение регулярных умеренных физических нагрузок и сбалансированного питания – основа нормального функционирования гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы, а значит – обеспечение долгого сохранения нормальной репродуктивной функции женщин.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Delbaere I, Verbiest S, Tydén T. Knowledge about the impact of age on fertility: A brief review. *Ups J Med Sci*. 2020; 125(2): 167-174. doi: 10.1080/03009734.2019.1707913
2. Wang Y, Yuan Y, Meng D, Liu X, Gao Y, Wang F, et al. Effects of environmental, social and surgical factors on ovarian reserve: Implications for age-related female fertility. *Int J Gynaecol Obstet*. 2021; 154(3): 451-458. doi: 10.1002/ijgo.13567
3. Ge W, Li L, Dyce PW, De Felici M, Shen W. Establishment and depletion of the ovarian reserve: Physiology and impact of environmental chemicals. *Cell Mol Life Sci*. 2019; 76(9): 1729-1746. doi: 10.1007/s00018-019-03028-1
4. Sutton P, Woodruff TJ, Perron J, Stotland N, Conry JA, Miller MD, et al. Toxic environmental chemicals: The role of reproductive health professionals in preventing harmful exposures. *Am J Obstet Gynecol*. 2012; 207(3): 164-173. doi: 10.1016/j.ajog.2012.01.034
5. Vabre P, Gatimel N, Moreau J, Gayraud V, Picard-Hagen N, Parinaud J, et al. Environmental pollutants, a possible etiology for premature ovarian insufficiency: A narrative review of animal and human data. *Environ Health*. 2017; 16(1): 37. doi: 10.1186/s12940-017-0242-4
6. Sharara F, Seifer D, Flaws J. Environmental toxicants and female reproduction. *Fertil Steril*. 1998; 70(4): 613-622. doi: 10.1016/S0015-0282(98)00253-2
7. Luderer U. Ovarian toxicity from reactive oxygen species. *Vitam Horm*. 2014; 94: 99-127. doi: 10.1016/B978-0-12-800095-3.00004-3
8. Tokmak A, Yildirim G, Sarikaya E, Cinar M, Bogdaycioglu N, Yilmaz FM. Increased oxidative stress markers may be a promising indicator of risk for primary ovarian insufficiency: A cross-sectional case control study. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2015; 37: 411-416. doi: 10.1590/S0100-720320150005397
9. Richardson MC, Guo M, Fauser BC, Macklon NS. Environmental and developmental origins of ovarian reserve. *Hum Reprod Update*. 2014; 20(3): 353-369. doi: 10.1093/humupd/dmt057
10. Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, et al. EDC-2: The Endocrine Society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals. *Endocr Rev*. 2015; 36: E1-E150. doi: 10.1210/er.2015-1093
11. Bergman A, Heindel J, Jobling S, Kidd K, Zoeller RT. State of the science of endocrine disrupting chemicals, 2012. *Toxicol Lett*. 2013; 211(Suppl): S3. doi: 10.1016/j.toxlet.2012.03.020
12. di Renzo GC, Conry JA, Blake J, Defrancesco MS, Denicola N, Martin JN, et al. International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) opinion on reproductive health impacts of exposure to toxic environmental chemicals. *Int J Gynaecol Obstet*. 2015; 131: 219-225. doi: 10.1016/j.ijgo.2015.09.002
13. Журабекова Г.А., Балмагамбетова А.Д., Жумагулова С.С., Кушанова А.М., Абделазим И.А. Маркеры овариального резерва женщин, проживающих в зоне Аральского моря. *West Kazakhstan Medical Journal*. 2015; 4(48): 33-37. [Zhurabekova GA, Balmagambetova AD, Zhumagulova SS, Kusanova AM, Abdelazim IA. Markers of the ovarian reserve of women living in the Aral

- Sea zone. *West Kazakhstan Medical Journal*. 2015; 4(48): 33-37. (In Russ.).]
14. Bedrick BS, Broughton DE, Schulte M, Boots CE, Eskew AM, Jungheim ES. Physical activity is negatively associated with antral follicle count. *Fertil Steril*. 2017; 107: E32-E33. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.02.061
15. Hart RJ. Physiological aspects of female fertility: Role of the environment, modern lifestyle, and genetics. *Physiol Rev*. 2016; 96(3): 873-909. doi: 10.1152/physrev.00023.2015
16. Grisotto G, Langton CR, Li Y, Bertone-Johnson ER, Baden MY, Franco OH, et al. Association of plant-based diet and early onset of natural menopause. *Menopause*. 2022; 29(7): 861-867. doi: 10.1097/GME.0000000000001985
17. Morris DH, Jones ME, Schoemaker MJ, McFadden E, Ashworth A, Swerdlow AJ. Body mass index, exercise, and other lifestyle factors in relation to age at natural menopause: Analyses from the breakthrough generations study. *Am J Epidemiol*. 2012; 175(10): 998-1005. doi: 10.1093/aje/kwr447
18. Purdue-Smithe AC, Whitcomb BW, Manson JE, Hankinson SE, Rosner BA, Troy LM, et al. A prospective study of dairy-food intake and early menopause. *Am J Epidemiol*. 2019; 188(1): 188-196. doi: 10.1093/aje/kwy212
19. Romijn JA, Adriaanse R, Brabant G, Prank K, Endert E, Wiersinga WM. Pulsatile secretion of thyrotropin during fasting: A decrease of thyrotropin pulse amplitude. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990; 70: 1631-1636. doi: 10.1210/jcem-70-6-1631
20. Венгржиновская О.И., Фадеева М.И. Ассоциация циркадианной дизритмии с возникновением метаболических расстройств. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки*. 2021; 4(2): 75-80. [Vengrzhinovskaya OI, Fadeeva MI. Association of circadian dysrhythmia with the genesis of metabolic disorders. *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: Natural and Technical Sciences*. 2021; 4(2): 75-80. (In Russ.).] doi: 10.37882/2223-2966.2021.04-2.02
21. Lee A, Ader M, Bray GA, Bergman RN. Diurnal variation in glucose tolerance. Cyclic suppression of insulin action and insulin secretion in normal-weight, but not obese, subjects. *Diabetes*. 1992; 41(6): 750-759. doi: 10.2337/diab.41.6.750
22. Anothaisintawee T, Lertrattananon D, Thamakaion S. Later chronotype is associated with higher hemoglobin A1c in prediabetes patients. *Chronobiol Int*. 2017; 34: 393-402. doi: 10.1080/07420528.2017.1279624
23. Kim W, Lee J, Ha J, Jo K, Lim DJ, Lee JM, et al. Association between sleep duration and subclinical thyroid dysfunction based on nationally representative data. *J Clin Med*. 2019; 8(11): 2010. doi: 10.3390/jcm8112010
24. Сметник А.А., Сазонова А.И. Влияние щитовидной железы и ее патологии на репродуктивную функцию женщин. *Акушерство и гинекология*. 2019; 3: 46-52. [Smetnik AA, Sazonova AI. The impact of the thyroid and its disease on female reproductive function. *Obstetrics and Gynecology*. 2019; 3: 46-52. (In Russ.).] doi: 10.18565/aig.2019.3.46-52
25. Koyyada A, Orsu P. Role of hypothyroidism and associated pathways in pregnancy and infertility: Clinical insights. *Tzu Chi Med J*. 2020; 32(4): 312-317. doi: 10.4103/tcmj.tcmj_255_19
26. Kloss JD, Perlis ML, Zamzow JA, Culnan EJ, Gracia CR. Sleep, sleep disturbance, and fertility in women. *Sleep Med Rev*. 2015; 22: 78-87. doi: 10.1016/j.smrv.2014.10.005

27. Penzias A, Bendikson K, Butts S. Smoking and infertility: A committee opinion. *Fertil Steril*. 2018; 110(4): 611-618. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.06.016
28. Schuh-Huerta SM, Johnson NA, Rosen MP, Sternfeld B, Cedars MI, Reijo Pera RA. Genetic variants and environmental factors associated with hormonal markers of ovarian reserve in Caucasian and African American women. *Hum Reprod*. 2012; 27(2): 594-608. doi: 10.1093/humrep/der391
29. Soldin OP, Makambi KH, Soldin SJ, O'Mara DM. Steroid hormone levels associated with passive and active smoking. *Steroids*. 2011; 76: 653-659. doi: 10.1016/j.steroids.2011.02.042
30. Kee K, Flores M, Cedars MI, Reijo Pera RA. Human primordial germ cell formation is diminished by exposure to environmental toxicants acting through the AHR signaling pathway. *Toxicol Sci*. 2010; 117: 218-224. doi: 10.1093/toxsci/kfq179
31. Айзикович Б.И., Айзикович И.В., Верба О.Ю., Зотов С.В., Медведева И.В. Исходы ВРТ у женщин, страдающих табакизмом. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2012; (2): 69. [Aizikovitch BI, Aizikovitch IV, Verba OYu, Zotov SV, Medvedeva IV. Outcomes of ART in women suffering from tobacco addiction. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2012; (2): 69. (In Russ.)].
32. Айзикович И.В., Айзикович Б.И., Зотов С.В., Медведева И.В. Влияние курения женщин на качество ооцитов и исходы вспомогательных репродуктивных технологий. *Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2012; 10(2): 165-168. [Aizikovitch IV, Aizikovitch BI, Zotov SV, Medvedeva IV. The influence of women smoking on the quality of oocytes and results of IVF methods. *Vestnik of Novosibirsk State University. Series: Biology, Clinical Medicine*. 2012; 10(2): 165-168. (In Russ.)].
33. Perez MF, Mead EL, Atuegwu NC, Mortensen EM, Goniewicz M, Oncken C. Biomarkers of toxicant exposure and inflammation among women of reproductive age who use electronic or conventional cigarettes. *J Womens Health (Larchmt)*. 2021; 30(4): 539-550. doi: 10.1089/jwh.2019.8075
34. Dai H, Benowitz NL, Achutan C, Farazi PA, Degarege A, Khan AS. Exposure to toxicants associated with use and transitions between cigarettes, e-cigarettes, and no tobacco. *JAMA Netw Open*. 2022; 5(2): e2147891. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.47891
35. Mikkelsen EM, Riis AH, Wise LA, Hatch EE, Rothman KJ, Cueto HT, et al. Alcohol consumption and fecundability: Prospective Danish cohort study. *BMJ*. 2016; 354: i4262. doi: 10.1136/bmj.i4262
36. Fan D, Liu LI, Xia Q. Female alcohol consumption and fecundability: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 13815. doi: 10.1038/s41598-017-14261-8
37. Ng M, Fleming T, Robinson M. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014; 384(9945): 766-781. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60460-8
38. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Nohr EA. Subfecundity in overweight and obese couples. *Hum Reprod*. 2007; 22(6): 1634-1637. doi: 10.1093/humrep/dem035
39. Григорян О.Р., Михеев Р.К., Андреева Е.Н., Дедов И.И. Овариальный резерв у женщин с ожирением. *Ожирение и метаболизм*. 2019; 16(3): 69-75. [Grigoryan OR, Mikheev RK, Andreeva EN, Dedov II. Ovarian reserve in women with obesity. *Obesity and Metabolism*. 2019; 16(3): 69-75. (In Russ.)]. doi: 10.14341/omet9862
40. Bellver J, Ayllón Y, Ferrando M. Female obesity impairs *in vitro* fertilization outcome without affecting embryo quality. *Fertil Steril*. 2010; 93(2): 447-454. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.12.032
41. Дурманова А.К., Отарбаев Н.К., Кайырлыкызы А., Жангазиева К.Х., Ибраева Ж.Н., Доненбаева Г.Б., и др. Овариальный резерв яичников и содержание адипокинов у женщин репродуктивного возраста с ожирением. *Терапевтический архив*. 2016; 88(10): 46-50. [Durmanova AK, Otarbayev NK, Kairlykyzy A, Zhangazieva KK, Ibrayeva ZN, Donenbayeva GB, et al. Ovarian reserve and adipokine levels in reproductive-aged obese women. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2016; 88(10): 46-50. (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh2016881046-5
42. Wang Y, Wu L, Yang Z, Xu R, Duan Y, Lin J, et al. Association of body mass index with serum anti-Müllerian hormone and inhibin B levels among 8323 women attending a reproductive medical center: A cross-sectional study. *Endocrine*. 2022; 75(1): 284-292. doi: 10.1007/s12020-021-02839-2
43. Kriseman M, Mills C, Kovanci E, Sangi-Hagheykar H, Gibbons W. Antimüllerian hormone levels are inversely associated with body mass index (BMI) in women with polycystic ovary syndrome. *J Assist Reprod Genet*. 2015; 32(9): 1313-1316. doi: 10.1007/s10815-015-0540-0
44. Gaskins AJ, Rich-Edwards JW, Missmer SA, Rosner B, Chavarro JE. Association of fecundity with changes in adult female weight. *Obstet Gynecol*. 2015; 126: 850-858. doi: 10.1097/AOG.0000000000001030
45. Росстат. *Демографический ежегодник России*. 2021. [Rosstat. *Demographic yearbook of Russia*. 2021. (In Russ.)]. URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13207> [дата доступа: 21.08.2022].
46. Martin JA, Hamilton BE, Osterman M, Driscoll AK. Births: Final data for 2019. National vital statistics reports: From the Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics. *Nat Vital Stat Syst*. 2021; 70(2): 1-51.
47. Molina-García L, Hidalgo-Ruiz M, Cocera-Ruiz EM, Conde-Puertas E, Delgado-Rodríguez M, Martínez-Galiano JM. The delay of motherhood: Reasons, determinants, time used to achieve pregnancy, and maternal anxiety level. *PLoS One*. 2019; 14(12): e0227063. doi: 10.1371/journal.pone.0227063
48. Panay N, Kalu E. Management of premature ovarian failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2009; 23(1): 129-140. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2008.10.008
49. Huang H, Zhao J, Jiang L, Xie Y, Xia Y, Lv R, et al. Paeoniflorin improves menopause depression in ovariectomized rats under chronic unpredictable mild stress. *Int J Clin Experim Med*. 2015; 8(4): 5103-5111.
50. Xi W, Mao H, Cui Z, Yao H, Shi R, Gao Y. Scream sound-induced chronic psychological stress results in diminished ovarian reserve in adult female rat. *Endocrinol*. 2022; 163(6): bqac042. doi: 10.1210/endocr/bqac04
51. Patel A, Sharma P, Kumar P, Binu VS. Sociocultural determinants of infertility stress in patients undergoing fertility treatments. *J Human Reprod Sci*. 2018; 11(2): 172-179. doi: 10.4103/jhrs.JHRS_134_17
52. Watson D, Clark LA, Tellegen A. Development and validation of brief measures of positive and negative affect: The PANAS scales. *J Pers Soc Psychol*. 1988; 54(6): 1063-1070. doi: 10.1037/0022-3514.54.6.1063
53. Bleil ME, Adler NE, Pasch LA, Sternfeld B, Gregorich SE, Rosen MP, et al. Depressive symptomatology, psychological stress,

and ovarian reserve: A role for psychological factors in ovarian aging? *Menopause*. 2012; 19(11): 1176-1185. doi: 10.1097/gme.0b013e31825540d8

54. Айзикович Б.И., Зотов С.В., Кулешов В.М., Мотырева П.Ю., Филимонов С.Н., Лихачева В.В. Лечение эндометриозных кист яичника для сохранения фертильности: обзор современных методов. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2021; (2): 32-39. [Ayzikovitch BI, Zotov SV, Kuleshov VM, Motyрева PYu, Filimonov SN, Likhacheva VV. Treatment of endometrioid ovarian cysts concerning fertility: A review of modern methods. *Mother and Baby in Kuzbass*. 2021; (2): 32-39. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2686-7338-2021-10020

55. Song T, Kim WY, Lee KW, Kim KH. Effect on ovarian reserve of hemostasis by bipolar coagulation versus suture during laparoendoscopic single-site cystectomy for ovarian endometriomas. *J Minim Invasive Gynecol*. 2015; 22: 415-420. doi: 10.1016/j.jmig.2014.11.002

56. Muzii L, Achilli C, Lecce F, Bianchi A, Franceschetti S, Marchetti C, et al. Second surgery for recurrent endometriomas is more harmful to healthy ovarian tissue and ovarian reserve than first surgery. *Fertil Steril*. 2015; 103(3): 738-743. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.101

57. Muzii L, DiTucci C, Galati G, Mattei G, Chinè A, Casciagli G, et al. Endometriosis-associated infertility: Surgery or IVF? *Minerva Obstet Gynecol*. 2021; 73(2): 226-232. doi: 10.23736/S2724-606X.20.04765-6

58. Зотов С.В., Мотырева П.Ю., Кулешов В.М., Айзикович Б.И., Лихачева В.В., Филимонов С.Н. Преимущества редукционной терапии эндометриозных кист яичников по сравнению с лапароскопической эксцизией при подготовке к программам ВРТ. *Медицина в Кузбассе*. 2021; 20(1): 26-31. [Zotov SV, Motyрева PYu, Kuleshov VM, Ayzikovitch BI, Likhacheva VV, Filimonov SN. Advantages of reducing therapy of endometrioid cysts by comparison with laparoscopic excision before IVF programs. *Medicine in Kuzbass*. 2021; 20(1): 26-31. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2687-0053-2021-10005

Сведения об авторах

Зотов Семён Вадимович – кандидат медицинских наук, главный врач, акушер-гинеколог, репродуктолог, ООО «ЦРТ-МЕД», e-mail: doczotov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3139-9347>

Лихачева Виктория Васильевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры акушерства и гинекологии, Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: viroli@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5637-7590>

Мотырева Полина Юрьевна – старший биолог, АО Медицинский центр «Авиценна», e-mail: motyрева.avicenna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4810-5616>

Азарова Ольга Валентиновна – врач акушер-гинеколог, репродуктолог, заведующая отделением вспомогательных репродуктивных технологий, ООО «Эксперт» г. Новокузнецк, e-mail: az.o@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2954-7494>

Айзикович Борис Исаевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры фундаментальной медицины Института медицины и психологии им. В. Зельмана, ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», e-mail: dr.ayzikovich@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2724-6273>

Information about the authors

Semen V. Zotov – Dr. Sc. (Med.), Head Physician, Obstetrician-Gynecologist, Reproductologist, CRT-MED LLC, e-mail: doczotov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3139-9347>

Victoria V. Likhacheva – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology, Novokuznetsk State Institute for Advanced Medical Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: viroli@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5637-7590>

Polina Yu. Motyрева – Senior Biologist, "Avicenna" Medical Center JSC, e-mail: motyрева.avicenna@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4810-5616>

Olga V. Azarova – Dr. Sc. (Med.), Reproductologist, Head of the ART Department, Expert LLC of Novokuznetsk, e-mail: az.o@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2954-7494>

Boris I. Ayzikovitch – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Fundamental Medicine, V. Zelman Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, e-mail: dr.ayzikovich@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2724-6273>

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

ЛИГАНД-АССОЦИИРОВАННАЯ АКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ ВИТАМИНА D И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ТОЧКИ ПРИЛОЖЕНИЯ ЕЁ ЭФФЕКТОВ В МОРФОГЕНЕЗЕ ИММУННОГО ВОСПАЛЕНИЯ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

**Аблякимов Э.Т.,
Кривенцов М.А.**

Медицинский институт
имени С.И. Георгиевского,
ФГАОУ ВО «Крымский федеральный
университет имени В.И. Вернадского»
(295000, г. Симферополь, б-р Ленина, 5-7,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Аблякимов Эльмар Тофикович,
e-mail: ablyakimov1995@bk.ru

РЕЗЮМЕ

Согласно последним данным, витамин D относят к веществам с гормональной активностью, который, помимо классических, имеет «неклассические» эффекты, обусловленные наличием сложной взаимосвязи между витамином D и эффекторными клетками иммунной системы. Данная взаимосвязь обусловлена экспрессией рецептора витамина D (VDR, vitamin D receptor) на иммунных клетках, который кодируется соответствующим геном VDR. Рецептор витамина D специфически связывает активную форму витамина D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$). В результате образуется сложный комплекс D_3 -VDR, который опосредует эффекты витамина D путём образования внутриклеточных сигнальных путей, трансформирующих активность определённых таргетных генов. При этом до конца не ясно, каким образом витамин D реализует свои эффекты на клеточном и рецепторном уровнях. По данным литературы, исследования последних десятилетий выявили значимую роль витамина D и рецепторов иммунных контрольных точек (PD-1 (programmed cell death), PD-L (PD ligand), CTLA (cytotoxic T lymphocyte associated protein)) в аутоиммунных заболеваниях. В этом обзоре излагаются возможные механизмы взаимосвязи данных путей. Более глубокое понимание межклеточных взаимосвязей опосредованных лиганд-ассоциированной активацией рецепторов витамина D, комплекса D_3 -VDR и рецепторов иммунных контрольных точек (PD-1, PD-L, CTLA) в воспалении может стать основой для разработки новых стратегий диагностики, прогноза и лечения различных заболеваний.

Ключевые слова: витамин D, VDR, иммунная гранулема, белки иммунных контрольных точек PD-1, PD-L, CTLA

Статья поступила: 26.06.2023

Статья принята: 24.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Аблякимов Э.Т., Кривенцов М.А. Лиганд-ассоциированная активация рецепторов витамина D и потенциальные точки приложения её эффектов в морфогенезе иммунного воспаления: обзор литературы. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 79-89. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.7

LIGAND-ASSOCIATED ACTIVATION OF VITAMIN D RECEPTORS AND POTENTIAL POINTS OF APPLICATION OF ITS EFFECTS IN THE MORPHOGENESIS OF IMMUNE INFLAMMATION: LITERATURE REVIEW

**Ablyakimov E.T.,
Kriventsov M.A.**

Medical Institute
named after S.I. Georgievsky,
V.I. Vernadsky Crimean Federal University
(Lenina Blvd. 5-7, Simferopol 295000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Elmar T. Ablyakimov,
e-mail: ablyakimov1995@bk.ru

ABSTRACT

According to recent data, vitamin D is classified as a substance with hormonal activity, which, in addition to classical, has "non-classical" effects caused by the complex relationship between vitamin D and effector cells of the immune system. This relationship is based on the expression of the vitamin D receptor (VDR) on immune cells, which is encoded by the corresponding VDR gene. Vitamin D receptor specifically binds the active form of vitamin D (1,25(OH)₂D₃). As a result, a D₃-VDR complex is formed, which mediates the effects of vitamin D through the formation of intracellular signaling pathways that transform the activity of certain target genes. However, it is not entirely clear how vitamin D realizes its effects at the cellular and receptor levels. According to the literature, studies of recent decades have revealed a significant role of vitamin D and immune checkpoint receptors (PD-1 (programmed cell death), PD-L (PD ligand), CTLA (cytotoxic T lymphocyte associated protein)) in autoimmune diseases. This review outlines possible mechanisms for the interconnection of these pathways. A deeper understanding of the intercellular interactions mediated by ligand-associated activation of vitamin D receptors, D₃-VDR complex and immune checkpoint receptors (PD-1, PD-L, CTLA) in inflammation may become the basis for the development of new strategies for the diagnosis, prognosis and treatment of various diseases.

Key words: vitamin D, VDR, immune granuloma, immune checkpoint proteins PD-1, PD-L, CTLA

Received: 26.06.2023
Accepted: 24.05.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Ablyakimov E.T., Kriventsov M.A. Ligand-associated activation of vitamin D receptors and potential points of application of its effects in the morphogenesis of immune inflammation: Literature review. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 79-89. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.7

ВВЕДЕНИЕ

До недавнего времени роль витамина D рассматривалась лишь с позиций его влияния на обмен кальция и фосфора в организме. Однако в течение последних 15 лет были выявлены новые эффекты витамина D, такие как нейрорегенераторный, нейростероидный и иммуномодуляторный [1]. Тем не менее, роль витамина D (VD, vitamin D), одного из важнейших витаминов организма, остаётся недостаточно изученной вследствие плейотропности его эффектов. Современные данные указывают на наличие тесной взаимосвязи между витамином D₃ (кальцитриолом) и иммунными клетками [2], а также аутоиммунными заболеваниями [3, 4], что позволяет рассматривать его в качестве важного регуляторного звена сложной системы межклеточных взаимодействий. С другой стороны, исследования последних десятилетий также выявили значимую взаимосвязь белков иммунных контрольных точек (ИКТ) с иммунными клетками [5, 6], которая проявляется в тонкой регуляции баланса между толерантностью и иммунопатологией. Не исключено, что данные звенья иммунной регуляции взаимосвязаны. Вместе с тем ввиду ограниченной информации, что подтверждает актуальность данной проблемы, в данном литературном обзоре представлены ключевые сведения, касающиеся современных представлений о структурно-функциональной организации гена и рецептора VD (VDR, vitamin D receptor), «неклассических» эффектах VD в морфогенезе иммунного воспаления, потенциальных взаимосвязей комплекса D₃-VDR с рецепторами иммунных контрольных точек и возможных точек приложения данной взаимосвязи в рамках гранулематозного воспаления.

1. Современные представления о структурно-функциональной организации гена и рецептора витамина D

В литературе достаточно широко представлены данные о роли VD, гена *VDR* и рецептора VDR в развитии разнообразных патологических процессов и заболеваний. В некоторой степени это связано с тем, что, согласно современным научным знаниям, VD имеет инкреторную функциональную активность, подобно гормону [7], который присоединяется и взаимодействует со своими специфическими рецепторами (VDR) на разнообразных клетках, оказывая таким образом многочисленные эффекты на различные системы организма.

Ген *VDR* или *NR1I1* (nuclear receptor subfamily 1 group I member 1) кодируется относительно большим геном (> 100 kb) и локализуется на субметацентрической 12-й хромосоме, её длинном плече (12q12-q14). Ген *NR1I1* имеет около 60 тысяч пар нуклеотидов и состоит из 14 экзонов и промежуточных интронов. В гене *VDR* можно выделить две области – кодирующую и некодирующую. Некодирующая область гена *VDR* включает в себя 6 из 14 экзонов: 1A, 1B, 1C, 1D, 1E и 1F. Оставшиеся 8 экзонов входят в кодирующую область гена *VDR*, в которых закодирована информация о первичной структуре белка гена *VDR*, состоящего из 4 функциональных доменов [8].

Ген *NR1I1* реализует свои эффекты с помощью геномного (ядерного) и внегеномного механизма.

Геномный путь, ведущий к изменениям в генной транскрипции, занимает от нескольких часов до нескольких дней [9]. Ген *VDR* кодирует ядерный (нуклеарный) VDR, который вместе с рецепторами ретиноевой кислоты (RAR, retinoic acid receptor), ретиноида X (RXR, retinoid X receptor) и рецепторами активированного пероксисом (PPAR, peroxisome proliferator-activated receptor), входят во вторую группу семейства ядерных рецепторов (NR, nuclear receptors) [10]. В первую группу относят рецепторы эстрогена, андрогена, прогестерона и минералокортикоидов [11]. Вторая группа рецепторов может образовывать гетеродимеры друг с другом (например, VDR-RXR), а также функционировать и оказывать эффекты посредством взаимодействия с определёнными лигандами [10, 11].

За исключением классических таргетных клеток (энтероцитов, паратироцитов и нефроцитов), которые напрямую связаны с поддержанием гомеостаза кальция, ген *VDR* также экспрессируется в клетках иммунной системы (моноциты, макрофаги, дендритные клетки, лимфоциты) [12]. Кроме того, экспрессия гена *VDR* была обнаружена в нейронах головного мозга, кардиомиоцитах, гладкомышечных клетках и эндотелии сосудов, клетках молочной железы, предстательной железы, кожи и других органов [13].

Внегеномный путь и его эффекты, согласно последним обновлённым данным, опосредуются синтезом вторичных мессенджеров (циклический аденозинмонофосфат, инозитолтрифосфат и др.), которые ассоциированы со стероидным рецептором MARRS (membrane-associated rapid response steroid), что способствует более быстрому ответу – от нескольких секунд до нескольких минут [14], – в отличие от геномного пути. Таким образом, внегеномные эффекты VD реализуются гораздо быстрее, чем геномные.

При попадании в клетку VD₃ связывается с VDR. VDR состоит из 427 аминокислот и имеет 4 основных функциональных домена:

- 1) высоковариабельный N-концевой A/B домен отвечает за трансктивируемые функции VDR, индуцируемые лигандами, но его структурные элементы плохо определены;
- 2) DNA-binding domain (DBD) – центральный ДНК-связывающий домен;
- 3) ligand-binding domain (LBD) – лиганд-связывающий домен на C-конце;
- 4) гибкая область, соединяющая DBD и LBD, называется шарнирным доменом.

После связывания с VD₃ с VDR образуется активный комплекс D₃-VDR, который транспортируется через ядерную мембрану непосредственно в ядро клетки [15].

Далее формируется ещё более сложный комплекс в результате связывания комплекса D₃-VDR с одним из трёх ретиноид X-рецепторов (RXR α , RXR β , RXR γ). Впоследствии данный комплекс D₃-VDR-RXR связывается с VDRE (vitamin D response elements) на поверхности ДНК генов-мишеней. VDRE представляют собой множествен-

ные участки генома, работа которых находится под контролем D_3 . После связывания D_3 -VDR-RXR с VDRE происходит активация или, наоборот, угнетение соответствующих генов-мишеней [16]. Таким образом, можно сделать важный вывод, что кальцитриол опосредует свои эффекты через лиганд-ассоциированную активацию рецепторов к витамину D_3 (комплекс D_3 -VDR).

В основном VDR концентрируется в ядре, цитозоле и на цитоплазматической мембране. VDR специфически связывает активную форму VD ($1,25(OH)_2D_3$) и опосредует его действия. Таким образом, эффекты VD непосредственно обусловлены сложным взаимодействием со своим рецептором VDR. Данный комплекс D_3 -VDR нельзя рассматривать отдельно, поскольку он функционирует как единый механизм. Отсутствие, дефицит или дефект структуры любого из компонентов комплекса (D_3 или VDR) нарушает функционирование его компонентов и реализацию его эффектов – как геномных, так и внегеномных. Ярким примером нарушения функционирования комплекса D_3 -VDR является дефицит VD у взрослых, как правило, ассоциированный с развитием остеопороза и остеомалации, а также наследственные мутации гена *VDR*, которые приводят к развитию витамин-D-резистентного рахита у детей, характеризующегося мышечной слабостью, отставанием в росте, деформацией костей и вторичным гиперпаратиреозом.

В настоящее время известно, что лиганд-ассоциированная активация рецепторов к VD имеет многочисленные эффекты, поскольку рецепторы VDR экспрессируются во многих тканях организма [17]. Повсеместное распространение VDR отражает его плеiotропную биологическую активность [18]. В ядрах таргетных клеток функционирует активный ядерный комплекс D_3 -VDR, который контролирует транскрипцию около 3 % всего генома человека. Кроме того, в цитоплазматических мембранах клеток комплекс D_3 -VDR работает как модулятор экспрессии генов и координатор ряда важнейших биохимических процессов [19].

Описано множество генов, экспрессия которых регулируется лиганд-ассоциированной активацией VDR: например, активация генов *DEFB4A* и *CAMP*, кодирующих кателицидин и дефензин- $\beta 2$ [20], а также угнетение активности гена *IL-2* в активированных Т-лимфоцитах [21]. Перечисленные гены расположены «вдали» от 12-й хромосомы, кодирующей VDR, но, тем не менее, находятся под контролем витамина D. Не исключено что гены, кодирующие белки ИКТ, также находятся под влиянием витамина D. Кроме того, комплекс D_3 -VDR-RXR подавляет экспрессию гена и синтез интерферона γ (IFN- γ), являющегося ключевым цитокином Th1-лимфоцитов у человека, с помощью конкурентного ингибирования фактора NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) [22]. Таким образом, повышая или снижая уровень экспрессии различных генов, комплекс D_3 -VDR-RXR реализует «классические» и «неклассические» эффекты VD.

В настоящее время биологические эффекты VD можно разделить на «классические» (кальцитропные, регулирующие фосфорно-кальцевый метаболизм) и «неклас-

ические» (регуляция метаболизма и клеточного цикла, противовоспалительный, антибактериальный, противоопухолевый, антигипертензивный эффекты). Более того, VD непосредственно вовлечён в регуляцию функционирования элементов иммунной системы.

2. «Неклассические» эффекты витамина D в морфогенезе иммунного воспаления

Морфогенез иммунного воспаления подразумевает усиление или ослабление иммунного ответа при воспалении (в т. ч. гранулематозном воспалении) в результате изменения рецепторного и цитокинового профиля, клеточных субпопуляций, в том числе в условиях лиганд-ассоциированной активации рецепторов витамина D.

Дефицит витамина D, согласно последним данным мировой литературы, стал новой пандемией XXI века, который особенно выражен в северных широтах, что обусловлено дефицитом ультрафиолетового (УФ) облучения у жителей мегаполисов. Кроме того, витамин D патогенетически связан с прогрессирующим ростом распространённости различных заболеваний, в том числе и аутоиммунных заболеваний, таких как сахарный диабет 1-го типа, бронхиальная астма, атопический дерматит, гнездная алопеция, системная красная волчанка (СКВ), псориаз и др. [23]. И это далеко не полный список всех заболеваний, которые связаны с дефицитом VD. В частности, в северных широтах распространённость рассеянного склероза и ревматоидного артрита обратно пропорциональна уровню УФ-облучения, что косвенно может свидетельствовать об участии VD в манифестации и патогенезе данных заболеваний [24]. Более того, согласно данным B. Terrier и соавт., добавки витамина D статистически значимо увеличивали количество Тreg-лимфоцитов и уменьшали количество Th1- и Th17-клеток [25]. Тем не менее, до конца не ясен механизм взаимосвязи дефицита VD и аутоиммунных процессов, лежащих в основе вышеперечисленных заболеваний.

Имеющиеся на сегодняшний день данные показывают, что VD угнетает приобретённый иммунитет, но стимулирует врождённый. Первыми доказательствами того, что VD является значимым стимулятором врождённого иммунитета, могут быть данные о терапии туберкулёза рыбьим жиром [26], а также синтез антимикробных пептидов, таких как дефензин- $\beta 2$ и кателицидин [27]. Кроме того, транскрипция дефензина- $\beta 2$ непосредственно активируется геномным комплексом D_3 -VDR-RXR [27, 28]. Например, экспрессия гена кателицидина усиливается после распознавания патогенов TLR (toll-like receptors) в результате взаимодействия зрелых моноцитов с *Mycobacterium tuberculosis*, способствуя таким образом повышению синтеза и секреции 1 α -гидроксилазы и VDR [29]. Эти работы более детально объясняют механизмы, с помощью которых VD потенцирует противомикробное действие моноцитов и макрофагов, являющихся ключевыми эффекторными клетками в борьбе против таких патогенов, как *Mycobacterium tuberculosis*.

Уровень экспрессии VDR динамично изменяется в процессе формирования и созревания различных эффекторных клеток иммунной системы. С одной стороны,

наивные Т-лимфоциты характеризуются относительно низким уровнем экспрессии VDR, в то время как зрелые формы Т-лимфоцитов отличаются высоким уровнем экспрессии VDR [30]. С другой стороны, моноциты в процессе дифференцировки в макрофаги и дендритные клетки (ДК) показывают, наоборот, уменьшение уровня экспрессии VDR [31]. Таким образом, уровень экспрессии VDR, а соответственно, и восприимчивость эффекторных клеток иммунной системы к VD проявляются по-разному в зависимости от степени зрелости клеток, что, возможно, играет ключевую роль в сложной системе регуляции иммунного ответа, а также его специфичности, реактивности и пластичности.

Особенности влияния комплекса D_3 -VDR на клетки врождённого иммунитета: макрофаги и дендритные клетки

Моноциты крови в процессе дифференцировки трансформируются в макрофаги, которые являются главными клетками иммунной системы человека, посредством которых происходит взаимодействие и координация врождённого и приобретённого иммунитета. Зрелые макрофаги способны активировать иммунный ответ путём хемотаксиса, фагоцитоза и представления антигена Т-хелперам (Th). В частности макрофаги, в отличие от моноцитов, могут подвергаться так называемой поляризации, т. е. дифференцироваться на два фенотипа (M1 или M2) в зависимости от индуцирующих факторов и цитокинов. Например, макрофаги с фенотипом M1 уничтожают бактерии, вирусы и опухолевые клетки, формируются под непосредственным воздействием липополисахаридов, фактора некроза опухоли α (TNF- α , tumor necrosis factor α), IFN- γ , в то время как макрофаги с фенотипом M2 уничтожают внеклеточные патогены и формируются при стимуляции интерлейкина (IL) 4 и IL-13. Иммуногенные макрофаги с фенотипом M1 активируют Th1-иммунный ответ в результате синтеза определённого спектра цитокинов, тогда как толерогенный фенотип M2 макрофагов смещает баланс Th-клеток в сторону Th2 [32]. Кроме того, макрофаги экспрессируют VDR, что делает их восприимчивыми к VD [33].

Комплекс D_3 -VDR оказывает в основном подавляющие эффекты на моноциты путём уменьшения экспрессии молекул MHC II (major histocompatibility complex), TLR2 и TLR4, что приводит к анергии дальнейших ответов. Более того, лиганд-ассоциированная активация VDR снижает уровень экспрессии CD40, CD80, CD86, которые способствуют ко-активации и стимуляции иммунного ответа, а также подавляет синтез IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12, TNF- α и IFN- γ . Среди активирующих эффектов комплекса D_3 -VDR наблюдается усиление синтеза противовоспалительных цитокинов: IL-10, IL-4 и IL-5 [34].

Из вышеперечисленного следует, что комплекс D_3 -VDR ингибирует иммуногенный, провоспалительный ответ макрофагов с фенотипом M1, способствуя снижению их активности. С другой стороны, комплекс D_3 -VDR поляризует макрофаги в направлении толерогенного фенотипа M2.

Вместе с тем другие исследования опровергают теорию о том, что комплекс D_3 -VDR подавляет макрофа-

ги с фенотипом M1. Так, например, согласно данным N. Wafa и соавт., воздействие комплекса D_3 -VDR в присутствии *Pseudomonas aeruginosa* стимулировало синтез IL-1 β , что повышало соотношение M1/M2 [35].

Клетки-предшественники из красного костного мозга вначале дифференцируются в незрелые ДК, которые в процессе миграции и фагоцитоза различных патогенов трансформируются в зрелые ДК. В процессе фагоцитоза из различных микроорганизмов образуются антигенные детерминанты (эпитопы), которые связываются с MHC II класса в щели Бюркмана и экспрессируются на поверхности клетки. В то же время ДК экспрессируют CD40, CD80 и CD86 (костимуляторные белки) и приобретают способность мигрировать в регионарные лимфатические узлы, где презентуют Th0-клеткам готовый комплекс MHC-II, связанного с эпитопом [36]. При воздействии комплекса D_3 -VDR на незрелые ДК развиваются эффекты, аналогичные макрофагальным. С одной стороны, угнетается уровень экспрессии костимуляторных белков и MHC II класса, что способствует уменьшению синтеза и секреции IL-12, подавлению презентации антигена на поверхности ДК, а с другой – усиливается синтез IL-10 [37].

Активность Th1- и Th17-лимфоцитов, принимающих ключевое участие в патогенезе аутоиммунных заболеваний, резко падала в результате уменьшения синтеза IL-12, IL-23 дендритными клетками после лиганд-ассоциированной активации VDR [38]. Более того, комплекс D_3 -VDR тормозит дифференцировку моноцитов в ДК и их последующее созревание [34]. Такая закономерность может объяснить причину увеличения количества толерогенных ДК, так как они в некоторой степени состоят из незрелых клеток [39].

Особенности влияния комплекса D_3 -VDR на компоненты приобретённого (адаптивного) иммунитета (Т- и В-лимфоциты)

Предшественником Т-лимфоцитов, как и всех форменных элементов крови, является полипотентная стволовая гемопоэтическая клетка, маркером которой является CD34. Из красного костного мозга ранние пре-Т-лимфоциты мигрируют в вилочковую железу, где происходит антиген-независимая дифференцировка Т-лимфоцитов и процесс т. н. «позитивной» и «негативной» селекции [40].

После селекции и выхода из тимуса Т-лимфоциты, подобно макрофагам, подвергаются поляризации. Согласно данным литературы, Th0-лимфоциты могут дифференцироваться в одном из четырёх направлений:

1) в Th1-лимфоциты, которые способны уничтожать чужеродные патогены, вирус-заражённые и онко-трансформированные клетки, а также могут вызывать аутоиммунные заболевания и реакции гиперчувствительности замедленного типа IV, синтезируют IL-2, IL-12, IL-15, IFN- γ и TNF- α и активируют таким образом клеточный иммунитет;

2) в Th2-лимфоциты, которые синтезируют противовоспалительные цитокины, такие как IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, и участвуют в гуморальном иммунитете;

3) в Th17-лимфоциты, которые синтезируют главным образом IL-17. Эти клетки защищают от патогенов

путём синтеза IL-8 и мобилизации таким образом в очаг воспаления нейтрофилов. Кроме того, Th17-лимфоциты повреждают собственные клетки и ткани при различных аутоиммунных заболеваниях [41]. С одной стороны, как было показано выше, VDR-опосредованная активация ингибирует Th17-лимфоциты и, соответственно, повреждения тканей при иммунном воспалении, что затрудняет лечение ингибиторами иммунных контрольных точек; с другой стороны, VD усиливает экспрессию PD-L1 как на эпителиальных, так и на иммунных клетках, что находит отражение в их содружественном эффекте;

4) в Treg-лимфоциты (T-супрессоры), для которых специфичен CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺-фенотип. Treg-клетки синтезируют IL-10, TGF- β и являются функциональными антагонистами Th1-, Th2- и Th17-лимфоцитов [42]. Главная функция Treg-клеток – предупреждение аутоиммунных реакций [43]. Более того, Treg-лимфоциты экспрессируют CTLA-4 [44] и PD-1 [45].

Кроме того, выделяют ещё одну разновидность субпопуляции Т-хелперов – т. н. Th3-лимфоциты с иммунорегуляторными и иммуносупрессивными функциями, которые индуцируются введением чужеродного орального антигена. TGF- β является основным противовоспалительным цитокином данных клеток. Th3-клетки были описаны как CD4⁺FOXP3⁺-регуляторные Т-клетки, т. е., в отличие от хорошо охарактеризованных Treg-клеток, Th3-лимфоциты не экспрессируют фактор транскрипции FOXP3 [46]. До сих пор не ясно, каким образом, комплекс D₃-VDR действует на Th3-лимфоциты.

Как указывалось выше, комплекс D₃-VDR ингибирует синтез IL-12 макрофагами и ДК. В результате Th0-лимфоциты дифференцируются не в Th1-, а в Th2-лимфоциты [47]. Обработка Т-лимфоцитов VD способствует подавлению синтеза и секреции провоспалительных цитокинов Th1-лимфоцитами (IL-2, IFN- γ , TNF- α) [48], а также инициирует секрецию противовоспалительных цитокинов Th2-лимфоцитами (IL-3, IL-4, IL-5, IL-10) [47]. Более того, пролиферация и хоуминг CD4⁺ Т-клеток в лимфатические узлы заметно снижается в результате подавления синтеза лигандов Е-селектина в эндотелиоцитах после лиганд-ассоциированной активации VDR [49].

Показано, что более высокие уровни VD могут вызывать множество различных противовоспалительных функций, включая увеличение количества Treg-лимфоцитов. Кроме того, экспериментальные исследования показали, что другие небольшие молекулы, включая ретинол, ниацин и жирные кислоты с короткой цепью, могут потенцировать функции Treg-лимфоцитов. Однако взаимосвязь между терапией VD и изменениями количества или функции Treg у пациентов или здоровых добровольцев чётко не определена [50].

В-лимфоциты аналогично Т-лимфоцитам восприимчивы к действию VD. С одной стороны, у пациентов с СКВ VD напрямую ингибировал дифференцировку и пролиферацию В-лимфоцитов [51]. Однако с другой стороны, лиганд-ассоциированная активация VDR оказывала не прямое влияние на В-лимфоциты, подавляя их пролиферацию и дифференцировку, а только косвенное, путём ингибирования активных Т-лимфоцитов. В ито-

ге либо функциональная активность В-лимфоцитов падала, что проявлялось уменьшением синтеза IgM и IgE, либо В-клетки вовсе погибали в результате апоптоза [52].

Подводя итоги, можно прийти к выводу, что ключевые клетки иммунной системы, такие как моноциты, макрофаги, дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты, восприимчивы к лиганд-ассоциированной активации VDR, что отражается в динамике синтеза цитокинов и видоизменения их рецепторов в результате взаимодействия комплекса D₃-VDR с соответствующими таргетными генами. Кроме того, активный комплекс D₃-VDR способствует уменьшению концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-12, IL-17 и др.) в результате угнетения их биосинтеза и, наоборот, повышению концентрации противовоспалительных цитокинов (IL-3, IL-4, IL-5, IL-10 и IL-13). Данная цитокиновая перестройка является зеркальным отражением воздействия активного генетического комплекса D₃-VDR на поляризацию наивных Th0-лимфоцитов в Th1- и Th17-клетки и наивных Th0-лимфоцитов в Th2- и Treg-лимфоциты. Упомянутые выше эффекты лиганд-ассоциированной активации VDR могут способствовать уменьшению частоты развития различных иммунных и аутоиммунных реакций, прежде всего Th1-зависимых, а также благоприятствовать облегчению клинических симптомов пациента. В действительности же иммунокомплексное воздействие лиганд-ассоциированной активации VDR на иммунную систему, несомненно, является более глубоким и многогранным, и его ещё предстоит исследовать.

3. Потенциальная взаимосвязь комплекса D₃-VDR с рецепторами иммунных контрольных точек

Семейство иммунных контрольных точек является одним из ключевых элементов регуляторного звена иммунного ответа. Согласно данным литературы, семейство ИКТ состоит из нескольких основных белков. Это прежде всего рецептор запрограммированной клеточной гибели PD-1 и лиганд запрограммированной клеточной гибели PD-L, а также цитотоксический протеин CTLA4. С одной стороны, данные рецепторы ИКТ восприимчивы к воздействию разнообразных вирусов, а также неопластических клеток, что в конечном счёте приводит к подавлению противовирусного и противоопухолевого иммунитета соответственно [53]. С другой стороны, ингибиторы ИКТ в виде различных лекарственных препаратов открывают новые перспективы не только в иммунотерапии опухолевых процессов, трансплантационного иммунитета, аллергии, но и контроля аутоиммунных процессов.

Т-лимфоцит активируется в результате одновременного воздействия двух ключевых сигналов. Прежде всего это связывание и взаимодействие белков, экспрессируемых на поверхности эффекторных клеток, а именно Т-клеточного рецептора (TCR, T cell receptor) лимфоцита с МСН антиген-представляющих клеток (АПК) соответственно, что необходимо для специфичности иммунного ответа. В это же время аналогичным образом происходит взаимодействие белка CD28, экспрессируемого на поверхности Т-лимфоцита, с CD80 (B7-1) или CD86

(B7-2) на поверхности АПК, в результате которого образуется вторичный костимулирующий сигнал, обеспечивающий поддержание первичного сигнала. Тем не менее, отсутствие вторичного сигнала способствует развитию анергии или апоптоза Т-лимфоцита [54].

Белки ИКТ наряду с другими рецепторами и цитокинами обеспечивают тонкий механизм регуляции цитотоксических лимфоцитов во время их активации при взаимодействии TCR с пептидом, ассоциированным с МНС I класса. В то же время в результате взаимодействия PD-L на поверхности клетки-мишени с PD-1 на поверхности Т-клеток происходит два важных события. Во-первых, «отключение» или вовсе гибель Т-лимфоцита, а во-вторых, выживание и сохранение клетки-мишени. Данный «спасательный» механизм имеет также два разнонаправленных исхода. Прежде всего положительный исход связан с подавлением развития аутоиммунной агрессии, в то время как отрицательный исход используется опухолевыми клетками для защиты от противоопухолевого иммунного надзора [55].

Белок PD-1 (CD279) является одним из наиболее известных белков ИКТ, который экспрессируется на иммунокомпетентных клетках, таких как моноциты, макрофаги, ДК, натуральные киллеры, Т- и В-лимфоциты. Белок PD-1 совместно с комплементарными лигандами PD-L1 (CD274 или B7-H1) и/или PD-L2 (CD273 или B7-DC) образует семейство рецепторов B7:CD28, в составе внутриклеточного домена которых присутствуют ингибирующие тирозинсодержащие последовательности аминокислот (ITIM, immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif) [56]. Кроме того, активированный TCR на поверхности Т-лимфоцита потенцирует экспрессию PD-1, в то время как индукция молекулами IFN I и II типа совместно с JAK2-ассоциированными белками увеличивает экспрессию PD-L1 [57]. Таким образом, белок PD-1 и VDR экспрессируются на одних и тех же клетках, что косвенно подтверждает их взаимосвязь.

В результате связывания и взаимодействия рецептора PD-1 со своим лигандом PD-L1 и/или PD-L2 возникает внутриклеточный сигнал, который стимулирует фосфорилирование двух последовательностей – ITIM и ITSM (immune receptor tyrosine-based switch motif) – с последующей активацией двух фосфатаз: SHP-1 и SHP-2 (Src homology region 2 domain-containing phosphatase) [58]. В свою очередь SHP-1 и SHP-2 подавляют фосфорилирование сигнального пути PI3K/Akt (phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B), ассоциацию ZAP-70 (Zeta-chain-associated protein kinase 70) и CD3ζ комплекса, что приводит к «отключению» TCR на поверхности Т-лимфоцита. С одной стороны, инактивация Т-клеток проявляется снижением их пролиферации и функциональной активности, которая проявляется в виде снижения синтеза ключевых цитокинов, таких как IL-2 и IFN-γ, с другой стороны, происходит их гибель путём апоптоза, что является следствием ингибирования факторов транскрипции NF-κB и AP-1 (activator protein 1). Подобные эффекты у Т-клеток вызывает комплекс D₃-VDR-RXR. Таким образом, не исключено, что потенциальная взаимосвязь витамина D

и ИКТ кроется в активации перечисленных внутриклеточных сигнальных путей.

В то же время на поверхности Т-лимфоцита также экспрессируется цитотоксический протеин-4, ассоциированный с Т-лимфоцитами, также известный как CTLA-4 (CD152). CTLA-4 конкурирует с рецептором CD28 за лиганд семейства B7: B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86). Связавшись с лигандом B7, активированный комплекс CTLA-4 ингибирует активацию Т-лимфоцитов [59]. Кроме того, CTLA-4 ведёт к подавлению нижестоящих путей PI3K/Akt, циклина D3, CDK4/CDK6 и NF-κB, изменяя таким образом дифференцировку Т-лимфоцитов [60]. Подобный ингибирующий эффект на NF-κB имеет лиганд-ассоциированная активация VDR. В то же время VD стимулирует путь PI3K/Akt [61], в отличие от CTLA-4.

На основании современных научных данных, помимо Т-лимфоцитов, PD-1, PD-L1/2 и CTLA-4 также экспрессируются опухолевыми клетками, угнетая таким образом неопластический иммунный надзор [62]. В качестве «антидота» были созданы соответствующие моноклональные антитела к белкам ИКТ, которые нивелировали негативное влияние злокачественных клеток на функции Т-лимфоцитов в результате «реанимации» последних. Данные моноклональные антитела широко используются в практической медицине.

Макрофаги также экспрессируют белки ИКТ, а именно PD-1. В соответствии с недавними исследованиями, для противовоспалительного M2-фенотипа макрофагов более специфична экспрессия PD-1. Более того, терапия против PD-1 может перенаправить макрофаги с фенотипа M2 на фенотип M1 [63]. Следовательно, иммунная блокада PD-1 спровоцирует прирост активности фагоцитоза и убыль объёма опухоли. В то же время, активный комплекс D₃-VDR трансформирует макрофаги в направлении толерогенного фенотипа M2, что предполагает синергетический эффект VD с молекулой PD-1.

В частности, противовоспалительные цитокины IL-10 и IL-4 стимулируют экспрессию PD-L1 на моноцитах и экспрессию PD-L2 на ДК [64]. Поскольку комплекс D₃-VDR увеличивает синтез IL-10 и IL-4, вполне вероятно, что он также будет увеличивать экспрессию PD-L1 и PD-L2 соответственно, но, скорее всего косвенно (через внутриклеточные сигнальные пути), а не напрямую. С другой стороны, при тяжёлом течении COVID-19 назначение витамина D, наоборот, ингибировало экспрессию PD-L1 [65]. В итоге не совсем ясно, каким образом, ось D₃-VDR-PD-L1 и ось D₃-VDR-PD-L2, а также ось D₃-VDR-CTLA-4 играют роль контролирующего звена в иммунорегуляции онкологических, аутоиммунных и аллергических процессов, что требует дальнейших исследований в данной области.

4. Современные представления о продуктивном гранулематозном воспалении и потенциальные точки приложения комплекса D₃-VDR в его реализации

Иммунная гранулёма (наиболее распространённый тип гранулёмы) представляет ГЗТ IV, в которой участвуют Т-хелперы (CD4⁺) и клетки макрофагального ряда. Сна-

чала моноциты дифференцируются в зрелые макрофаги и ДК. Затем АПК (макрофаги, ДК) фагоцитируют патогенный агент, расщепляют его до эпитопов, после связывают их с МНС II класса в щели Бьоркмана и представляют их на своей поверхности наивным CD4⁺-лимфоцитам. После контакта с эпитопом происходит дифференцировка Th0-лимфоцитов в Th1-лимфоциты под влиянием макрофагов, синтезирующих IL-12. Активированные Th1-лимфоциты синтезируют IFN- γ , основной цитокин гранулематозного воспаления [66].

На клеточном уровне ключевым в патогенезе гранулёмы является дифференцировка моноцитов в зрелые макрофаги [67]. Данный процесс можно определить гистологически (увеличение в три раза размеров клетки и их органелл, гофрированная цитоплазматическая мембрана) и микроскопически (появление везикул и гранул в цитоплазме) [68], в также иммуногистохимически, так как моноциты экспрессируют на своей клеточной поверхности в основном CD14 и CD16, тогда как макрофаги – CD14, Cd11b, CD68, MAC-1 и MAC-3, EMR1 и Lysozyme M [69]. Кроме того, на дифференцировку моноцитов оказывает влияние комплекс D₃-VDR, способствуя их дифференцировке в макрофаги M2-фенотипа, на которых экспрессируются PD-L1 [70]. С другой стороны, лиганд-ассоциированная активация VDR подавляет макрофаги с фенотипом M1, хотя эти данные противоречивы.

Теодор Лангханс впервые описал многоядерные гигантские клетки (МГК) в своих исследованиях туберкулёза более 150 лет назад, и эти клетки были посмертно названы гигантскими клетками Лангханса в его честь. Как и эпителиоидные клетки, МГК можно идентифицировать гистологически по их характерной морфологии: три или более ядра одинаковой формы внутри клетки. Макрофаги, выделенные из разных тканей, могут дифференцироваться в МГК *in vitro* [71], а также при наличии IL-4 или IL-13, GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor) + IL-4, IFN- γ + IL-3 или микобактериальных гликолипидов [72]. Таким образом, образование МГК является специфичным только для макрофагов. С другой стороны, совершенно не ясно, каким путём комплекс D₃-VDR способствует образованию МГК в иммунной гранулёме.

В иммунных гранулёмах можно обнаружить несколько субпопуляций Т-лимфоцитов: CD4⁺-эффекторные Т-клетки, CD4⁺-регуляторные Т-клетки и CD8⁺-цитотоксические Т-клетки. В зависимости от этиологии гранулёмы в ней можно выявить различные типы поляризованных эффекторных CD4⁺-клеток, таких как Th1-, Th2-, Th3- или Th17-лимфоциты (например, в туберкулёзных и шистосомных гранулёмах определяют Th1- и Th2-клетки соответственно) [73]. Кроме того, Т-лимфоциты наряду с моноцитами экспрессируют VDR [74], а также PD-L1 [62].

Среди всех цитокинов IFN- γ и TNF- α наиболее тесно связаны с образованием гранулемы. Как IFN- γ , так и TNF- α играют решающую роль в формировании гранулёмы. Основная функция этих цитокинов при туберкулёзной гранулёме заключается в увеличении бак-

терицидной способности и выживаемости макрофагов и, тем самым, в поддержании клеточной целостности гранулёмы [75]. Кроме того, связывание PD-1 со своим лигандом PD-L1 и/или PD-L2 способствует снижению продукции IFN- γ Т-лимфоцитами аналогично эффекту комплекса D₃-VDR. В то же время не совсем понятен механизм взаимосвязи лиганд-ассоциированной активации VDR и данных сигнальных путей.

Лиганд-ассоциированная активация VDR ингибирует продукцию IFN- γ , лимфотоксина, IL-2 и пролиферацию определённых субпопуляций Т-лимфоцитов [76]. Исследования *in vitro* показали, что 1,25(OH)₂ D₃ стимулирует пролиферацию, дифференцировку и трансформацию моноцитов в эпителиоидные клетки [77]. С другой стороны, VD ингибирует дифференцировку макрофагов в ДК и созревание последних, одновременно стимулируя их апоптоз [78]. Таким образом, эффекты лиганд-ассоциированной активации VDR на развитие гранулёмы неоднозначны. Кроме того, на сегодняшний день отсутствуют данные о взаимосвязи комплекса D₃-VDR и белков иммунных контрольных точек (PD-1, PD-L, CTLA), что требует дальнейших исследований в данной области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по данным литературы, лиганд-ассоциированная активация VDR инициирует как геномные, так и внегеномные эффекты. Данные эффекты опосредованы комплексом D₃-VDR. Отсутствие, дефицит или дефект структуры любого из компонентов комплекса (D₃ или VDR) нарушают функционирование его компонентов и реализацию «классических» и «неклассических» эффектов. Среди «неклассических» эффектов особое внимание уделяется действию VD на иммунную систему, которое проявляется в целом противовоспалительным вектором направленности с реализацией эффектов в отношении антиген-представляющих клеток и клеток лимфоидного ряда, в том числе опосредованно через сигнальные пути иммунных контрольных точек. Иммунокорректирующие эффекты кальцитриола открыли новые возможности терапевтического применения VD и его аналогов (например, парикальцитола) для контроля аутоиммунных заболеваний, связанных с чрезмерным синтезом цитокинов и образованием аутореактивных иммунных клеток. Кроме того, комплекс D₃-VDR стимулирует дифференцировку клеток и обладает антипролиферативной активностью, что, возможно, играет ключевую роль в ингибировании опухолевых процессов. Вероятно, это результат взаимосвязи лиганд-ассоциированной активации VDR и белков иммунных контрольных точек (PD-1, PD-L, CTLA), что остаётся неизученным и представляется перспективным направлением дальнейших исследований.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-25-00161 (<https://rscf.ru/project/23-25-00161>).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Громова О.А., Торшин И.Ю. Витамин D. *Смена парадигмы*; 2-е изд., перераб. и доп.. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2021. [Gromova OA, Torshin IYu. *Vitamin D. Paradigm change*; 2nd edition, revised and enlarged. Moscow: GEOTAR-Media; 2021. (In Russ.)].
2. Снопов С.А. Механизмы действия витамина D на иммунную систему. *Медицинская иммунология*. 2014; 16(6): 499-530. [Snopov SA. Mechanisms of vitamin D action on the immune system. *Medical Immunology (Russia)*. 2014; 16(6): 499-530. (In Russ.)]. doi: 10.15789/1563-0625-2014-6-499-530
3. Borba VZ, Vieira JG, Kasamatsu T, Radominski SC, Sato EI, Lazaretti-Castro M. Vitamin D deficiency in patients with active systemic lupus erythematosus. *Osteoporos Int*. 2009; 20(3): 427-433. doi: 10.1007/s00198-008-0676-1
4. Dankers W, Colin EM, van Hamburg JP, Lubberts E. Vitamin D in autoimmunity: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Immunol*. 2017; 7: 697. doi: 10.3389/fimmu.2016.00697
5. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, Sharpe AH, Freeman GJ. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity*. 2007; 27(1): 111-122. doi: 10.1016/j.immuni.2007.05.016
6. Paterson AM, Lovitch SB, Sage PT, Juneja VR, Lee Y, Trombley JD, et al. Deletion of CTLA-4 on regulatory T cells during adulthood leads to resistance to autoimmunity. *J Exp Med*. 2015; 212(10): 1603-1621. doi: 10.1084/jem.20141030
7. Chun RF, Peercy BE, Orwoll ES, Nielson CM, Adams JS, Hewison M. Vitamin D and DBP: The free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014; 144(Pt A): 132-137. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.012
8. Miyamoto K, Kesterson RA, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S, et al. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol*. 1997; 11(8): 1165-1179. doi: 10.1210/mend.11.8.9951
9. Trochoutsou AI, Kloukina V, Samitas K, Xanthou G. Vitamin D in the immune system: Genomic and non-genomic actions. *Mini Rev Med Chem*. 2015; 15(11): 953-963. doi: 10.2174/1389557515666150519110830
10. Pérez E, Bourguet W, Gronemeyer H, de Lera AR. Modulation of RXR function through ligand design. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1821: 57-69. doi: 10.1016/j.bbailip.2011.04.003
11. Hu X, Funder JW. The evolution of mineralocorticoid receptors. *Mol Endocrinol*. 2006; 20(7): 1471-1478. doi: 10.1210/me.2005-0247
12. Hart PH, Gorman S, Finlay-Jones JJ. Modulation of the immune system by UV radiation: More than just the effects of vitamin D? *Nat Rev Immunol*. 2011; 11(9): 584-596. doi: 10.1038/nri3045
13. Bikle DD, Oda Y, Tu CL, Jiang Y. Novel mechanisms for the vitamin D receptor (VDR) in the skin and in skin cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015; 148: 47-51. doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.10.017
14. Doroudi M, Schwartz Z, Boyan BD. Membrane-mediated actions of 1,25-dihydroxy vitamin D3: A review of the roles of phospholipase A2 activating protein and Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015; 147: 81-84. doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.11.002
15. Mazaira GI, Zgajnar NR, Lotufo CM, Daneri-Becerra C, Sivils JC, Soto OB, et al. Nuclear receptors: A historical perspective. *Methods Mol Biol*. 2019; 1966: 1-5. doi: 10.1007/978-1-4939-9195-2_1
16. Shri Preethi M, Premkumar K, Asha Devi S. Molecular docking study on vitamin D supplements to understand their interaction with VDR-RXRα heterodimer and VDRE of TAGAP gene. *J Biomol Struct Dyn*. 2022; 24: 1-10. doi: 10.1080/07391102.2022.2114939
17. Wierzbicka J, Piotrowska A, Żmijewski MA. The renaissance of vitamin D. *Acta Biochim Pol*. 2014; 61(4): 679-686.
18. Lin L, Zhang L, Li C, Gai Z, Li Y. Vitamin D and vitamin D receptor: New insights in the treatment of hypertension. *Curr Protein Pept Sci*. 2019; 20(10): 984-995. doi: 10.2174/1389203720666190807130504
19. Adams JS. Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95: 471-478. doi: 10.1210/jc.2009-1773
20. Chung C, Silwal P, Kim I, Modlin RL, Jo EK. Vitamin D-cathelicidin axis: At the crossroads between protective immunity and pathological inflammation during infection. *Immune Netw*. 2020; 20(2): e12. doi: 10.4110/in.2020.20.e12
21. Alroy I, Towers TL, Freedman LP. Transcriptional repression of the interleukin-2 gene by vitamin D3: Direct inhibition of NFATp/AP-1 complex formation by a nuclear hormone receptor. *Mol Cell Biol*. 1995; 15(10): 5789-5799. doi: 10.1128/MCB.15.10.5789
22. Xin Y, Wang H, Wang Y, Xu W, Teng G, Han F, et al. CCL20 mediates the anti-tumor effect of vitamin D3 in p38MAPK/NF-κB signaling in colitis-associated carcinogenesis. *Eur J Cancer Prev*. 2021; 30(1): 76-83. doi: 10.1097/CEJ.0000000000000582
23. Van Belle TL, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D in autoimmune, infectious and allergic diseases: A vital player? *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011; (25): 617-632. doi: 10.1016/j.beem.2011.04.009
24. Vieira VM, Hart JE, Webster TF, Weinberg J, Puett R, Laden F, et al. Association between residences in U.S. northern latitudes and rheumatoid arthritis: A spatial analysis of the Nurses' Health Study. *Environ Health Perspect*. 2010; 118(7): 957-961. doi: 10.1289/ehp.0901861
25. Terrier B, Derian N, Schoindre Y, Chaara W, Geri G, Zahr N, et al. Restoration of regulatory and effector T cell balance and B cell homeostasis in systemic lupus erythematosus patients through vitamin D supplementation. *Arthritis Res Ther*. 2012; 14(5): R221. doi: 10.1186/ar4060
26. Prietl B, Theiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients*. 2013; 5(7): 2502-2521. doi: 10.3390/nu5072502
27. L Bishop E, Ismailova A, Dimeloe S, Hewison M, White JH. Vitamin D and immune regulation: Antibacterial, antiviral, anti-inflammatory. *JBM R Plus*. 2020; 5(1): e10405. doi: 10.1002/jbm4.10405
28. Wang T, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol*. 2004; 173: 2909-2912. doi: 10.4049/jimmunol.173.5.2909
29. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*. 2006; 311: 1770-1773. doi: 10.1126/science.1123933

30. Baeke F, Korf H, Overbergh L, Van Etten E, Verstuyf A, Gysemans C, et al. Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the immune system. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010; 121(1-2): 221-227. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.03.037
31. Hewison M, Freeman L, Hughes SV, Evans KN, Bland R, Eliopoulos AG, et al. Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol.* 2003; (170): 5382-5390. doi: 10.4049/jimmunol.170.11.5382
32. Cassetta L, Cassol E, Poli G. Macrophage polarization in health and disease. *Sci World J.* 2011; (11): 2391-2402. doi: 10.1100/2011/213962
33. Van Etten E, Stoffels K, Gysemans C, Mathieu C, Overbergh L. Regulation of vitamin D homeostasis: Implications for the immune system. *Nutr Rev.* 2008; 66: 125-134. doi: 10.1111/j.1753-4887.2008.00096.x
34. Kissa M, Czimmerer Z, Nagy L. The role of lipid-activated nuclear receptors in shaping macrophage and dendritic cell function: From physiology to pathology. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132(2): 264-286. doi: 10.1016/j.jaci.2013.05.044
35. Wafa N, Lamia Y-D, Mourad A. Vitamin D3 enhances bactericidal activity of macrophage against *Pseudomonas aeruginosa*. *Int Immunopharmacol.* 2016; 30: 94-101. doi: 10.1016/j.intimp.2015.11.033
36. Eagar TN, Tompkins SM, Miller SD. Helper T-cell subsets and control of the inflammatory response. *Clinical Immunology*. Mosby, London, UK; 2001: 16.1-16.12.
37. Prietl B, Theiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients.* 2013; 5(7): 2502-2521. doi: 10.3390/nu5072502
38. Lopez DV, Al-Jaberi FAH, Woetmann A, Ødum N, Bonefeld CM, Kongsbak-Wismann M, et al. Macrophages control the bioavailability of vitamin D and vitamin D-regulated T cell responses. *Front Immunol.* 2021; 12: 722806. doi: 10.3389/fimmu.2021.722806
39. Maldonado RA, von Andrian UH. How tolerogenic dendritic cells induce regulatory T cells. *Adv Immunol.* 2010; (108): 111-165. doi: 10.1016/B978-0-12-380995-7.00004-5
40. Kim S, Park GY, Park JS, Park J, Hong H, Lee Y. Regulation of positive and negative selection and TCR signaling during thymic T cell development by capicua. *Elife.* 2021; 10: e71769. doi: 10.7554/eLife.71769
41. Tuzlak S, Dejean AS, Iannaccone M, Quintana FJ, Waisman A, Ginhoux F, et al. Repositioning T_H cell polarization from single cytokines to complex help. *Nat Immunol.* 2021; 22: 1210-1217. doi: 10.1038/s41590-021-01009-w
42. Chaudhry A, Samstein RM, Treuting P, Liang Y, Pils MC, Heinrich JM, et al. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation. *Immunity.* 2011; 34(4): 566-578. doi: 10.1016/j.immuni.2011.03.018
43. Roncarolo MG, Gregori S, Battaglia M, Bacchetta R, Fleischhauer K, Levings MK. Interleukin-10 secreting type-1 regulatory T cells in rodents and humans. *Immunol Rev.* 2006; 212: 28-50. doi: 10.1111/j.0105-2896.2006.00420.x
44. Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol.* 2009; 183(9): 5458-5467. doi: 10.4049/jimmunol.0803217
45. Kumagai S, Koyama S, Itahashi K, Tanegashima T, Lin YT, Togashi Y, et al. Lactic acid promotes PD-1 expression in regulatory T cells in highly glycolytic tumor microenvironments. *Cancer Cell.* 2022; 40(2): 201-218.e9. doi: 10.1016/j.ccell.2022.01.001
46. Almanan MA, Raynor J, Chougnnet C, Salamonis N, Amaraichintha S, Steinbrecher K, et al. Type 1 regulatory T cells (Tr1) homeostasis and function in aging. *J Immunol.* 2017; 198(Suppl 1): 154.10.
47. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HF, O'Garra A. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol.* 2001; 167(1): 4974-4980. doi: 10.4049/jimmunol.167.9.4974
48. Chauss D, Freiwald T, McGregor R, Yan B, Wang L, Nova-Lamperti E, et al. Autocrine vitamin D signaling switches off pro-inflammatory programs of T_H1 cells. *Nat Immunol.* 2022; 23(1): 62-74. doi: 10.1038/s41590-021-01080-3
49. Topilski I, Flaishon L, Naveh Y, Harmelin A, Levo Y, Shachar I. The anti-inflammatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on Th2 cell *in vivo* are due in part to the control of integrin-mediated T lymphocyte homing. *Eur J Immunol.* 2004; 34(4): 1068-1074. doi: 10.1002/eji.200324532
50. Fisher SA, Rahimzadeh M, Brierley C, Gratton B, Doree C, Kimber CE, et al. The role of vitamin D in increasing circulating T regulatory cell numbers and modulating T regulatory cell phenotypes in patients with inflammatory disease or in healthy volunteers: A systematic review. *PLoS One.* 2019; 14(9): e0222313. doi: 10.1371/journal.pone.0222313
51. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human cell differentiation. *J Immunol.* 2007; 179(3): 1634-1647. doi: 10.4049/jimmunol.179.3.1634
52. Muller K, Bendtzen K. Inhibition of human T lymphocyte proliferation and cytokine production by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Differential effects on CD45RA⁺ and CD45RO⁺ cells. *Autoimmunity.* 1992; 14(1): 37-43.
53. Cai H, Liu G, Zhong J, Zheng K, Xiao H, Li C, et al. Immune checkpoints in viral infections. *Viruses.* 2020; 12(9): 1051. doi: 10.3390/v12091051
54. Greaves P, Gribben JG. The role of B7 family molecules in hematologic malignancy. *Blood.* 2013; 121(5): 734-744. doi: 10.1182/blood-2012-10-3855
55. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2008; 26(1): 677-704. doi: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331
56. Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol.* 2005; 23: 515-548. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115611
57. Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, Coiteux V, Kuliczowski K, Hetuin D, et al. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN-gamma and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood.* 2007; 110(1): 296-304. doi: 10.1182/blood-2006-10-051482
58. Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishiet W, Hashimoto-Tane A, Azuma M, Saito T. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med.* 2012; 209(6): 1201-1217. doi: 10.1084/jem.20112741
59. Wolchok JD, Neyns B, Linette G, Negrier S, Lutzky J, Thomas L, et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: A randomised, double-blind, multicentre,

phase 2, dose-ranging study. *Lancet Oncology*. 2010; 11(2): 155-164. doi: 10.1016/s1470-2045(09)70334-1

60. Olsson C, Riebeck K, Dohlsten M, Michaelsson E. CTLA-4 ligation suppresses CD28-induced NF- κ B and AP-1 activity in mouse T cell blasts. *J Biol Chem*. 1999; 274(20): 14400-14405. doi: 10.1074/jbc.274.20.14400

61. Zaulkffali AS, MdRazip NN, Syed Alwi SS, AbdJalil A, AbdMusalib MS, Gopalsamy B, et al. Vitamins D and E stimulate the PI3K-AKT signalling pathway in insulin-resistant SK-N-SH neuronal cells. *Nutrients*. 2019; 11(10): 2525. doi: 10.3390/nu11102525

62. Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol*. 2007; 8(3): 239-245. doi: 10.1038/ni1443

63. Cao L, Che X, Qiu X, Li Z, Yang B, Wang S, et al. M2 macrophage infiltration into tumor islets leads to poor prognosis in non-small-cell lung cancer. *Cancer Mana Res*. 2019; 11: 6125-6138. doi: 10.2147/CMAR.S199832

64. Selenko-Gebauer N, Majdic O, Szekeres A, Höfler G, Guthann E, Korthäuer U, et al. B7-H1 (programmed death-1 ligand) on dendritic cells is involved in the induction and maintenance of T cell anergy. *J Immunol*. 2003; 17(7): 3637-3644. doi: 10.4049/jimmunol.170.7.3637

65. Aygun H. Vitamin D can reduce severity in COVID-19 through regulation of PD-L1. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2022; 395(4): 487-494. doi: 10.1007/s00210-022-02210-w

66. Pishesha N, Harmand TJ, Ploegh HL. A guide to antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol*. 2022; 22: 751-764. doi: 10.1038/s41577-022-00707-2

67. Spector WG. The granulomatous inflammatory exudate. *Int Rev Exp Pathol*. 1969; 8: 1-55.

68. Adams DO. The structure of mononuclear phagocytes differentiating *in vivo*: I. Sequential fine and histologic studies of the effect of *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG). *Am J Pathol*. 1974; 76: 17-48.

69. Dandekar RC, Kingaonkar AV, Dhabekar GS. Role of macrophages in malignancy. *Ann Maxillofac Surg*. 2011; 1(2): 150-154. doi: 10.4103/2231-0746.92782

70. Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, Hutter G, George BM, McCracken MN, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity. *Nature*. 2017; 545(7655): 495-499. doi: 10.1038/nature22396

71. McNally AK, Anderson JM. Phenotypic expression in human monocyte-derived interleukin-4-induced foreign body giant cells and macrophages *in vitro*: Dependence on material surface properties. *J Biomed Mater Res A*. 2015; 103: 1380-1390. doi: 10.1002/jbm.a.35280

72. Van den Bossche J, Bogaert P, van Hengel J, Guerin CJ, Berx G, et al. Alternatively activated macrophages engage in homotypic and heterotypic interactions through IL-4 and polyamine-induced E-cadherin/catenin complexes. *Blood*. 2009; 114: 4664-4674. doi: 10.1182/blood-2009-05-221598

73. Pagán AJ, Ramakrishnan L. The formation and function of granulomas. *Annu Rev Immunol*. 2018; 36: 639-665. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-100022

74. Mayne C, Spanier J, Relland L, Williams CB, Hayes CE. 1,25-dihydroxyvitamin D3 acts directly on the T lymphocyte vitamin D receptor to inhibit experimental autoimmune encephalomyelitis. *Eur J Immunol*. 2011; 41: 822-832. doi: 10.1002/eji.201040632

75. Lin PL, Myers A, Smith L, Bigbee C, Bigbee M, Fuhrman C, et al. Tumor necrosis factor neutralization results in disseminated disease in acute and latent *Mycobacterium tuberculosis* infection with normal granuloma structure in a cynomolgus macaque model. *Arthritis Rheum*. 2010; 62: 340-50. doi: 10.1002/art.27271

76. Muscettola M, Grasso G. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on interferon gamma production *in vitro*. *Immunol Lett*. 1988; 17: 121-124. doi: 10.1016/0165-2478(88)90079-x

77. Ohta M, Okabe T, Ozawa K, Urabe A, Takaku F. *In vitro* formation of macrophage-epithelioid cells and multinucleated giant cells by 1 α ,25-dihydroxy vitamin D3 from human circulating monocytes. *Ann N Y Acad Sci*. 1986; 465: 211-220. doi: 10.1111/j.1749-6632.1986.tb18497.x

78. Penna G, Adorini L. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol*. 2000; 164: 2405-2411. doi: 10.4049/jimmunol.164.5.2405

Сведения об авторах

Аблякимов Эльмар Тофикович – аспирант, ассистент кафедры патологической анатомии с секционным курсом, Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: ablyakimov1995@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3665-997X>

Кривенцов Максим Андреевич – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой патологической анатомии с секционным курсом, Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: maksimkgmu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5193-4311>

Information about the authors

Elmar T. Ablyakimov – Postgraduate, Teaching Assistant at the Department of Pathological Anatomy with an Autopsy Course, Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: ablyakimov1995@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3665-997X>

Maxim A. Kriventsov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Pathological Anatomy with an Autopsy Course, Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: maksimkgmu@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5193-4311>

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРИОННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ – ФАТАЛЬНАЯ СЕМЕЙНАЯ БЕССОННИЦА (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

Сороковикова Т.В.^{1,2},
Морозов А.М.²,
Крюкова А.Н.²,
Наумова С.А.²,
Митропольская А.В.³

¹ Медицинский центр «Вита» (170026, г. Тверь, ул. Карпинского, 18, офис I, Россия)

² ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России (170100, г. Тверь, ул. Советская, 4, Россия)

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России (119034, г. Москва, Кропоткинский пер., 23, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Морозов Артём Михайлович,
e-mail: ammorozovv@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Фатальная семейная бессонница – редкое генетически детерминированное нейродегенеративное расстройство из группы прионных заболеваний. Основной причиной его возникновения является аутосомно-доминантная мутация D178N гена PRNP, приводящая к синтезу патологического прионного белка PrP.

Цель. На примере клинического случая описать пример раннего дебюта фатальной семейной бессонницы у подростка, клинический пример его ведения.

Материалы и методы. Пациентка В., 16 лет, гипостенического телосложения, пониженного питания, с отягощённой наследственностью (у бабушки по линии отца – рассеянный склероз) впервые обратилась к неврологу г. Тверь с жалобами на поверхностный, укороченный до 4–5 часов сон, боли неспецифического характера во всём теле, периодические онемения в верхних конечностях. Спустя полгода присоединились заторможенность в речи и движениях, изменение походки, интенционный тремор, сон укорочен до 2 часов. В дальнейшем подросток утратил способность к самостоятельному поддержанию вертикального положения тела, способность ходить без посторонней помощи, речь была сведена к односложным ответам на вопросы. С целью верификации диагноза и дифференциальной диагностики с иными формами нейродегенеративных заболеваний подростку проводились вспомогательные методы исследования: определение наличия антител к ядерным антигенам, магнитно-резонансная томография, компьютерная электроэнцефалография, полиэкзомное секвенирование генома.

Результаты. Учитывая анамнез, жалобы подростка, многообразие клинических проявлений заболевания, а также результаты полиэкзомного секвенирования генома, был поставлен окончательный диагноз фатальной семейной бессонницы. Ввиду отсутствия этиологической и патогенетической терапии больной в дальнейшем оказывалась паллиативная медицинская помощь. Летальный исход наступил через 19 месяцев после дебюта заболевания.

Выводы. Рассмотренный клинический случай отражает сложность ведения пациентов с редкими генетическими заболеваниями, подтверждает необходимость обязательного проведения полиэкзомного секвенирования генома с целью верификации диагноза, что позволяет своевременно оказывать паллиативную помощь.

Ключевые слова: фатальная семейная бессонница, прионные заболевания, белки-прионы, нейродегенерация

Для цитирования: Сороковикова Т.В., Морозов А.М., Крюкова А.Н., Наумова С.А., Митропольская А.В. Генетическое прионное заболевание – фатальная семейная бессонница (клинический случай). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 90-94. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.8

Статья поступила: 14.10.2023

Статья принята: 14.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

GENETIC PRION DISEASE – FATAL FAMILIAL INSOMNIA (CLINICAL CASE)

Sorokovikova T.V.^{1, 2},
Morozov A.M.²,
Kryukova A.N.²,
Naumova S.A.²,
Mitropolskaya A.V.³

¹ Vita Medical Center
(Karpinskogo str. 18, office I, Tver 170026,
Russian Federation)

² Tver State Medical University
(Sovetskaya str. 4, Tver 170100,
Russian Federation)

³ Serbsky National Medical Research
Centre for Psychiatry and Narcology
(Kropotkinsky lane 23, Moscow 119034,
Russian Federation)

Corresponding author:

Artem M. Morozov,

e-mail: ammorozovv@gmail.com

ABSTRACT

Background. Fatal familial insomnia is a rare genetically determined neurodegenerative disorder from the group of prion diseases. Its main cause is the autosomal dominant D178N mutation of the PRNP gene, which leads to the synthesis of the pathological prion protein PrP.

The aim. Using the example of a clinical case to describe an example of the early onset of fatal familial insomnia in a teenager, a clinical example of its management.

Materials and methods. Female patient V., 16 years old, of hyposthenic constitution, undernourished, with negative family history (multiple sclerosis in her paternal grandmother) for the first time consulted a neurologist in Tver for the complaints of superficial sleep, shortened to 4–5 hours, unspecific pain all over the body, periodic numbness in the upper limbs. Six months later, retardation of speech and movements, changes in gait, and intentional tremor occurred; sleep was shortened to 2 hours. In the future, the teenager lost the ability to independently maintain the vertical body position, the ability to walk without assistance, speech was reduced to syllable answers to questions. In order to verify the diagnosis and to carry out differential diagnosis with other neurodegenerative diseases, the girl underwent auxiliary research methods: detection of antibodies to nuclear antigens, magnetic resonance imaging, computer electroencephalography, polyexomal genome sequencing.

Results. Based on the anamnesis, complaints, clinical picture and results of genetic research the final diagnosis of fatal familial insomnia was made. Due to the lack of etiological and pathogenetic therapy, the patient was subsequently provided with palliative medical care. The fatal outcome occurred 19 months after the onset of the disease.

Conclusions. The presented clinical case reflects the complexity of managing patients with rare genetic diseases, confirms the need for mandatory polyexomal genome sequencing in order to verify the diagnosis, which allows timely palliative care.

Key words: fatal familial insomnia, prion diseases, prion proteins, neurodegeneration

Received: 14.10.2023
Accepted: 14.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Sorokovikova T.V., Morozov A.M., Kryukova A.N., Naumova S.A., Mitropolskaya A.V. Genetic prion disease – fatal familial insomnia (clinical case). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 90-94. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.8

ОБОСНОВАНИЕ

Прионные заболевания представляют собой группу нейродегенеративных заболеваний, возникающих в результате превращения нормального прионного белка PrP^C с преимущественно α -спиральной структурой в аномальную форму белка, называемую прионом PrP^{Sc}. Данная группа заболеваний человека встречается в большинстве развитых стран мира с частотой 1–1,5 случая на 1 млн в год. Из них выделяют фатальную семейную бессонницу с аутосомно-доминантным типом наследования, связанную с мутацией в кодоне 178 (D178N) гена *PRNP*, расположенного на коротком (p) плече хромосомы 20 в позиции p13 [1]. В результате миссенс-мутации происходит замена нормальной аспарагиновой кислоты (Asp) на аспарагин (Asn), что в свою очередь приводит к деградации нейронов, пролиферации астроцитов и клеток микроглии, накоплению аномального прионного белка преимущественно в передних вентральных и медиодорзальных ядрах таламуса, нижнем оливарном ядре, мозжечке и в энторинальной коре головного мозга [2, 3].

Пациенты с фатальной семейной инсомнией чаще встречаются в возрастной группе от 20 до 61 года, а также она одинаково распространена среди мужчин и женщин. Основопологающим симптомом данной патологии является бессонница, тяжесть которой коррелирует с прогрессированием заболевания. Вегетативная дисфункция может проявляться приступами повышения артериального давления, эпизодами тахипноэ, гипергидрозом, сексуальной дисфункцией, стойкой субфебрильной температурой тела. Со стороны двигательной системы наиболее часто встречаются атаксия походки и миоклонус. В сфере когнитивных нарушений преобладают заторможенность, снижение концентрации внимания и потеря кратковременной памяти. Дизартрия и бульбарные дисфункции могут проявляться на более поздней стадии. По мере нарастания неврологического дефицита присоединяются изменения в психическом статусе [4, 5].

Сложность ведения пациентов с фатальной семейной бессонницей связана с отсутствием специфических признаков заболевания при рутинных методах диагностики и международных стандартов клинико-диагностических критериев, недостаточностью научных данных для разработки этиологической и патогенетической терапии [6, 7].

ЦЕЛЬ

На примере клинического случая описать пример раннего дебюта фатальной семейной бессонницы у подростка и клинический пример ведения такого пациента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациентка В., 16 лет, гипостенического телосложения, пониженного питания, с отягощённой наследствен-

ностью (у бабушки по линии отца – рассеянный склероз) впервые обратилась к неврологу по месту жительства в марте 2019 г. с жалобами на расстройство сна, периодическое чувство онемения в верхних конечностях, навязчивый сухой кашель, боль неспецифического характера во всём теле. Из анамнеза известно, что первые симптомы появились в январе 2019 г. Со слов матери, на фоне стрессовой ситуации в семье у подростка сократилась продолжительность сна до 4–5 ч, появились парасомнии, ассоциированные с фазой быстрого сна, по типу кошмарных сновидений, дисфория. К концу февраля больная стала предъявлять жалобы на расстройство чувствительности, проявляющиеся эпизодами онемения в верхних конечностях, боль неспецифического характера во всём теле, не имеющую связи с физическими нагрузками, стрессом, приёмом лекарственных препаратов, навязчивый сухой кашель.

При осмотре: больная гипостенического телосложения, пониженного питания, кожные покровы и видимые слизистые физиологической окраски, умеренной влажности. Дыхание везикулярное, проводится по всем отделам лёгких. Тоны сердца ясные, ритмичные. Артериальное давление 110/75 мм рт. ст. Пульс симметричный, ритмичный, удовлетворительного наполнения и напряжения, 96 уд/мин. Костно-мышечная система без патологии. Мочеиспускание и стул не нарушены. Неврологический статус: в сфере черепных нервов – установочный горизонтальный нистагм в крайних отведениях. Мышечный тонус незначительно снижен в верхних конечностях. Сухожильные рефлексы оживлены. В позе Ромберга лёгкая статическая атаксия.

Назначена нейрометаболическая терапия (гамма-амино-бета-фенилбутировой кислотой гидрохлорида 250 мг) и внутримышечные инъекции витаминного комплекса, содержащего тиамин дисульфид, пиридоксина гидрохлорид, цианокобаламин.

В марте пациентка поступает в отделение неврологии региональной больницы с целью уточнения диагноза и лечения. К описанному ранее симптомокомплексу присоединяются боли в области задней поверхности шеи неспецифического постоянного характера, несистемное головокружение, сохраняющееся повышение температуры тела до 37,5 °С. При проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) мощностью 1,5 Тл патология головного мозга не обнаружена. Обследование на системные заболевания показало наличие антител к ядерным антигенам – 0,2 ед. (при норме 0 ед.); остальные показатели были без особенностей. Принято решение о продолжении курса нейрометаболической терапии в комплексе с лечебной физкультурой и магнитотерапией на область шеи. Проведена консультация психотерапевта, в ходе которой установлено наличие депрессивного расстройства, в связи с чем в схему лечения добавлен антидепрессант (эсциталопрам оксалат 5 мг) – без положительного клинического эффекта. Неврологом пациентка переведена на транквилизатор (медазепам 10 мг) и ноотроп (гопантеповая кислота 250 мг), однако состояние оставалось без положительной динамики.

Спустя 5 месяцев после дебюта заболевания сон у подростка укорачивается до 2 ч, отмечаются заторможенность в речи и движениях, изменение походки по типу навязчивых коротких шаговых движений при остановке, интенционный тремор. Назначен повторный курс медазепам (15 мг), что привело к удлинению сна до 12 ч, но при пробуждении возник приступ дереализации: ребёнок не понимал, где находился, какой сегодня день и время суток, не узнавал окружающую обстановку и говорил не связанные с окружением фразы. В неврологическом статусе отмечаются тремор как покоя, так и движения (способность к самостоятельной ходьбе сохранена), тики век, атаксия, шумные вздохи и вокализмы, диплопия, скудная, бедная на окраску речь, в основном односложными предложениями. Вся применяемая терапия отменена. Пациентка направлена на консультацию психиатра, в ходе которой было установлено пограничное состояние по диссоциативному расстройству личности. Назначена терапия нейролептиком – кветиапина фумаратом 25 мг.

Спустя 6 месяцев после дебюта заболевания клинические проявления дополняются навязчивыми движениями головы, неспецифической болью в области поясницы, острой задержкой мочи. Больная госпитализирована, проведено повторное МРТ-исследование с внутривенным контрастированием, но конкретных данных, позволяющих определить причину заболевания, не выявлено. Поставлен диагноз: наследственно-дегенеративное заболевание центральной нервной системы не дифференцированное. Во время нахождения больной на стационарном лечении отмечался эпизод спутанности сознания, появилась симптоматика острого психоза с приступами деперсонализации и дереализации, аутоагрессии, хаотичными движениями, эхолалией, отсутствием критики к своему состоянию. Проводилась психокоррекция без фармакологической поддержки. Выписана под амбулаторное наблюдение.

В сентябре 2019 г. состояние ребёнка ухудшилось: пациентка похудела до 47 кг, появились тазовые нарушения в виде дневного и ночного энуреза, энкопреза. В связи с прогрессирующей дегенеративной симптоматикой направлена в неврологическое отделение больницы федерального уровня. В сфере черепной иннервации – среднеразмашистый горизонтальный нистагм в крайних отведениях. Положительные симптомы орального автоматизма (хоботковый и назолабиальный). В двигательнорефлекторной сфере: походка нарушена, астазии-абазия, ходит только с поддержкой или опорой, передвигается мелкими шажками, во время осмотра непроизвольно перебирает верхними и нижними конечностями. Наблюдается выраженная мышечная гипотрофия. Сила мышц снижена в нижних конечностях до 4 баллов. Мышечный тонус изменён по пластическому типу, в верхних конечностях отмечен симптом «зубчатого колеса». Сухожильные рефлексы с верхних конечностей высокие, с расширением зон без чёткой разницы сторон, с нижних конечностей – не вызываются. Непостоянный симптом Бабинского справа. В позе Ромберга не стоит, сидит с опорой. Интенция с двух сторон при проведении

пальце-молоточковой пробы. Отмечаются нарушения функций тазовых органов в виде периодических задержек и недержаний мочи, запоры. Наблюдается гипергидроз, мимическая экспрессия обеднена, на вопросы отвечает пассивно, ответы даёт скудные. Речь тихая, гиперлалия с назальным оттенком. Назначена фармакологическая терапия, включающая поливитаминный комплекс, вальпроовую кислоту (300 мг), левокарнитин (1 мл), фенобарбитал (25 мг). Выписана для продолжения лечения по месту жительства.

Спустя 12 месяцев после дебюта заболевания состояние ребёнка оставалось тяжёлым. Вес больной составлял 35 кг, индекс массы тела – 14 кг/м². При осмотре: сознание спутанное, отмечается вынужденное положение в постели, сопровождающееся навязчивыми, вычурными движениями конечностей и туловища. Кожные покровы бледно-серые, чистые, на лице – периорбитально тёмные круги. Речь по-прежнему нарушена, отвечает на поставленные вопросы с трудом, односложными предложениями. Наблюдается общий гипергидроз с присоединившейся дистальной гипертермией. Самостоятельно не может сидеть или ходить, передвижение возможно только с поддержкой. Функции тазовых органов также нарушены: стул со склонностью к запорам, дизурические явления в виде задержки мочи.

С целью верификации диагноза ребёнку выполнены диагностические исследования. Так, электроэнцефалографический мониторинг показал медленные формы активности тета-диапазона 6 Гц, регистрирующиеся по всем отделам полушарий, без региональных различий.

В общем анализе крови и мочи патологии обнаружено не было. При проведении полиэкзомного секвенирования генома обнаружена мутация во втором экзоне гена *PRNP*, приводящая к замене pAsp178Asn, ассоциированная с фатальной семейной бессонницей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая анамнез, жалобы подростка, многообразие клинических проявлений заболевания, а также результаты полиэкзомного секвенирования генома, был поставлен окончательный диагноз: фатальная семейная бессонница. Ввиду отсутствия этиологической и патогенетической терапии данного заболевания больной в дальнейшем оказывалась паллиативная медицинская помощь. Летальный исход наступил через 19 месяцев после дебюта заболевания.

Согласно данным литературы, пациенты с фатальной семейной инсомнией чаще встречаются в возрастной группе от 20 до 61 года, а продолжительность жизни варьирует от 7 до 72 месяцев [8]. В описанном клиническом случае дебют диагностирован у девушки 16 лет; о пациентах с фатальной семейной бессонницей в подростковом возрасте ранее не сообщалось.

Представленный клинический случай демонстрирует неоднозначность и многогранность клинических проявлений фатальной семейной бессонницы, что под-

тверждает необходимость использования единых диагностических критериев. Так, была установлена чёткая диагностическая иерархия, которая включала: органические симптомы, связанные со сном в виде неподдающейся лечению инсомнии; снижение когнитивных способностей в виде прогрессирующего слабоумия; появление галлюцинаций, бредовых расстройств, депрессии; изменение личности по диссоциативному типу; потеря веса более 10 кг за последние 6 месяцев. Определяющими диагностическими критериями оставались положительный семейный анамнез с имеющейся инсомнией и данные полиэкзомного секвенирования генома с выявленной мутацией гена *PRNP* [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотренный клинический случай отражает сложность ведения пациентов с редкими генетическими заболеваниями, в частности с фатальной семейной бессонницей, связанную с отсутствием специфических изменений при проведении типичных диагностических мероприятий (МРТ, ЭЭГ) и стандартов этиопатогенетической терапии, что подтверждает необходимость обязательного проведения полиэкзомного секвенирования генома и выявления мутации D178N с целью верификации диагноза, позволяющего своевременно оказывать паллиативную помощь.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения об авторах

Сорокикова Татьяна Викторовна – кандидат медицинских наук, врач-невролог, Медицинский центр «Вита»; доцент кафедры неврологии, реабилитации и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ssaphir@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9238-8270>

Морозов Артём Михайлович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ammorozov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4213-5379>

Крюкова Анастасия Николаевна – студентка 5-го курса, ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: kryukova.nastya8a@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0007-5289-6856>

Наумова София Александровна – студентка 5-го курса, ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: sofia_naumova_2017@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-5460-0716>

Митропольская Александра Викторовна – клинический ординатор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского» Минздрава России, e-mail: A.mitropolskaya@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0001-6665-2808>

Information about the authors

Tatiana V. Sorokovikova – Cand. Sc. (Med.), Neurologist, Vita Medical Center; Associate Professor at the Department of Neurology, Rehabilitation and Neurosurgery, Tver State Medical University, e-mail: ssaphir@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9238-8270>

Artem M. Morozov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of General Surgery, Tver State Medical University, e-mail: ammorozov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4213-5379>

Anastasia N. Kryukova – 5th year Student, Tver State Medical University, e-mail: kryukova.nastya8a@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0007-5289-6856>

Sofia A. Naumova – 5th year Student, Tver State Medical University, e-mail: sofia_naumova_2017@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-5460-0716>

Alexandra V. Mitropolskaya – Clinical Resident, Serbsky National Medical Research Centre for Psychiatry and Narcology, e-mail: A.mitropolskaya@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0001-6665-2808>

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Geschwind MD. Prion diseases. *Continuum (Minneapolis)*. 2015; 21: 1612-1638. doi: 10.1212/CON.0000000000000251
2. Appleby BS, Shetty S, Elkasaby M. Genetic aspects of human prion diseases. *Front Neurol*. 2022; 13: 1003056. doi: 10.3389/fneur.2022.1003056
3. Crocco L, Appleby BS, Gambetti P. Fatal familial insomnia and sporadic insomnia with fatal outcome. *Handb Clin Neurol*. 2018; (153): 271-299. doi: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00015-5
4. Rodriguez-Porcel F, Ciarlariello VB, Dwivedi AK, Lovera L, Da Prat G, Lopez-Castellanos R, et al. Movement disorders in prionopathies: A systematic review. *Tremor Other Hyperkinet Mov (NY)*. 2019; 9. doi: 10.5334/tohm.512
5. Baldelli L, Provini F. Fatal familial insomnia and agrypnia excitata: Autonomic dysfunctions and pathophysiological implications. *Auton Neurosci*. 2019; 218: 68-86. doi: 10.1016/j.autneu.2019.02.007
6. Xie K, Chen Y, Chu M, Cui Y, Chen Z, Zhang J, et al. Specific structural-metabolic pattern of thalamic subnuclei in fatal familial insomnia: A PET/MRI imaging study. *Neuroimage Clin*. 2022; 34: 103026. doi: 10.1016/j.nicl.2022.103026
7. Goldman JS, Vallabh SM. Genetic counseling for prion disease: Updates and best practices. *Genet Med*. 2022; 24(10): 1993-2003. doi: 10.1016/j.gim.2022.06.003
8. Wu L, Lu H, Wang X, Liu J, Huang C, Ye J, et al. Clinical features and sleep analysis of Chinese patients with fatal familial insomnia. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 36-25. doi: 10.1038/s41598-017-03817-3
9. Chu M, Xie K, Zhang J, Chen Z, Gorayeb I, Ruprecht S, et al. Proposal of new diagnostic criteria for fatal familial insomnia. *J Neurol*. 2022; 269(9): 4909-4919. doi: 10.1007/s00415-022-11135-6

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ INFECTIOUS DISEASES

LIPID PEROXIDATION – ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM IN CHILDREN WITH SEASONAL INFLUENZA

Kazantseva E.D.,
Darenskaya M.A.,
Rychkova L.V.,
Petrova A.G.,
Semenova N.V.,
Kurashova N.A.,
Grebinkina L.A.,
Kolesnikova L.I.

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. Influenza remains a serious viral infection in children and has consequences for the organism.

The aim of the study. To analyze the lipid peroxidation products and antioxidant defense (AOD) components level in children of two age groups with seasonal influenza. **Materials and methods.** We examined 141 children aged from 1 month to 6 years with a diagnosis of influenza (subgroup 1 – 1 month – 2.11 years ($n = 78$); subgroup 2 – 3–6 years ($n = 63$)), 47 children of control group (subgroup 3 – 1 month – 2.11 years ($n = 17$); subgroup 4 – 3–6 years ($n = 30$)). Spectrophotometric, fluorometric and statistical methods were used.

Results. In subgroup 1 of children with influenza, there were higher levels of compounds with double bonds ($p = 0.001$), conjugated dienes (CDs) ($p < 0.0001$), ketodienes and conjugated trienes (KD and CT) ($p = 0.004$); in subgroup 2 of children with influenza – increased values of CDs ($p < 0.0001$), KD and CT ($p < 0.0001$) and thiobarbituric acid reactants ($p < 0.0001$) compared to the control. The AOD system in subgroup 1 was characterized by a decrease in the level of α -tocopherol ($p < 0.0001$), retinol ($p < 0.0001$) and higher oxidized glutathione (GSSG) values ($p = 0.002$) compared to the control. Children of subgroup 2 had lower values of the level of α -tocopherol ($p < 0.001$), retinol ($p = 0.012$) and total antioxidant activity ($p < 0.0001$) and higher values of GSSG ($p = 0.035$) compared to the control.

Conclusion. In children with influenza, regardless of age, there is a higher level of production of lipid peroxidation indicators, a lack of fat-soluble vitamins and higher values of oxidized glutathione than in healthy children.

Key words: influenza, children, lipid peroxidation, antioxidant defense

Received: 14.03.2024
Accepted: 10.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Kazantseva E.D., Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Petrova A.G., Semenova N.V., Kurashova N.A., Grebinkina L.A., Kolesnikova L.I. Lipid peroxidation – antioxidant defense system in children with seasonal influenza. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 95-101. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.9

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ – СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ДЕТЕЙ С СЕЗОННЫМ ГРИППОМ

Казанцева Е.Д.,
Даренская М.А.,
Рычкова Л.В.,
Петрова А.Г.,
Семёнова Н.В.,
Курашова Н.А.,
Гребенкина Л.А.,
Колесникова Л.И.

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. Грипп остаётся серьёзной вирусной инфекцией у детей и имеет последствия для здоровья.

Цель исследования. Проанализировать уровень продуктов перекисного окисления липидов и компонентов антиоксидантной защиты (АОЗ) у детей двух возрастных групп, больных сезонным гриппом.

Материалы и методы. Обследован 141 ребёнок в возрасте от 1 месяца до 6 лет с диагнозом грипп (1-я подгруппа – от 1 месяца до 2,11 года ($n = 78$); 2-я подгруппа – 3–6 лет ($n = 63$)); 47 детей контрольной группы (3-я подгруппа – от 1 месяца до 2,11 года ($n = 17$); 4-я подгруппа – 3–6 лет ($n = 30$)). Использовались спектрофотометрические, флуориметрические и статистические методы.

Результаты. В 1-й подгруппе детей с гриппом отмечались более высокие уровни соединений с двойными связями ($p = 0,001$), диеновых конъюгатов (ДК) ($p < 0,0001$), кетодиенов и сопряжённых триенов (КД и СТ) ($p = 0,004$); во 2-й подгруппе детей с гриппом – повышенные значения ДК ($p < 0,0001$), КД и СТ ($p < 0,0001$) и ТБК-активных продуктов ($p < 0,0001$) в сравнении с контролем. Система АОЗ в 1-й подгруппе характеризовалась снижением уровня α -токоферола ($p < 0,0001$), ретинола ($p < 0,0001$) и более высокими значениями окисленного глутатиона (GSSG) ($p = 0,002$) по отношению к контролю. У детей 2-й подгруппы отмечались более низкие значения уровня α -токоферола ($p < 0,001$), ретинола ($p = 0,012$), общей антиокислительной активности ($p < 0,0001$) и повышенные значения GSSG ($p = 0,035$) в сравнении с контролем.

Заключение. У детей при гриппе независимо от возраста отмечаются более высокий, чем у здоровых детей, уровень продуктов липопероксидации, недостаток жирорастворимых витаминов и повышенные значения окисленного глутатиона.

Ключевые слова: грипп, дети, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита

Для цитирования: Казанцева Е.Д., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Петрова А.Г., Семёнова Н.В., Курашова Н.А., Гребенкина Л.А., Колесникова Л.И. Перекисное окисление липидов – система антиоксидантной защиты у детей с сезонным гриппом. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 95-101. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.9

Статья получена: 14.03.2024

Статья принята: 10.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

ABBREVIATIONS

AOD – antioxidant defence
 CDs – conjugated dienes
 DB – double bounds
 GSH – reduced glutathione
 GSSG – oxidized glutathione
 KD and CT – ketodienes and conjugated trienes
 LPO – lipid peroxidation
 OS – oxidative stress
 SB – Schiff basis
 SOD – superoxide dismutase
 TAA – total antioxidant activity
 TBARs – thiobarbituric acid reactants

INTRODUCTION

Influenza remains a pressing acute respiratory viral infection, which causes significant social and economic damage to public health [1]. Influenza and influenza-like infections are comparable in scale of damage to traumas, cardiovascular diseases and malignant neoplasms [2]. The influenza virus is characterized by seasonal circulation; small children, the elderly, people with weakened immune system and people with chronic diseases are at risk and have a high susceptibility to this disease [3]. The number of sick children during the epidemic period exceeds 30 %, the probability of illness and the risk of severe course in children is 1.5–3 times higher than in adults [4]. The influenza virus has significant genetic variability, which reduces the effectiveness of existing vaccines and limits the therapeutic possibilities due to the emergence of new strains resistant to standard therapy [3]. The emergence of a new coronavirus infection caused by SARS-CoV-2 requires new diagnostic and therapeutic options, especially in risk groups, since influenza viruses and SARS-CoV-2 are both RNA viruses [2]. In the pathogenetic mechanisms of the infectious process during influenza, of great importance is the non-specific defense system: lipid peroxidation-antioxidant defense (LPO-AOD) [5].

The role of LPO has been proven in the phagocytosis and destruction of microorganisms, in the metabolism of some xenobiotics, and in the synthesis of some biologically active substances, in particular prostaglandins [6–8]. Because hydroperoxides act as primary stable products in the oxidation of unsaturated fatty acids of phospholipids, this process is called peroxidation. Subsequently, peroxidative degradation of phospholipid molecules occurs, which changes the conformation of the cell membrane and lipoproteins [9]. Excessive synthesis of lipid peroxidation products is prevented by the antioxidant defense system, the main elements of which are antioxidants – substances that inhibit or reduce the intensity of free radical oxidation, neutralizing free radicals, exchanging their hydrogen atom for the oxygen of free radicals [10, 11]. Currently, the study of this process is very relevant and the role

of oxidative stress in children of different ages and in various pathological conditions (arterial hypertension, chronic gastroduodenitis, influenza, cholelithiasis, pyelonephritis, metabolic syndrome, type 1 diabetes mellitus) has been proven [12, 13]. Despite the available research, there are very little data on changes in this system in children with influenza in a comparative age aspect.

THE AIM OF THE STUDY

To analyze the lipid peroxidation products and antioxidant defense components level in children of two age groups with seasonal influenza.

MATERIALS AND METHODS

We examined 141 children diagnosed with influenza who were hospitalized at the Irkutsk Regional Infectious Diseases Clinical Hospital from 2018 to 2019; the average age of the patients was 2.87 ± 0.9 years. In the control group ($n = 47$), the average age of patients was 3.13 ± 1.1 years. In the main group, patients were divided into subgroups: subgroup 1 – 1 month – 2.11 years ($n = 78$); subgroup 2 – 3–6 years ($n = 63$), control group: subgroup 3 – 1 month – 2.11 years ($n = 17$), subgroup 4 – 3–6 years ($n = 30$).

When working with case histories, the following were assessed: gender, age of a child, duration of hospitalization, main diagnosis, concomitant diagnosis, presence of complications, nature and duration of the main clinical symptoms, general and biochemical blood tests, verification of the influenza virus by polymerase chain reaction.

Gender structure of patients with influenza: 70 (52 %) boys and 64 (48 %) girls; average age – 3 years. In the structure of influenza incidence, influenza A (H1N1sw2009) serotype predominated – in 76 % of cases, influenza A (H3N2) made 16 %. In the structure of concomitant diagnoses, a significant place belongs to acute intestinal infection – 16 % (of rotavirus and noravirus etiology), atopic dermatitis was noted in 2 % of cases, hypochromic anemia – in 6 %, enterobiasis was observed in isolated cases.

The structure of complications of the underlying disease: acetoneic vomiting syndrome or ketoacidosis syndrome was observed in 12 % of cases, pneumonia was detected in 16 %, obstructive bronchitis – in 2 %. The average length of hospitalization was 5 ± 1.6 days.

The clinical picture of seasonal influenza had the following characteristics: 66 % of children had a runny nose, 84 % had dry cough, 92 % had fever, and 38 % of children had complaints of intoxication. Apathy and drowsiness were observed in 44 % of patients, weakness was observed in 34 %, decreased appetite in 26 %, headaches bothered 8 % of children, pain in muscles and joints was not observed in anyone. Sore throat and pain when swallowing were noted by 6 % of children, abdominal pain and diarrhea were observed in 8 % of children, vomiting – in 28 %, convulsions – in 4 %, ear pain and dizziness – in 1 % of children.

The nature of rhinitis in 72 % of cases was mucous, the duration of the runny nose was 5 ± 2.48 days. The nature of the cough in 84 % of cases was dry; 6 % of children had wet cough, duration – 5 ± 1.5 days. The median body temperature during fever was 38.5 ± 0.68 °C, the duration of fever was 2 ± 1.45 days. Pharyngeal hyperemia was observed in 96 % of cases.

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (1964, ed. 2013) and approved by the Biomedical Ethics Committee at the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Extract from meeting No. 8.4 of November 2, 2018).

The research materials were plasma and serum. The S-monovette dipotassium ethylene diamine tetraacetic acid (K3-EDTA) blood collection system (Sarstedt, Germany) was used for venous blood collection (10 mL). The analysis was conducted after overnight rest of subjects, blood was taken on an empty stomach, between 8.00 and 9.00 a. m. Immediately after collection, blood was centrifuged at $1500 \times g$ for 10 min to separate the plasma from the erythrocytes. Plasma was taken, and the erythrocytes were washed three times in cold saline solution (0.9 % NaCl, w/v). Then, the erythrocytes were hemolyzed by adding 9 volumes of cold 50 mM phosphate buffer of pH = 7.4 (v:v). Samples were kept frozen at the temperature of -40 °C until use.

The intensity of the lipid peroxidation processes was assessed by the content of unsaturated double bonds (DB), primary products – conjugated dienes (CDs), and secondary – ketodienes and conjugated trienes (KD and CT) products by the method of I.A. Volchegorskiy et al. (1989) [14], based on the intensive absorption of conjugated diene structures by lipid hydroperoxides in the range 220, 232 and 278 nm. The content of end products – thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) and Schiff basis (SB) – was determined in the reaction with thiobarbituric acid in the range 532 and 440 nm using the fluorimetric method of V.B. Gavrilov et al. (1987) [15]. Total antioxidant activity (TAA) was evaluated by the method of G.I. Klebanov et al. (1988) [16]. To evaluate TAA, a model system, which is a lipoprotein suspension of chicken egg yolk that allows to evaluate the ability of blood serum to inhibit the accumulation of TBARs in suspension, was used. LPO was induced by adding $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. The content of reduced and oxidized glutathione (GSH and GSSG) was determined by P.J. Hissin, R. Hilf (1976) [17], the activity of superoxide dismutase (SOD) was measured using the method of H.P. Misra, I. Fridovich (1972) [18]. Concentrations of α -tocopherol and retinol were determined using the method of R.Ch. Chernyauksene et al. (1984) [19]. The method provides for the removal of substances that prevent determination by saponification of samples in the presence of large amounts of ascorbic acid and extraction of unsaponifiable lipids with hexane, followed by fluorometric determination of the content of α -tocopherol and retinol. At this, α -tocopherol has intense fluorescence with maximum of excitation at $\lambda = 294$ nm and radiation at $\lambda = 330$ nm; retinol at $\lambda = 335$ and $\lambda = 460$ nm.

Plasma was analyzed to determine the levels of lipid peroxidation products (DB, CDs, KD and CT, TBARs, SB) and an-

tioxidant defense factors (TAA, α -tocopherol, retinol). SOD, GSH, and GSSG were estimated in erythrocytes.

The measurements were carried out using a spectrophotometer SF-2000 (Russia), a spectrofluorophotometer BTS-350 (Spain) and fluorate 02 ABFF-T (Russia).

The work was carried out using the equipment of the Center for the Development of Advanced Personalized Health Technologies of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk.

To analyze the obtained data, the statistical package Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA) was used. To determine the proximity to the normal law of distribution of quantitative characteristics, a visual-graphical method and Kolmogorov – Smirnov agreement criteria with the Lilliefors and Shapiro – Wilk correction were used. Equality of common variances was tested using Fisher's test (F-test). The nonparametric Mann – Whitney test was used to analyze intergroup differences for independent samples. The critical significance level was set at 5 % (0.05).

RESULTS AND DISCUSSION

The obtained data are presented in Table 1.

Data analysis in children with seasonal influenza in age group 1 showed statistically significantly higher values of compounds with unsaturated DB, CDs, KD and CT compared to the corresponding control (Table 1).

In the group of children of age group 2 with influenza, the differences concerned increased values of CDs, KD and CT and TBARs (Table 1).

The AOD system in age group 1 of children with influenza was characterized by lower levels of α -tocopherol, retinol and higher values of GSSG (Table 1).

Children of age group 2 had lower values of α -tocopherol, retinol, total AOA and higher values of GSSG (Table 1).

No statistically significant differences were obtained between different age groups of children with influenza.

In the formation of homeostasis of any living organisms, LPO-AOP processes play an important role, which has been proven by numerous scientific studies [7, 20]. In a healthy body, two processes occur in parallel in all cells and membranes: on the one hand, it is LPO and the formation of free radical metabolic products; on the other hand, it is a powerful antioxidant defense [20]. Hyperactivation of these processes leads to the formation of oxidative stress, which is of significant importance in the pathogenesis of infectious diseases [21]. LPO metabolites lead to proliferation of cells of the immune system, accumulation of neutrophils at the site of inflammation, change surface receptors in macrophages, and increase the expression of adhesion molecules on endothelial cells [7]. The death of the infectious agent in the pathogenesis of inflammatory reactions is possible only if one's own tissues are damaged at the site of injury. As a result of free radical oxidation, damage to mitochondrial membranes and nuclear structures of cells occurs, this in turn leads to the destruction of blood vessels and barrier mechanisms at the cellular level, resulting in the development of a disease with in-

TABLE 1

LEVELS OF LPO PRODUCTS AND AOD COMPONENTS IN CHILDREN OF TWO AGE GROUPS WITH SEASONAL INFLUENZA, ME (Q1; Q3)

Parameters	Control (1 month – 2.11 years) (n = 17)	Influenza (1 month – 2.11 years) (n = 78)	Control (3–6 years) (n = 30)	Influenza (3–6 years) (n = 63)	p
	1	2	3	4	
DB, units	1.54 (1.22; 1.80)	2.46 (1.68; 3.18)	1.94 (1.68; 2.18)	2.23 (1.48; 3.01)	$p_{1-2} = 0,001$
CDs, $\mu\text{mol/L}$	1.19 (0.96; 1.38)	2.30 (1.68; 3.25)	1.00 (0.82; 1.38)	2.33 (1.44; 3.12)	$p_{1-2} < 0,0001$ $p_{3-4} < 0,0001$
KD and CT, units	0.47 (0.28; 0.80)	0.76 (0.48; 1.36)	0.37 (0.24; 0.66)	0.74 (0.42; 1.14)	$p_{1-2} = 0,004$ $p_{3-4} < 0,0001$
TBARs, $\mu\text{mol/L}$	1.03 (0.92; 1.33)	1.47 (0.83; 2.01)	0.82 (0.62; 1.13)	1.55 (1.08; 2.06)	$p_{3-4} < 0,0001$
SB, units	0.04 (0.03; 0.05)	0.05 (0.03; 0.09)	0.05 (0.04; 0.06)	0.07 (0.03; 0.12)	
retinol, $\mu\text{mol/L}$	1.75 (1.63; 1.97)	1.23 (1.08; 1.58)	1.32 (1.14; 1.88)	1.22 (0.95; 1.51)	$p_{1-2} < 0,0001$ $p_{3-4} = 0,012$
α -tocopherol, $\mu\text{mol/L}$	10.00 (9.47; 11.74)	6.28 (5.30; 7.46)	8.67 (6.35; 10.22)	6.27 (5.05; 7.47)	$p_{1-2} < 0,0001$ $p_{3-4} < 0,001$
TAA, units	16.43 (8.87; 26.28)	12.15 (8.62; 15.94)	18.01 (14.68; 26.81)	12.20 (8.27; 15.76)	$p_{3-4} < 0,0001$
GSSG, mmol/L	1.86 (1.56; 2.22)	2.33 (2.23; 2.57)	1.96 (1.69; 2.46)	2.32 (2.12; 2.55)	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{3-4} = 0,035$
GSH, mmol/L	2.42 (2.11; 2.65)	2.34 (2.24; 2.52)	2.52 (2.24; 2.66)	2.33 (2.27; 2.58)	
SOD activity, units	1.56 (1.55; 1.60)	1.61 (1.57; 1.68)	1.56 (1.52; 1.59)	1.60 (1.55; 1.64)	

Note. p – statistically significant differences between groups with influenza and control groups.

flammatory, toxic and autoimmune mechanisms in pathogenesis [22, 23]. The synthesis of various other metabolites leads to persistent changes in the composition of biomembranes, the development of a serious imbalance in the LPO-AOD system, and they further have a damaging effect on healthy cells of the body.

We have shown an increase in the content of lipid peroxidation products in children with seasonal influenza, regardless of the child's age. It is known that the end products of lipid peroxidation can change the functional activity of phagocytes, inhibit the biosynthesis of superoxide radicals by neutrophils, slow down phagocytosis in monocytes and neutrophils, having pronounced chemotactic activity [24]. The described changes are possible under conditions of a significant deficiency of antioxidant substrates. In our study, we found a pronounced deficiency of fat-soluble vitamins in children with seasonal influenza, regardless of age. At the same time, in young children there was an increase in the oxidized form of glutathione, and at the age of 3–6 years – a decrease in the total antioxidant activity of blood serum. Fat-soluble vitamins (tocopherols and retinol) are present in the fat layer of cell membranes and are able to neutralize free radicals [19]. Al-

pha tocopherol is the biologically most active of the tocopherols; it limits free radical reactions, being a donor of hydrogen ions, like ascorbate. Due to its lipophilicity, the tocopherol molecule has the ability to integrate into the lipid layer of cell membranes, providing membrane protective and membrane stabilizing effects. Alpha-tocopherol can maintain the functional integrity of the outer plasma membrane of cells, can participate in the mechanisms of tissue respiration in mitochondria, regulate the functioning of cell enzyme systems, thereby preventing LPO activity [24]. The greatest antioxidant properties among retinol precursors has beta-carotene; it has conjugated double bonds and is capable of rapid oxidation using free radical oxidation mechanisms [25]. When antioxidant defense is suppressed, free radical damage occurs to various cell structures and tissues [26, 27].

The results of our study are confirmed by literature data. It is known that in uncomplicated forms of influenza A among pediatric patients, there is a decrease in AOD and a significant increase in LPO processes, depending on the severity of the clinical course of the viral infection. In patients with influenza A who had complications in the form of viral-bacterial pneumonia, AOD is signifi-

cantly weakened, and LPO processes are very active [26]. It was previously studied that influenza produces reactive oxygen species of mitochondrial origin, which destroys lung epithelial cells, leading to their histopathological damage. Pore-forming toxins produced as a result of necroptosis further aggravate the damage to lung tissues and structures, while creating a breeding ground for the spread of pathogenic bacteria [27]. The use of drugs with antioxidant properties in the treatment of viral infections, in particular influenza in children, can lead to the elimination of necroptosis and reduce the severity of the disease complicated by a secondary bacterial infection [27, 28].

Thus, the study confirms the importance of lipid peroxidation processes in the pathogenesis of infectious pathology, including the formation of complicated and uncomplicated forms of seasonal influenza in children.

CONCLUSION

In conclusion, we would like to note that there are higher rates of primary, secondary and end products of lipid peroxidation, and a pronounced lack of fat-soluble vitamins in children with seasonal influenza, regardless of age. In young children, higher levels of the oxidized form of glutathione were observed, in 3–6 years old children – reduced production of antioxidant factors. In connection with the changes in the LPO-AOD system identified in our study, we recommend implementing measures aimed at correcting the above indicators, namely, prescribing medications with antioxidant properties for the treatment of children with seasonal influenza.

Conflict of interests

The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCES

1. Zyryanov SK, Butranova OI, Gaidai DS, Kryshen KL. Pharmacotherapy for acute respiratory infections caused by influenza viruses: Current possibilities. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2021; 93(1): 114-124. (In Russ.). doi: 10.26442/00403660.2021.01.200551
2. Shapiro A, Marinsek N, Clay I, Bradshaw B, Ramirez E, Min J, et al. Characterizing COVID-19 and influenza illnesses in the real world via person-generated health data. *Patterns*. 2021; 2(1): 100188. doi: 10.1016/j.patter.2020.100188
3. Qiao M, Moyes G, Zhu F, Li Y, Wang X. The prevalence of influenza bacterial co-infection and its role in disease severity: A systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2023; 13: 04063. doi: 10.7189/jogh.13.04063
4. Wang X, Li Y, O'Brien KL, Madhi SA, Widdowson MA, Byass P, et al. Global burden of respiratory infections associated with seasonal influenza in children under 5 years in 2018: A systematic review and modelling study. *Lancet Glob Health*. 2020; 8(4): e497-e510. doi: 10.1016/S2214-109X(19)30545-5
5. Chen KK, Minakuchi M, Wuputra K, Ku CC, Pan JB, Kuo KK, et al. Redox control in the pathophysiology of influenza virus infection. *BMC Microbiol*. 2020; 20(1): 1-22. doi: 10.1186/s12866-020-01890-9
6. Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Rychkova LV, Kravtsova OV, Semenova NV, Kolesnikov SI. Relationship between lipid metabolism state, lipid peroxidation and antioxidant defense system in girls with constitutional obesity. *AIMS Mol Sci*. 2021; 8(2): 117-126. doi: 10.3934/molsci.2021009
7. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: A pathophysiological view. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16(4): 16-29. (In Russ.). doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29
8. Darenskaya MA, Rychkova LV, Kolesnikov SI, Kravtsova OV, Semenova NV, Brichagina A, et al. Oxidative stress index levels in Asian adolescents with exogenous-constitutional obesity. *International Journal of Biomedicine*. 2022; 12(1): 142-146. doi: 10.21103/Article12(1)_OA16
9. To EE, Erlich JR, Liong F, Luong R, Liong S, Esaq F, et al. Mitochondrial reactive oxygen species contribute to pathological inflammation during influenza A virus infection in mice. *Antioxid Redox Signal*. 2020; 32: 929-942. doi:10.1089/ars.2019.7727
10. 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
11. Darenskaya MA, Gavrilova OA, Rychkova LV, Kravtsova OV, Grebenkina LA, Osipova EV, et al. The assessment of oxidative stress intensity in adolescents with obesity by the integral index. *International Journal of Biomedicine*. 2018; 8(1): 37-41. doi: 10.21103/Article8(1)_OA5
12. Miromanova NA. State of processes of lipid peroxidation and antioxidant system in children with A H1N1 pdm09 influenza. *Journal of Infectology*. 2014; 6(1): 29-34. (In Russ.).
13. Gavrilova OA. Features of the process of lipid peroxidation in normal and non-motor pathological conditions in children (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(4): 15-22. (In Russ.).
14. Volchegorskiy IA, Nalimov AG, Yarovinskiy BG, Lifshits RI. Comparison of different approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol extracts of blood. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 1989; 35(1): 127-131. (In Russ.).
15. Gavrilov VB, Gavrilova AR, Mazhul' LM. Analysis of methods for determining the products of lipid peroxidation in blood serum by the test with thiobarbituric acid. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 1987; 1: 118-122. (In Russ.).
16. Klebanov GI, Babenkova IV, Teselkin Yu O. Evaluation of AOA of blood plasma using yolk lipoproteins. *Laboratornoe delo*. 1988; 5: 59-60. (In Russ.).
17. Hissin PJ, Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem*. 1976; 74: 214-226.
18. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972; 247: 3170-3175.
19. Chernyauksene RCh, Varshkyavichene ZZ, Gribauska PS. Simultaneous determination of the concentrations of vitamins E and A in serum. *Laboratornoe delo*. 1984; 6: 362-365. (In Russ.).
20. Darenskaya MA, Rychkova LV, Balzhirova DB, Semenova NV, Nikitina OA, Lesnaya A, et al. The level of lipid peroxidation products and medium-molecular-weight peptides in adolescents

with obesity. *International Journal of Biomedicine*. 2023; 13(2): 292-295. doi: 10.21103/Article13(2)_OA17

21. Sies H. Oxidative stress: Concept and some practical aspects. *Antioxidants*. 2020; 9(9): 852. doi: 10.3390/antiox9090852

22. Rychkova LV, Darenskaya MA, Petrova AG, Semenova NV, Moskaleva EV, Kolesnikov SI, et al. Pro- and antioxidant status in newborn with COVID-19. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023; 174(4): 464-467. doi: 10.1007/s10517-023-05730-4

23. Lushchak VI, Storey KB. Oxidative stress concept updated: Definitions, classifications, and regulatory pathways implicated. *EXCLI J*. 2021; 20(956): 956-967. doi: 10.17179/excli2021-3596

24. Sies H. Oxidative eustress: On constant alert for redox homeostasis. *Redox Biol*. 2021; 41: 101867. doi: 10.1016/j.redox.2021.101867

25. Liu M, Chen F, Liu T, Chen F, Liu S, Yang J. The role of oxidative stress in influenza virus infection. *Microbes Infect*. 2017; 19(12): 580-586. doi: 10.1016/j.micinf.2017.08.008

26. Barouh N, Bourlieu-Lacanal C, Figueroa-Espinoza MC, Durand E, Villeneuve P. Tocopherols as antioxidants in lipid-based systems: The combination of chemical and physicochemical interactions determines their efficiency. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2021; 21(1): 642-688. doi: 10.1111/1541-4337.12867

27. Bohn T, Böhm V, Dulińska-Litewka J, Landrier JF, Bánáti D, Kucuk O, et al. Is vitamin A an antioxidant? *Int J Vitam Nutr Res*. 2023; 93(6):481-482. doi: 10.1024/0300-9831/a000752

28. Gonzalez-Juarbe N, Riegler AN, Jureka AS, Gilley RP, Brand JD, Trombley JE, et al. Influenza-induced oxidative stress sensitizes lung cells to bacterial-toxin-mediated necroptosis. *Cell Rep*. 2020; 32(8): 108062. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108062

Information about the authors

Ekaterina D. Kazantseva – Postgraduate, Junior Research Officer 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>

Marina A. Darenskaya – Dr. Sc. (Biol.), 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>

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>

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>

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>

Nadezhda A. Kurashova – Dr. Sc. (Biol.), Academic Secretary, Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nakurashova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8591-8619>

Lyudmila A. Grebenkina – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: greblud@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Honored Scientist of the Russian Federation, Academic Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Сведения об авторах

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

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

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>

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

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>

Курашова Надежда Александровна – доктор биологических наук, учёный секретарь, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nakurashova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8591-8619>

Гребенкина Людмила Анатольевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: greblud@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

ЛЕКАРСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ АНТИРЕТРОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ У ДЕТЕЙ С ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Самбялова А.Ю.¹,
Баирова Т.А.¹,
Бельских А.В.¹,
Манаенкова Т.Л.^{1,2},
Беляева Е.В.¹,
Ершова О.А.¹,
Немчинова Н.В.¹,
Плотникова Ю.К.²,
Колесникова Л.И.¹,
Рычкова Л.В.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» (664035, г. Иркутск, ул. Спартаковская, 11, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Самбялова Александра Юрьевна,
e-mail: sambialova95@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Терапевтический лекарственный мониторинг – практика измерения концентрации лекарственного препарата в биологических жидкостях пациента для оценки эффективности и безопасности лекарственной терапии. Результаты определения уровня лекарственного препарата в биологических жидкостях также могут указывать на несоблюдение режима лечения и низкую приверженность к терапии.

Цель исследования. Сравнить концентрации некоторых антиретровирусных препаратов (лопинавир, ритонавир, ламивудин, абакавир, зидовудин) у детей, живущих с ВИЧ-инфекцией, в разных возрастных группах.

Методы. Обследовано 184 ребёнка с перинатальной ВИЧ-инфекцией, которым проведён терапевтический лекарственный мониторинг нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ) (ламивудин, абакавир, зидовудин) и ингибиторов протеазы (лопинавир, ритонавир). Дети разделены на 4 возрастные группы. В первую группу включены дети 1–2 лет ($n = 7$); во вторую – дети 3–5 лет ($n = 14$); в третью – дети 6–11 лет ($n = 78$); в четвёртую – дети 12–17 лет ($n = 85$). Концентрацию антиретровирусных препаратов в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективной детекцией.

Результаты. Самая низкая концентрация лопинавира выявлена у детей 12–17 лет (3782 [2117–5046] нг/мл), которая статистически значимо отличалась от аналогичного показателя детей 6–11 лет (5614 [3521–7264] нг/мл; $p = 0.011$). Для других антиретровирусных препаратов не выявлено статистически значимых различий концентраций в плазме крови у детей разных возрастных групп.

Заключение. Самые низкие концентрации лопинавира детектируются у детей старше 11 лет. Для других изучаемых антиретровирусных препаратов данной закономерности не выявлено.

Ключевые слова: антиретровирусная терапия, ВИЧ-инфекция, терапевтический лекарственный мониторинг, дети и подростки, приверженность

Для цитирования: Самбялова А.Ю., Баирова Т.А., Бельских А.В., Манаенкова Т.Л., Беляева Е.В., Ершова О.А., Немчинова Н.В., Плотникова Ю.К., Колесникова Л.И., Рычкова Л.В. Лекарственный мониторинг антиретровирусных препаратов у детей с перинатальной ВИЧ-инфекцией. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 102-110. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.10

Статья поступила: 08.04.2024

Статья принята: 06.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

DRUG MONITORING OF ANTIRETROVIRAL DRUGS IN CHILDREN WITH PERINATAL HIV INFECTION

Sambyalova A.Yu.¹,
Bairova T.A.¹,
Belskikh A.V.¹,
Manaenkova T.L.^{1,2},
Belyaeva E.V.¹,
Ershova O.A.¹,
Nemchinova N.V.¹,
Plotnikova Yu.K.²,
Kolesnikova L.I.¹,
Rychkova L.V.¹

¹ Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² Irkutsk Regional Center for the Prevention
and Control of AIDS and Infectious Diseases
(Spartakovskaya str. 11, Irkutsk 664035,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alexandra Yu. Sambyalova,
e-mail: sambialova95@mail.ru

ABSTRACT

Therapeutic drug monitoring is the practice of measuring the concentration of a drug in patient's biological fluids to assess the effectiveness and safety of drug therapy. The results of determining the drug level in biological fluids can also indicate non-compliance of therapy regimen and low adherence to therapy.

The aim. To compare the concentrations of some antiretroviral drugs (lopinavir, ritonavir, lamivudine, abacavir, zidovudine) in children living with HIV infection of different age groups.

Methods. We examined 184 children with perinatal HIV infection who underwent therapeutic drug monitoring of nucleoside reverse transcriptase inhibitors (lamivudine, abacavir, zidovudine) and protease inhibitors (lopinavir, ritonavir). Children were divided into four age groups. Group 1 included children 1–2 years old ($n = 7$); group 2 – children 3–5 years old ($n = 14$); group 3 – children 6–11 years old ($n = 78$); group 4 – children 12–17 years old ($n = 85$). The concentration of antiretroviral drugs in blood plasma was determined using high-performance liquid chromatography with mass selective detection.

Results. The lowest lopinavir concentration was found in children 12–17 years old (3782 [2117–5046] ng/ml), which was statistically significantly different from the similar values in children 6–11 years old (5614 [3521–7264] ng/ml; $p = 0.011$). For other antiretroviral drugs, no statistically significant differences in blood plasma concentrations were found in children of different age groups.

Conclusion. The lowest lopinavir concentrations are detected in children older than 11 years. For the other studied antiretroviral drugs, this pattern was not revealed.

Key words: antiretroviral therapy, HIV infection, therapeutic drug monitoring, children and adolescents, adherence

For citation: Sambyalova A.Yu., Bairova T.A., Belskikh A.V., Manaenkova T.L., Belyaeva E.V., Ershova O.A., Nemchinova N.V., Plotnikova Yu.K., Kolesnikova L.I., Rychkova L.V. Drug monitoring of antiretroviral drugs in children with perinatal HIV infection. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 102-110. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.10

Received: 08.04.2024
Accepted: 06.06.2024
Published: 15.07.2024

ВВЕДЕНИЕ

По оценкам Объединённой программы ООН по ВИЧ/СПИДу (UNAIDS, The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS), в 2022 г. во всём мире проживало 1,5 млн детей в возрасте до 15 лет с ВИЧ-инфекцией [1]. Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) рекомендована комбинированная антиретровирусная терапия (АРТ) – комбинация трёх препаратов, приводящая к длительному подавлению вируса, что позволило обеспечить существенное снижение смертности и увеличение продолжительности жизни детей с ВИЧ-инфекцией [2].

Раннее начало и высокая приверженность к антиретровирусной терапии обеспечивают максимальное подавление репликации ВИЧ, уменьшают накопление вируса в клетках и помогают сохранить иммунологическую функцию, обеспечивающую нормальный рост и развитие детей, живущих с ВИЧ [3–7]. Низкая приверженность и несоблюдение схемы АРТ всего лишь в течение нескольких недель могут привести к потере эффективности схемы и отбору штаммов, устойчивых не только к данной комбинации препаратов, но и, возможно, к другим антиретровирусным препаратам (АРВП), которые пациенту не назначались (перекрёстная резистентность) [8].

Высокоинформативным методом оценки приверженности является измерение концентрации лекарственных препаратов и/или их метаболитов в крови, моче и других биологических жидкостях, т. е. терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ). У лиц, живущих с ВИЧ-инфекцией, ТЛМ является лабораторным методом мониторинга за эффективностью и токсичностью АРВП, предусматривает анализ неудач при отсутствии резистентности вируса и несоблюдения режима фармакотерапии. Более того, идентификация неоптимальных концентраций АРВП позволяет провести своевременную коррекцию терапии, избежав тем самым формирования фармакорезистентных штаммов вируса [3].

Таким образом, ТЛМ как метод оценки приверженности и оценки особенностей метаболизма АРВП помогает предотвратить прогрессирование ВИЧ-инфекции.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнить концентрации антиретровирусных препаратов (лопинавир, ритонавир, ламивудин, абакавир, зидовудин) у детей разных возрастных групп, живущих с ВИЧ-инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены дети и подростки в возрасте от 1 до 18 лет с перинатальной ВИЧ-инфекцией. Всего в период с января 2019 по март 2022 г. обследовано 184 пациента, находящихся на диспансерном учёте в ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями» (ГБУЗ «ИОЦ СПИД»). Более подробное описание групп

исследования и сбора данных опубликовано в предыдущей нашей статье [9].

Согласно клиническим рекомендациям по лечению ВИЧ-инфекции у детей (2020), расчёт дозы препарата проводился с учётом веса или площади поверхности тела ребёнка по формуле Мостеллера (мг/м^2). Все дети и подростки разделены на четыре возрастные группы в зависимости от предпочитаемых, согласно клиническим рекомендациям «ВИЧ-инфекция у детей» (2020), возрастных схем антиретровирусных препаратов [10]. В первой возрастной группе детей (≥ 1 года и < 3 лет) схема АРТ включала лопинавир ($n = 5$), ритонавир ($n = 5$), ламивудин ($n = 7$), абакавир ($n = 5$), зидовудин ($n = 1$). Детям второй возрастной группы (≥ 3 лет и < 6 лет) назначены лопинавир ($n = 11$), ритонавир ($n = 11$), ламивудин ($n = 14$), абакавир ($n = 9$) и зидовудин ($n = 1$). Схема АРТ детям третьей возрастной группы (≥ 6 лет и < 12 лет) включала лопинавир ($n = 54$), ритонавир ($n = 54$), ламивудин ($n = 70$), абакавир ($n = 53$) и зидовудин ($n = 16$). Детям старшей возрастной группы (≥ 12 лет) были назначены схемы АРТ, включающие лопинавир ($n = 38$), ритонавир ($n = 38$), ламивудин ($n = 59$), абакавир ($n = 25$) и зидовудин ($n = 28$). Информация об АРВП и продолжительности их приёма представлена в таблице 1.

Частота назначения исследуемых АРВП у мальчиков и девочек не отличалась. Вирусная нагрузка у детей разных возрастных групп, принимающих анализируемые антиретровирусные препараты, также не имела статистически значимых различий. Сравнительный анализ продолжительности приёма АРВП выявил закономерные тенденции увеличения продолжительности приёма с увеличением возраста детей. Самый короткий период приёма антиретровирусных препаратов (в месяцах) зарегистрирован у самой младшей возрастной группы.

Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (Бразилия, 2013). Для всех участников получено письменное согласие у родителей (законных представителей) для подростков до 15 лет, согласие подростков старше 15 лет. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 3 от 07.04.2021).

Количественное определение антиретровирусных препаратов в плазме

Взятие крови для определения концентрации антиретровирусных препаратов в плазме крови проведено однократно во время очередного планового приёма. Предварительного информирования пациентов и их законных представителей о предстоящем заборе крови не было. Для определения концентрации АРВП был разработан метод мультиплексной оценки концентраций с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-селективной детекцией. В качестве соединений для идентификации веществ использованы аналитические стандарты ритонавира, лопинавира, абакавира, ламивудина и зидовудина, изготовленные в соответствии с Американской рецептурной книгой (United States

ТАБЛИЦА 1
ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ НА МОМЕНТ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИРЕТРОВИРУСНЫХ
ПРЕПАРАТОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ

TABLE 1
CHARACTERISTICS OF PATIENTS AT THE TIME
OF DETERMINING THE CONCENTRATION
OF ANTIRETROVIRAL DRUGS IN BLOOD PLASMA

Характеристики	Лопинавир	Ритонавир	Ламивудин	Абакавир	Зидовудин
Всего (n = 184)	108	108	150	92	82
в т. ч. девочки, n (%)					
≥ 1 года и < 3 лет (n = 7)	3 (60 %)	3 (60 %)	4 (57 %)	3 (60 %)	0
≥ 3 лет и < 6 лет (n = 14)	7 (64 %)	7 (64 %)	9 (64 %)	4 (44 %)	1 (100 %)
≥ 6 лет и < 12 лет (n = 78)	25 (46 %)	25 (46 %)	35 (50 %)	24 (45 %)	8 (50 %)
≥ 12 лет (n = 85)	18 (47 %)	18 (47 %)	33 (56 %)	13 (52 %)	18 (64 %)
Всего девочек, n (%)	53 (49,1 %)	53 (49,1 %)	81 (54 %)	44 (47,8 %)	27 (32,9 %)
p	0,7095	0,7095	0,7617	0,8849	0,3940
Продолжительность терапии (мес.), Ме [Q1–Q3]					
≥ 1 года и < 3 лет (n = 7)	10 [6–11]	10 [6–11]	10 [7,5–13,5]	10 [6–11]	16
≥ 3 лет и < 6 лет (n = 14)	34 [21–52]	34 [21–52]	42,5 [26,2–53,8]	53 [47–57]	34
≥ 6 лет и < 12 лет (n = 78)	68,5 [48–92]	68,5 [48–92]	68 [48,2–86,8]	66 [48–83]	69 [47,5–104]
≥ 12 лет (n = 85)	65 [31–116]	65 [31–116]	36 [12–92]	47 [11–94]	40,5 [26,2–110]
p	0,00027*	0,00027*	0,04771*	0,00766*	0,3171
Вирусная нагрузка (log ₁₀ копий/мл), Ме [Q1–Q3]					
≥ 1 года и < 3 лет (n = 7)	0 [0–0]	0 [0–0]	0 [0–1,3]	0 [0–0]	2,6
≥ 3 лет и < 6 лет (n = 14)	0 [0–2,15]	0 [0–2,15]	0,95 [0–2,75]	0 [0–2,3]	5,6
≥ 6 лет и < 12 лет (n = 78)	0 [0–1,2]	0 [0–1,2]	0 [0–0]	0 [0–0]	0 [0–2,03]
≥ 12 лет (n = 85)	0 [0–2,3]	0 [0–2,3]	0 [0–2,5]	0 [0–2,3]	0 [0–2,4]
p	0,5718	0,5718	0,0895	0,5207	0,1668

Примечание. Критерий χ^2 использован для сравнения групп по полу, для остальных параметров использован критерий Краскела – Уоллиса; * – $p < 0,05$.

Pharmacopeia) и Европейской фармакопеей (European Pharmacopoeia). Все органические растворители имели квалификацию MS-grade/ОСЧ (особо чистый). Вода для приготовления элюента готовилась с помощью системы очистки воды Arium Mini Plus (Sartorius AG, Германия). Квалификация химических реактивов, использованных в работе, соответствовала стандартным требованиям к проведению биоаналитических исследований. Для приготовления контрольных и калибровочных растворов в «холостой» биологический материал (пулированная K2ЭДТА плазма крови человека, не содержащая анализируемых препаратов) помещали точно дозированное количество раствора смеси аналитических стандартов. В ходе приготовления модельных смесей исходный биоматериал разбавляли не более чем на 5 % от его объёма, для того чтобы полученная смесь максимально точно отражала состав реальной человеческой крови. Хроматографическое разделение выполнено на системе Shimadzu Nexera X2 (Япония) с двумя насосами высокого давления и созданием градиента на сто-

роне высокого давления. Детекция аналита осуществлялась с применением трёхквადрупольного tandemного масс-спектрометра LCMS-8060 (Shimadzu, Япония) в режиме положительной ионизации с гибридным sdвоенным источником ионизации (DUIS, dual ion source) и применением техники мониторинга множественных реакций (MRM, multiple reaction monitoring).

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием «R studio» – свободной среды разработки программного обеспечения с открытым исходным кодом для языка программирования R, предназначенной для статистической обработки данных и работы с графикой.

Для оценки качественных переменных используется критерий χ^2 . Для оценки различий количественных переменных использовали критерий Краскела – Уоллиса. Статистически значимой разницу считали при $p < 0,05$. При обнаружении статистически значимых различий между группами дополнительно проводили апостери-

орное попарное сравнение при помощи критерия Манна – Уитни. Статистически значимой разницу считали с поправкой Бонферрони ($p < 0,0125$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ концентраций изучаемых антиретровирусных препаратов в разных возрастных группах представлен на рисунке 1.

При сравнении концентрации ламивудина у детей разных возрастных групп, принимающих данный препарат в составе комбинированной схемы АРВП, не выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$). Так, медиана и межквартильный размах (Me [Q1–Q3]) концентрации ламивудина составили 198 [186–444] нг/мл в первой возрастной группе, 276 [142–1664] нг/мл – во второй, 400 [162–1708] нг/мл – в третьей, 494 [134–1279] нг/мл – в четвертой. Не обнаружено статистически значимых различий при сравнении концентрации другого нуклеозидного ингибитора обратной транскрипта-

зы – абакавира: 16 [0–31], 1018 [58–1914], 128 [42,1–688] и 70,4 [6–402] нг/мл в первой, второй, третьей и четвертой возрастных группах соответственно. Аналогичная тенденция выявлена и для зидовудина в плазме крови. Первая и вторая возрастные группы по зидовудину включали по одному пациенту, поэтому для них невозможно посчитать медиану и межквартильный размах. Для третьей группы концентрация зидовудина составила 10,5 [0–80,5] нг/мл, для четвертой – 33,1 [3–115] нг/мл.

Для АРВП класса ингибитора протеазы продемонстрирована иная закономерность: самая низкая медиана концентрации лопинавира наблюдалась в четвертой возрастной группе (у детей старше 11 лет) и составила 3782 [2117–5046] нг/мл, что статистически значимо ниже аналогичного показателя в третьей возрастной группе (≥ 6 лет и < 12 лет) – 5614 [3521–7264] нг/мл ($p = 0,011$). Медиана концентрации лопинавира в первой группе составила 4872 [4765–5809] нг/мл, что ниже, чем во второй группе – 8024 [6339–9370] нг/мл, хотя разница не достигла статистической значимости ($p > 0,05$).

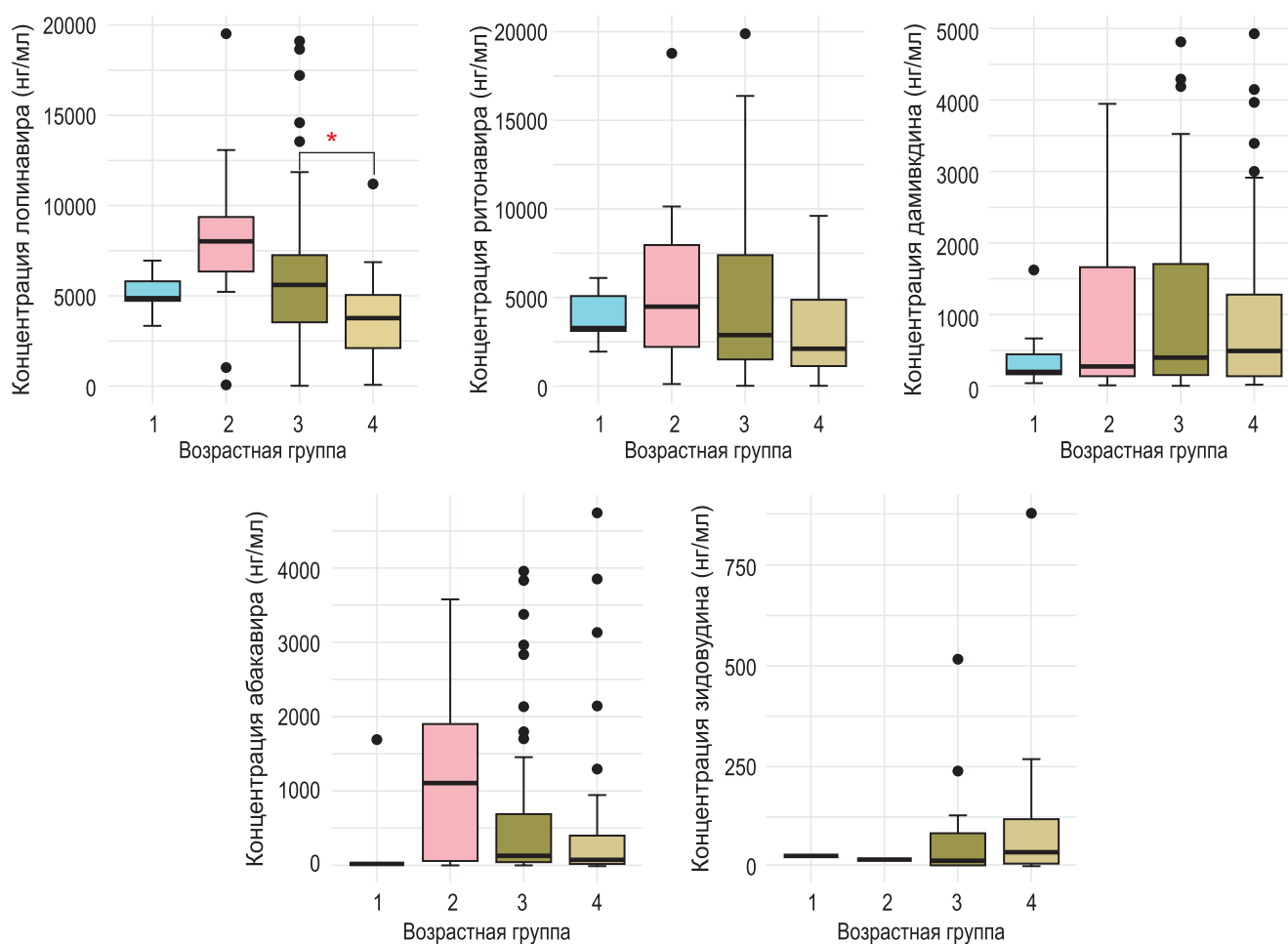


РИС. 1.

Сравнение концентраций антиретровирусных препаратов в разных возрастных группах с помощью попарного сравнения по критерию Манна – Уитни; статистическая значимость с поправкой Бонферрони: * – $p < 0,0125$

FIG. 1.

Comparison of antiretroviral drug concentrations in different age groups using pair-wise method by the Mann – Whitney test; statistical significance with Bonferroni correction: * – $p < 0.0125$

Самые низкие концентрации ритонавира, как и лопинавира, выявлены у детей четвертой возрастной группы – 212 [119–489] нг/мл, затем по возрастанию: во второй группе – 451 [223–797] нг/мл, в первой группе – 326 [311–510] нг/мл, в третьей группе – 290 [151–745] нг/мл ($p > 0,05$).

Далее проведён анализ частоты встречаемости недетектируемых концентраций изучаемых АРВП у детей, в схему назначения которых включены препараты лопинавир, ритонавир, ламивудин, абакавир, зидовудин. Результаты представлены в таблице 2.

Из анализируемых АРВП только 4,7 % детей имели недетектируемые концентрации ламивудина в плазме крови, что может свидетельствовать о большей приверженности к данному препарату. Самая высокая частота встречаемости детей с недетектируемыми концентрациями выявлена для зидовудина, что может свидетельствовать о том, что дети, живущие с ВИЧ-инфекцией, могут иметь низкую приверженность к приёму зидовудина.

В 1-й и 2-й возрастных группах не выявлено детей с недетектируемыми концентрациями НИОТ (ламивудина, зидовудина) и ингибитора протеазы (лопинавир

с бустером ритонавир). Недетектируемые концентрации абакавира выявлены у детей во всех анализируемых возрастных группах и с большей частотой – у детей старших возрастных групп.

На следующем этапе проведён сравнительный анализ концентрации пяти антиретровирусных препаратов у детей разного пола, результаты которого представлены в таблице 3.

Таким образом, при сравнении концентраций АРВП между выборками мальчиков и девочек нами не выявлено статистически значимых различий.

ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день из возможных объективных методов лабораторной оценки приверженности пациентов к антиретровирусной терапии наибольшее распространение получила оценка вирусной нагрузки и мониторинг количества CD3 и CD4 [10]. Однако, согласно данным М.В. Акуловой (2016), неудовлетворительные показатели вирусной нагрузки и иммунного статуса могут свидетель-

ТАБЛИЦА 2
КОЛИЧЕСТВО ДЕТЕЙ, У КОТОРЫХ ВЫЯВЛЕНЫ НЕДЕТЕКТИРУЕМЫЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИРЕТРОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ, n (%)

Группы	Лопинавир ($n = 108$)	Ритонавир ($n = 108$)	Ламивудин ($n = 150$)	Абакавир ($n = 92$)	Зидовудин ($n = 46$)
≥ 1 года и < 3 лет	0	0	0	2 (2,17 %)	0
≥ 3 лет и < 6 лет	0	0	0	1 (1,08 %)	0
≥ 6 лет и < 12 лет	5 (4,63 %)	6 (5,55 %)	4 (2,67 %)	6 (6,52 %)	6 (7,3 %)
≥ 12 лет	6 (5,55 %)	6 (5,55 %)	3 (2 %)	5 (6,43 %)	7 (8,54 %)
Всего	11 (10,19 %)	12 (11,11 %)	7 (4,67 %)	14 (15,22 %)	13 (28,26 %)
p	0,704	0,558	0,748	0,313	0,658

Примечание. Критерий χ^2 использован для сравнения групп; различия статистически значимы при $p < 0,05$.

TABLE 2
NUMBER OF CHILDREN WHO HAD UNDETECTABLE CONCENTRATIONS OF ANTI-RETROVIRAL DRUGS, n (%)

ТАБЛИЦА 3
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИРЕТРОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ У ДЕТЕЙ РАЗНОГО ПОЛА (НГ/МЛ)

Пол	Лопинавир, Ме [Q1–Q3], n	p	Ритонавир, Ме [Q1–Q3], n	p	Ламивудин, Ме [Q1–Q3], n	p	Абакавир, Ме [Q1–Q3], n	p	Зидовудин, Ме [Q1–Q3], n	p
муж.	4957 [2167–6804] $n = 64$	0,3443	228 [88–525] $n = 65$	0,7769	387 [114–1327] $n = 71$	0,7976	208 [19,5–1764] $n = 51$	0,3544	26,1 [3–158] $n = 20$	0,324
жен.	4765 [454–7025] $n = 71$		283 [20,5–625] $n = 71$		398 [112–1622] $n = 89$		99,6 [32,2–674] $n = 46$		60,1 [8,5–376] $n = 35$	

Примечание. Критерий Краскела – Уоллиса использован для сравнения; различия статистически значимы при $p < 0,05$.

ствовать как о неприверженности пациента, так и о неправильно подобранной схеме лечения и наличии резистентности вируса к определённым АРВП. Измерение уровня концентрации лекарственных препаратов более объективно, так как подтверждает факт приёма препарата, но не его регулярность. Более того, по мнению автора, метод сложен технически и имеет высокую стоимость [11].

Вместе с тем ранее проведённые исследования подчёркивают полезность терапевтического лекарственного мониторинга для оценки приверженности, определения дозировки и прогнозирования эффективности АРВП у детей, живущих с ВИЧ-инфекцией [12–16]. В обзоре 17 клинических исследований 2002 г., посвящённых изучению факторов, способствующих успеху или неудаче АРТ у детей, показан более высокий уровень вирусологической эффективности (60–90 %) у пациентов, которым проводилась оценка приверженности с помощью ТЛМ [17]. Другие исследования поставили под сомнение ценность рутинного использования терапевтического лекарственного мониторинга АРВП у детей и подростков, живущих с ВИЧ-инфекцией. Исследователи А.Е. Engelbrecht и соавт. ретроспективно рассмотрели показания к запросам на ТЛМ антиретровирусных препаратов в детской больнице Тайгерберг (Кейптаун, Южно-Африканская Республика) с января 2012 г. по июнь 2017 г. и выявили, что большинство запросов на ТЛМ были у детей при подозрении на несоблюдение режима лечения лопинавиром (83 % – 53 из 64 детей), несогласованность терапии и межлекарственное взаимодействие лопинавира с рифампицином. Концентрации лопинавира в плазме, хотя и ожидалось низкими при этих показаниях, имели большую вариабельность и детектировались в основном терапевтическом диапазоне (> 1000 нг/мл) [18].

Показано, что лопинавир в дозе 1000 нг/мл обеспечивает достаточную экспозицию лопинавира при АРТ у пациентов, ранее не получавших АРВП, и этот уровень используется в качестве целевого для ТЛМ как у взрослых, так и у детей [19]. Лопинавир/ритонавир (LPV/r) лицензирован для применения у детей в возрасте 14 дней. Из-за сердечной и метаболической токсичности, а также из-за риска надпочечниковой недостаточности детям младше 14 дней не следует применять LPV/r. Лопинавир можно принимать в виде жидкой формы или в таблетках (для детей весом больше 15 кг). Дозы LPV/r 230/57,5 мг/м² и 300/75 мг/м² соответствуют рекомендациям руководства Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA, Food and Drug Administration) [20] и показали адекватную эффективность и приемлемую токсичность в рандомизированных исследованиях [21]. Однако высказаны опасения по поводу недостаточных уровней воздействия концентрации лопинавира, достигаемых при дозе 230/57,5 мг/м², из-за риска развития резистентности вируса, особенно у детей младше 2 лет, у которых наблюдается повышенный клиренс лопинавира. Из-за этих опасений детям всех возрастов, ранее проходившим лечение, рекомендуется доза LPV/r 300/75 мг/м², а дозу 230/57,5 мг/м² можно использовать у детей в возрасте старше 1 года, ранее не получавших лечения. Более того, исследователи N. Rakhmanina и со-

авт. пришли к выводу, что текущая стратегия дозирования LPV/r для ранее получавших АРТ, по-видимому, адекватна для терапии детей, инфицированных вирусом дикого типа, но вряд ли будет достаточной для вирусов с резистентностью к лопинавиру. Поэтому авторы приходят к выводу, что в таких случаях пациентам будет полезно пройти ТЛМ и тестирование на резистентность вируса [22]. В исследовании по моделированию авторов J. Yang и соавт. из школы фармации и фармацевтических наук Калифорнийского университета оценивали влияние формы таблеток и возраста на воздействие лопинавира. Резкое снижение клиренса с увеличением возраста отмечено в первые 2 года жизни, а увеличение биодоступности наблюдалось при переводе детей с жидкой формы на таблетированную, что свидетельствует о необходимости переоценки текущих доз лопинавира [23].

Нами проведён ТЛМ у детей и подростков, живущих с ВИЧ-инфекцией. Показаны статистически значимые различия концентрации лопинавира между детьми из 3-й и 4-й возрастных групп: самая низкая концентрация лопинавира выявлена у детей старше 11 лет и составила 3782 [2117–5046] нг/мл против 5614 [3521–7264] нг/мл в третьей группе ($p = 0,011$).

Нами не выявлены различия концентраций НИОТ (ламивудина, абакавира, зидовудина) в анализируемых разных возрастных выборках. Известно, что внутриклеточные концентрации некоторых НИОТ коррелируют с маркерами терапевтической эффективности, такими как снижение вирусной нагрузки и увеличение CD4 [24]. Измерение внутриклеточных концентраций активного соединения является дорогостоящим и трудоёмким, и, следовательно, эти концентрации обычно не являются целевыми для ТЛМ, за исключением исследовательских целей. К сожалению, доза или концентрация исходного соединения в плазме плохо коррелируют с внутриклеточной концентрацией активной формы лекарства в клетке-мишени [25].

Известно, что приверженность к АРТ у детей и подростков во многом зависит от ряда факторов, в том числе от возраста, половой принадлежности ребёнка, раскрытия информации о статусе ВИЧ, отношения к лечению, сложности схем лечения, психического здоровья (ребёнка и опекуна), семейного положения (например, сиротский статус), своевременного посещения клиники, а также от проживания в сельской или городской местности [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Увеличение приверженности к АРТ является актуальной и глобальной задачей, позволяющей обеспечить снижение дальнейшего распространения ВИЧ-инфекции. Одним из методов оценки приверженности к АРТ является терапевтический лекарственный мониторинг, применение которого в представленном исследовании позволило выделить некоторые факторы, влияющие на приверженность к терапии у детей, живущих с ВИЧ-инфекцией. К таким факторам следует отнести возраст пациента и антиретровирусный препарат. Так, показано, что наиболь-

шая частота недетектируемых концентраций выявлена для зидовудина, наименьшая – для ламивудина. У детей подросткового возраста статистически значимо ниже концентрации лопинавира, чем у детей других возрастных групп. Полагаем, что комплексное применение оценки приверженности к терапии, включающей терапевтический лекарственный мониторинг, позволит поддержать усилия по разработке упрощённых безопасных и эффективных дозировок АРВП в педиатрической популяции.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. UNAIDS. URL: <https://www.unaids.org/ru/resources/factsheet> [date of access: 15.03.2024].
2. *Guidelines for managing advanced HIV disease and rapid initiation of antiretroviral therapy*. Geneva: World Health Organization; 2017.
3. Waalewijn H, Turkova A, Rakhmanina N, Cressey TR, Penazza M, Colbers A, et al. Optimizing pediatric dosing recommendations and treatment management of antiretroviral drugs using therapeutic drug monitoring data in children living with HIV. *Ther Drug Monit*. 2019; 41(4): 431-443. doi: 10.1097/FTD.0000000000000637
4. Petrova A, Vaniarkina A, Plotnikova J, Rychkova L, Moskaleva E. Impact of combined antiretroviral prophylaxis on health outcomes in HIV exposed neonates. *Arch Dis Child*. 2019; 104(Suppl 3): A4. doi: 10.1136/archdischild-2019-epa.9
5. Shugaeva S, Petrova A, Vaniarkina A, Rychkova L. Health problems in neonates with perinatal HIV exposure. *Arch Dis Child*. 2019; 104(Suppl 3): A143. doi: 10.1136/archdischild-2019-epa.329
6. Рашидова М.А., Шолохов Л.Ф., Марянян А.Ю., Колесникова Л.И. ВИЧ и беременность: реалии XXI века. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022; 42(2): 10-17. [Rashidova MA, Sholokhov LF, Marianian AY, Kolesnikova LI. HIV and pregnancy: Realities of XXI century. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2022; 42(2): 10-17. (In Russ.)]. doi: 10.18699/SSMJ20220202
7. Самбялова А.Ю., Баирова Т.А., Манаенкова Т.Л., Бельских А.В., Плотникова Ю.К., Рычкова Л.В. Вирусологическая неэффективность антиретровирусной терапии и связанные с ней социальные и клинические факторы у детей и подростков, живущих с ВИЧ-инфекцией. *Журнал инфектологии*. 2022; 14(5): 51-59. [Sambyalova AY, Bairova TA, Manaenkova TL, Belskikh AV, Plotnikova YuK, Rychkova LV. Virological failure of antiretroviral therapy and associated social and clinical factors in children and adolescents living with HIV. *Journal Infectology*. 2022; 14(5): 51-59. (In Russ.)]. doi: 10.22625/2072-6732-2022-14-5-51-59
8. Vreeman RC, Scanlon ML, Tu W, Slaven JE, McAteer CI, Kerr SJ, et al. Validation of a self-report adherence measurement tool among a multinational cohort of children living with HIV in Kenya, South Africa and Thailand. *J Int AIDS Soc*. 2019; 22(5): e25304. doi: 10.1002/jia2.25304
9. Самбялова А.Ю., Баирова Т.А., Манаенкова Т.Л., Бельских А.В., Беляева Е.В., Ершова О.А., и др. Некоторые фармакогенетические аспекты гена *ABCB1* в вариативности концентрации лопинавира/ритонавира у детей с ВИЧ-инфекцией: пилотное исследование. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 53-61. [Sambyalova AY, Bairova TA, Manaenkova TL, Belskikh AV, Belyaeva EV, Ershova OA, et al. Some pharmacogenetic aspects of the *ABCB1* gene in lopinavir/ritonavir concentration variability in children with HIV infection: A pilot study. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 53-61. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.7
10. Национальная ассоциация специалистов по профилактике, диагностике и лечению ВИЧ-инфекции. *ВИЧ-инфекция у детей: клинические рекомендации*. М.; 2020. [National Association of Specialists in Prevention, Diagnostics and Treatment of HIV Infection. *HIV infection in children: Clinical recommendations*. Moscow; 2020. (In Russ.)].
11. Акулова М.В. Методы оценки, контроля и повышения приверженности антиретровирусной терапии. Методическое пособие для медицинских специалистов по вопросам приверженности пациентов с ВИЧ-инфекцией АРВ-терапии. 2016. [Akulova MV. *Methods of assessment, control and improvement of adherence to antiretroviral therapy. Guidelines for medical specialists on the adherence of patients with HIV infection to antiretroviral therapy*. 2016. (In Russ.)].
12. von Bibra M, Rosenkranz B, Pretorius E, Rabie H, Edson C, Lenker U, et al. Are lopinavir and efavirenz serum concentrations in HIV-infected children in the therapeutic range in clinical practice? *Paediatr Int Child Health*. 2014; 34(2): 138-141. doi: 10.1179/2046905513Y.00000000090
13. Moholisa RR, Schomaker M, Kuhn L, Meredith S, Wiesner L, Coovadia A, et al. Plasma lopinavir concentrations predict virological failure in a cohort of South African children initiating a protease-inhibitor-based regimen. *Antivir Ther*. 2014; 19(4): 399-406. doi: 10.3851/IMP2749
14. Hirt D, Urien S, Olivier M, Peyrière H, Nacro B, Diagbouga S, et al. Is the recommended dose of efavirenz optimal in young West African human immunodeficiency virus-infected children? *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53(10): 4407-4413. doi: 10.1128/AAC.01594-08
15. Rakhmanina NY, van den Anker JN, Soldin SJ, van Schaik RH, Mordwinkin N, Neely MN. Can therapeutic drug monitoring improve pharmacotherapy of HIV infection in adolescents? *Ther Drug Monit*. 2010; 32(3): 273-281. doi: 10.1097/FTD.0b013e3181dca14b
16. van Rossum AM, Bergshoeff AS, Fraaij PL, Hugen PW, Hartwig NG, Geelen SP, et al. Therapeutic drug monitoring of indinavir and nelfinavir to assess adherence to therapy in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 2002; 21(8): 743-747. doi: 10.1097/00006454-200208000-00009
17. van Rossum AM, Fraaij PL, de Groot R. Efficacy of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infected children. *Lancet Infect Dis*. 2002; 2(2): 93-102. doi: 10.1016/s1473-3099(02)00183-4
18. Engelbrecht AE, Wiesner L, Norman J, Rabie H, De-cloedt EH. Pediatric antiretroviral therapeutic drug monitoring: A five and a half year experience from a South African tertiary hospital. *J Trop Pediatr*. 2020; 66(4): 385-394. doi: 10.1093/tropej/fmz077
19. HHS Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of Children Living with HIV – A Working Group of the NIH Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC). *Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection*. URL: <https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/pediatric-arv/whats-new> [date of access: 05.03.2024].
20. FDA. *FDA drug safety communication: Serious health problems seen in premature babies given Kaletra (lopinavir/ritonavir) oral*

solution. URL: <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm246002.htm> [date of access: 01.03.2024].

21. Barlow-Mosha L, Angelidou K, Lindsey J, Archary M, Cotton M, Dittmer S, et al. Nevirapine- versus lopinavir/ritonavir-based antiretroviral therapy in HIV-infected infants and young children: Long-term follow-up of the IMPAACT P1060 randomized trial. *Clin Infect Dis*. 2016; 63(8): 1113-1121. doi: 10.1093/cid/ciw488

22. Rakhmanina N, van den Anker J, Baghdassarian A, Soldin S, Williams K, Neely MN. Population pharmacokinetics of lopinavir predict suboptimal therapeutic concentrations in treatment-experienced human immunodeficiency virus-infected children. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53(6): 2532-2538. doi: 10.1128/AAC.01374-08

23. Yang J, Nikanjam M, Best BM, Pinto J, Chadwick EG, Daar ES, et al. Population pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir:

Changes across formulations and human development from infancy through adulthood. *J Clin Pharmacol*. 2018; 58(12): 1604-1617. doi: 10.1002/jcph.1293

24. Fletcher CV, Kawle SP, Kakuda TN, Anderson PL, Weller D, Bushman LR, et al. Zidovudine triphosphate and lamivudine triphosphate concentration-response relationships in HIV-infected persons. *AIDS*. 2000; 14(14): 2137-2144. doi: 10.1097/00002030-200009290-00010

25. Kinai E, Kato S, Hosokawa S, Sadatsuki M, Gatanaga H, Kikuchi Y, et al. High plasma concentrations of zidovudine (AZT) do not parallel intracellular concentrations of AZT-triphosphates in infants during prevention of mother-to-child HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2016; 72(3): 246-253. doi: 10.1097/QAI.0000000000000950

Сведения об авторах

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

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

Манаенкова Татьяна Леонидовна – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; инфекционист, ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», e-mail: vodnay.stihiay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9201-7288>

Бельских Алексей Владимирович – кандидат химических наук, инженер лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alex590750@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3678-7274>

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

Ершова Оксана Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: oksana111088@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0690-4636>

Немчинова Надежда Владимировна – лаборант-исследователь лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nemchinova.nad@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9720-8750>

Плотникова Юлия Кимовна – главный врач, ГБУЗ «Иркутский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями», e-mail: aids@aims38.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2912-9118>

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>

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, 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

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

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

Tatiana L. Manaenkova – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Infectious Disease Specialist, Irkutsk Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, e-mail: vodnay.stihiay@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9201-7288>

Aleksey V. Belskikh – Cand. Sc. (Chem.), Engineer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alex590750@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3678-7274>

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

Oksana A. Ershova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: oksana111088@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0690-4636>

Nadezhda V. Nemchinova – Clinical Research Assistant Researcher at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nemchinova.nad@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9720-8750>

Yulia K. Plotnikova – Director, Irkutsk Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, e-mail: aids@aims38.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2912-9118>

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>

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Honored Scientist of the Russian Federation, Academic Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

КАРДИОЛОГИЯ CARDIOLOGY

СОВРЕМЕННЫЕ АЛГОРИТМЫ ДИАГНОСТИКИ ОБСТРУКТИВНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА В РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Сумин А.Н.¹,
Старовойтова А.В.²,
Щеглова А.В.¹,
Горбунова Е.В.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, г. Кемерово, бульв. имени академика Л.С. Барбараша, 6, Россия)

² ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер им. академика Л.С. Барбараша» (650002, г. Кемерово, бульв. имени академика Л.С. Барбараша, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сумин Алексей Николаевич,
e-mail: an_sumin@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Несмотря на высокий доказательный уровень существующих на сегодняшний день международных рекомендаций по стабильной ишемической болезни сердца (ИБС) и хроническому коронарному синдрому, их внедрение в отечественную клиническую практику является недостаточным.

Цель работы. Провести анализ выбора диагностической тактики (неинвазивной и инвазивной) у пациентов с подозрением на обструктивную ишемическую болезнь сердца в реальной клинической практике.

Методы. В исследование включены амбулаторные пациенты с подозрением на обструктивную ИБС, у которых определяли предтестовую вероятность (ПТВ) обструктивной ИБС; при ПТВ = 5–15 % оценивали клиническую вероятность на основе факторов риска ИБС. По результатам коронароангиографии (КАГ) были выделены: группа I – обструктивное поражение коронарных артерий (КА) (≥ 70 %) ($n = 50$); группа II – необструктивное поражение КА (< 70 %) ($n = 32$); группа III – интактные КА ($n = 40$).

Результаты. По данным КАГ частота выявления обструктивных поражений КА составила 42 % (у больных без инфаркта миокарда в анамнезе – 31 %). Перед проведением КАГ неинвазивные тесты выполнены в 2,5 % случаев. Болевой синдром в грудной клетке был представлен типичной стенокардией у 74 % больных, не различаясь по частоте во всех группах. Значения ПТВ были статистически значимо выше в группе обструктивной ИБС (медиана – 32 %), однако и в двух других группах значения ПТВ соответствовали высокому риску наличия обструктивной ИБС (медиана – 27 % и 21 % соответственно). ПТВ была независимым предиктором обструктивной ИБС и последующей реваскуляризации миокарда.

Заключение. В обследованной нами когорте амбулаторных больных с подозрением на ИБС при проведении инвазивной КАГ частота выявления обструктивных поражений коронарных артерий остаётся невысокой. Неинвазивные тесты были проведены в единичных случаях, в то же время ПТВ была независимым предиктором обструктивной ИБС и последующей реваскуляризации миокарда. Для увеличения частоты выявления обструктивной ИБС следует придерживаться диагностических алгоритмов Европейского общества кардиологов, шире использовать неинвазивные визуализирующие тесты.

Ключевые слова: хронический коронарный синдром, предтестовая вероятность, клиническая вероятность, коронарная ангиография, клиническая практика, диагностический алгоритм

Для цитирования: Сумин А.Н., Старовойтова А.В., Щеглова А.В., Горбунова Е.В. Современные алгоритмы диагностики обструктивной ишемической болезни сердца в реальной клинической практике. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 111-120. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.11

Статья поступила: 28.09.2023

Статья принята: 27.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

CONTEMPORARY ALGORITHMS FOR DIAGNOSING OBSTRUCTIVE CORONARY ARTERY DISEASE IN REAL CLINICAL PRACTICE

Sumin A.N.¹,
Starovoytova A.V.²,
Shcheglova A.V.¹,
Gorbunova E.V.^{1,2}

¹ Research Institute for Complex Issues
of Cardiovascular Diseases
(Akademika L.S. Barbarasha blvd. 6,
Kemerovo 650002, Russian Federation)

² Kuzbass Cardiology Center
(Akademika L.S. Barbarasha blvd. 6,
Kemerovo 650002, Russian Federation)

Corresponding author:
Alexey N. Sumin,
e-mail: an_sumin@mail.ru

ABSTRACT

Background. Despite the high evidence level of the currently existing international recommendations on stable coronary heart disease (CHD) and chronic coronary syndrome, their implementation in domestic clinical practice is insufficient.

The aim of the work. To analyze the choice of diagnostic tactics (non-invasive and invasive) in patients with suspected obstructive coronary heart disease in real clinical practice.

Methods. The study included outpatients with suspected obstructive CHD, in whom the pre-test probability (PTP) of obstructive CHD was determined; if PTP = 5–15 %, clinical probability was assessed based on CHD risk factors. Based on the results of coronary angiography, the following groups were identified: group I – obstructive lesion of the coronary arteries (≥ 70 %) ($n = 50$); group II – non-obstructive lesion of the coronary arteries (< 70 %) ($n = 32$); group III – intact coronary arteries ($n = 40$).

Results. According to the results of coronary angiography, the frequency of detection of obstructive lesion of the coronary arteries was 42 % (in patients without past medical history of myocardial infarction – 31 %). Before performing coronary angiography, non-invasive tests were performed in 2.5 % of cases. Pain in the chest was represented by typical angina in 74 % of patients, with no difference in frequency in all groups. PTP values were statistically significantly higher in the group with obstructive CHD (median – 32 %), however, in the other two groups, PTP values corresponded to a high risk of obstructive CHD (median – 27 % and 21 %, respectively). PTP was an independent predictor for obstructive CHD and subsequent myocardial revascularization.

Conclusion. In the cohort of outpatients with suspected coronary heart disease we examined during invasive coronary angiography, the frequency of obstructive lesion of the coronary arteries remains low. Non-invasive tests were performed in isolated cases, while PTP was an independent predictor for obstructive CHD and subsequent myocardial revascularization. To increase the frequency of detection of obstructive coronary heart disease, we should adhere to the diagnostic algorithms of the European Society of Cardiology and make wider use of non-invasive imaging tests.

Key words: chronic coronary syndrome, pre-test probability, clinical probability, coronary angiography, clinical practice, diagnostic algorithm

Received: 28.09.2023
Accepted: 27.05.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Sumin A.N., Starovoytova A.V., Shcheglova A.V., Gorbunova E.V. Contemporary algorithms for diagnosing obstructive coronary artery disease in real clinical practice. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 111–120. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.11

ВВЕДЕНИЕ

В диагностике ишемической болезни сердца (ИБС) в настоящее время нерешённым является следующее противоречие: с одной стороны, возможно раннее выявление обструктивных поражений коронарных артерий (КА) для проведения возможных процедур реваскуляризации миокарда; с другой стороны, при инвазивной коронароангиографии (КАГ) у больных стабильной ИБС частота выявления таких поражений остаётся невысокой [1–4]. Так, по данным зарубежного национального регистрового исследования, обструктивные поражения КА были выявлены в 37,6 % случаев [1], а в отечественных публикациях результаты сильно различаются в зависимости от когорты обследованных пациентов [2] и критериев коронарной обструкции [5]. В целом по всей России только около 50 % КАГ заканчиваются реваскуляризацией миокарда [6], но надо учитывать, что при этом рассматриваются как экстренные, так и плановые КАГ, поэтому диагностическая результативность плановой КАГ в отечественных центрах, по-видимому, не отличается от зарубежных данных [2]. При этом в зарубежных странах диагностические алгоритмы в реальной клинической практике отличались (широкое использование неинвазивных тестов – как функциональных, с выявлением ишемии миокарда, так и анатомических) от используемых в большинстве российских клиник (клиническая оценка и проведение электрокардиографического (ЭКГ) стресс-теста). Хотя в российских центрах и предпринимались попытки расширить спектр неинвазивной оценки у больных с подозрением на ИБС, но они были не очень успешными, и частота таких обследований оставалась невысокой [7, 8].

По-видимому, принятие нового диагностического алгоритма ИБС, представленного в рекомендациях Европейского общества кардиологов (ЕОК) от 2019 г. [9] способно изменить данную ситуацию. Во всяком случае недавно опубликованные результаты регистра EuReCA (European Registry of Cardiac Arrest) показали, что при соблюдении данных рекомендаций частота выявления обструктивных поражений КА возрастает [10]. Несколько российских центров также принимали участие в этом исследовании, но пока эти данные не опубликованы. Между тем интересно сопоставить, насколько новые диагностические алгоритмы используются в настоящее время. Это послужило основанием для проведения данного исследования, целью которого был анализ выбора диагностической тактики (неинвазивной и инвазивной) у пациентов с подозрением на обструктивную ИБС в реальной клинической практике.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В данное когортное ретроспективное исследование методом сплошной выборки были отобраны 133 пациента с подозрением на обструктивную ИБС, обратившихся на приём в консультативную поликлинику ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический

диспансер им. академика Л.С. Барбараша» в 2022 г. и отобранные врачами-кардиологами для проведения КАГ.

Всем пациентам проводилась оценка болевого синдрома (наличие типичной, атипичной стенокардии или неангинальная боль), а также наличие одышки, расцениваемой как эквивалент стенокардии. По результатам оценки болевого синдрома, возраста и пола у больных определяли предтестовую вероятность (ПТВ) обструктивной ИБС по таблице, предложенной экспертами ЕОК [9]. В случае промежуточных значений ПТВ (5–15 %) у больных оценивали клиническую вероятность обструктивной ИБС, основываясь на наличии или отсутствии факторов риска ИБС (дислипидемия, артериальная гипертензия, сахарный диабет, курение, наследственность) [11]. Части пациентов проводились неинвазивные тесты (стресс-эхокардиография (ЭхоКГ) с физической нагрузкой или компьютерная томографическая (КТ) ангиография КА) по решению лечащего врача.

От проведения КАГ отказались 10 (7,2 %) человек, в 1 (0,7 %) случае наступила смерть пациента до проведения КАГ. В итоге КАГ проведена 122 больным, что составило 91,7 % от всей выборки. Всем пациентам проводилась инвазивная оценка коронарного русла на ангиографическом аппарате INNOVA 3100 (США) по стандартной методике. По результатам КАГ были выделены три группы больных в зависимости от гемодинамической значимости поражения КА: группа I – обструктивное поражение КА ($\geq 70\%$; $n = 50 - 36,0\%$); группа II – не-обструктивное поражение КА ($< 70\%$; $n = 32 - 23,0\%$); группа III – интактные КА ($n = 40 - 28,8\%$).

Выбор тактики хирургического лечения осуществлялся мультидисциплинарной командой (сердечно-сосудистый хирург, эндоваскулярный хирург, кардиолог) на основании клинико-инструментальных данных, значимости коронарного атеросклероза, существующих клинических рекомендаций и внутренних алгоритмов учреждения.

Группы были сопоставлены по исходным клинико-анамнестическим данным, характеру болевого синдрома в грудной клетке, результатам оценки ПТВ и клинической вероятности. Также мы изучили выбранную тактику хирургического лечения обструктивных поражений КА и/или другой коронарной патологии.

Исследование проводится согласно фундаментальной теме ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» «Разработка инновационных моделей управления риском развития болезней системы кровообращения с учётом коморбидности на основе изучения фундаментальных, клинических, эпидемиологических механизмов и организационных технологий медицинской помощи в условиях промышленного региона Сибири» (№ госрегистрации 122012000364-5 от 20.01.2022). Исследование было выполнено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации; протокол исследования и форма информированного согласия были одобрены локальным этическим комитетом (ЛЭК) учреждения (протокол ЛЭК № 20191121 от 21.11.2019).

Статистическую обработку материала проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Проверку распределения количественных данных осуществляли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Учитывая, что распределение всех количественных признаков отличалось от нормального, они представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей (Me (Q25; Q75)). Для сравнения групп применяли критерии Краскела – Уоллеса, Манна – Уитни и χ^2 . При малом числе наблюдений использовали точный критерий Фишера с поправкой Йетса. Для решения проблемы множественных сравнений использовали поправку Бонферрони. Для оценки факторов, ассоциированных с наличием обструктивного поражения КА, и проведения в последующем реваскуляризации миокарда был выполнен множественный логистический регрессионный анализ (метод Forward Stepwise LR). В качестве независимых переменных в модели были включены факторы риска, пол, возраст, симптомы болевого синдрома в грудной клетке, наличие коморбидной патологии, значения ПТВ, данные неинвазивных тестов. Расчёты проводили как в це-

лом по всей обследованной когорте, так и отдельно у больных без инфаркта миокарда в анамнезе. Способность различных показателей предсказывать наличие обструктивных поражений КА оценивали с помощью ROC-анализа. Уровень статистической значимости (p) принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке клинико-демографических показателей (табл. 1) группы были сопоставимы по возрасту ($p = 0,798$), распространённости артериальной гипертензии, наличию гиперхолестеринемии, ожирения, инсульта в анамнезе. В группе I (обструктивное поражение КА) преобладали мужчины (72 %), в группе III (интактные КА) было больше женщин (67,5 %), в группе II (необструктивное поражение КА) мужчин было 53,1 % ($p < 0,001$ для тренда).

Пациенты с обструктивным поражением КА статистически значимо чаще курили (50 %) по сравне-

ТАБЛИЦА 1

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ КЛИНИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В СРАВНИВАЕМЫХ ГРУППАХ

TABLE 1

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE MAIN CLINICAL AND DEMOGRAPHIC INDICATORS IN THE STUDIED GROUPS

Показатели	Группа I: обструктивные КА ($n = 50$)	Группа II: необструктивные КА ($n = 32$)	Группа III: интактные КА ($n = 40$)	p
Возраст (лет), Me (LQ; UQ)	66,0 (61,0; 71,0)	67,0 (61,0; 73,0)	66,0 (60,5; 72,0)	0,798
Мужчины, n (%)	32 (72,0)	17 (53,1)*	13 (32,5)*; #	< 0,001
Курение, n (%)	25 (50,0)	11 (34,38)	9 (25,7)	0,065
Ожирение, n (%)	14 (28,0)	10 (31,3)	13 (32,5)	0,891
Гиперхолестеринемия, n (%)	50 (100,0)	30 (93,75)	38 (95,0)	0,227
ПИКС в анамнезе, n (%)	23 (46,0)	8 (25,0)*	3 (7,5)*; #	< 0,001
АГ в анамнезе, n (%)	50 (100,0)	32 (100,0)	38 (95,0)	0,124
ОНМК в анамнезе, n (%)	8 (16,0)	5 (15,6)	4 (10,0)	0,681
СД в анамнезе, n (%)	5 (10,2)	6 (19,4)	10 (25,0)	0,179
ЧКВ в анамнезе, n (%)	12 (24,0)	8 (25,0)	0	0,032
КШ в анамнезе, n (%)	4 (8,0)	3 (9,4)	0	0,157
КЭЭ в анамнезе, n (%)	1 (2,0)	0	0	0,483
ФП в анамнезе, n (%)	8 (16,0)	7 (21,9)	15 (37,5)	0,057
ХСНснФВ в анамнезе, n (%)	2 (4,0)	3 (3,13)	0	0,458
ХБП в анамнезе, n (%)	3 (6,0)	2 (6,25)	0	0,279
АТС БЦА в анамнезе, n (%)	10 (20,0)	5 (15,6)	5 (12,5)	0,627
МФА в анамнезе, n (%)	10 (20,0)	5 (15,6)	0	0,013

Примечание. ПИКС – постинфарктный кардиосклероз; АГ – артериальная гипертензия; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; СД – сахарный диабет; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; КШ – коронарное шунтирование; КЭЭ – каротидная эндортерэктомия; ФП – фибрилляция предсердий; ХСНснФВ – хроническая сердечная недостаточность с несохранённой фракцией выброса; ХБП – хроническая болезнь почек; АТС БЦА – атеросклеротическое поражение брахиоцефальных артерий; МФА – мультифокальный атеросклероз; * – $p < 0,05$ по сравнению с группой I; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой II.

нию с пациентами групп II (34,4 %) и III (25,6 %), но это различие не достигало статистической значимости ($p = 0,065$). У пациентов из группы I чаще в анамнезе был инфаркт миокарда (в 46 %; $p < 0,001$ для тренда), однако и в двух других группах (при необструктивном поражении КА и интактных КА) отмечено наличие постинфарктного кардиосклероза (в 25 % и 7,5 % случаев соответственно).

По клинической симптоматике (табл. 2) типичная стенокардия чаще присутствовала у пациентов группы I с обструктивным поражением КА (в 90 % случаев), тогда как в группах II и III – лишь в 75 % случаев. Атипичная боль превалировала в группах II и III (в 18,8 % и 17,5 % случаев соответственно), тогда как в группе I – только у 9,0 % больных. Тем не менее, различия между группами по характеру болевого синдрома статистической значимости не достигали. Пациенты с одышкой одинаково часто встречались во всех группах обследуемых.

Анализ клинической вероятности (табл. 3) не показал статистически значимых различий между группами, и она составила по 14,0 в каждой группе. Предтестовая вероятность ИБС была выше в группе I с обструктивным поражением КА и составляла в среднем 32 %; в группе с необструктивным поражением КА – 27 %, в группе с интактными КА – 21 % ($p < 0,001$ для тренда).

Пациентов с ПТВ менее 5 % не направляли на инвазивное обследование – таковых в нашей когорте не оказалось; также не оказалось пациентов с ПТВ от 5 % до 15 % в группе I. Статистически значимо больше пациентов с ПТВ = 5–15 % было в группе интактных КА (20 %), чем в группе необструктивного поражения КА (6,25 %; $p = 0,002$). ПТВ была более 15 % у всех пациентов с обструктивным поражением КА, у 93,75 % пациентов с необструктивным поражением КА, у 80 % больных с интактными КА ($p = 0,0024$). Неинвазивные тесты перед КАГ проводились лишь 2,5 % пациентов; у данных пациентов, несмотря на положительный тест, КА оказались интактными.

У 76 % процентов пациентов с обструктивным поражением КА проведено чрескожное коронарное вмешательство (табл. 4); коронарное шунтирование у обследованных пациентов не проводилось. У 3 (6,0 %) пациентов из группы с обструктивным поражением КА проведена каротидная эндартерэктомия. Радиочастотная катетерная абляция выполнена у 2 (4,0 %) пациентов из группы обструктивного поражения КА и у 1 (3,13 %) пациента в группе необструктивных поражений КА. Установка электрокардиостимулятора проведена только 1 (3,13 %) пациенту в группе необструктивных поражений КА.

ТАБЛИЦА 2
КЛИНИЧЕСКИЕ СИМПТОМЫ В СОПОСТАВЛЕНИИ
С РЕЗУЛЬТАТАМИ КОРОНАРНОЙ АНГИОГРАФИИ

Показатели	Группа I: обструктивные КА ($n = 50$)	Группа II: необструктивные КА ($n = 32$)	Группа III: интактные КА ($n = 40$)	p
Типичная боль, n (%)	45 (90,0)	24,0 (75,0)	30 (75,0)	0,125
Атипичная боль, n (%)	3 (6,0)	6 (18,8)	7 (17,5)	0,071
Неангинальная боль, n (%)	3 (6,0)	1 (3,13)	2 (5,0)	0,923
Одышка, n (%)	2 (4,0)	1 (3,13)	1 (2,5)	0,953

TABLE 2
CLINICAL SYMPTOMS IN COMPARISON WITH THE RESULTS
OF CORONARY ANGIOGRAPHY

ТАБЛИЦА 3
ОЦЕНКА ПРЕДТЕСТОВОЙ ВЕРОЯТНОСТИ
ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ СТЕПЕНИ СТЕНОЗОВ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Показатели	Группа I: обструктивные КА ($n = 50$)	Группа II: необструктивные КА ($n = 32$)	Группа III: интактные КА ($n = 40$)	p
ПТВ (%), Ме (LQ; UQ)	32,0 (27,0; 44,0)	27,0 (18,0; 44,0)*	21,0 (16,0; 27,0)*; #	$< 0,001$
ПТВ < 5 %, n (%)	0	0	0	–
ПТВ = 5–15 %, n (%)	0	2 (6,25)	8 (20,0)#	0,002
ПТВ > 15 %, n (%)	50 (100,0)	30 (93,75)*	32 (80,0)*; #	0,0024
Клиническая вероятность (%), Ме (LQ; UQ)	14,0 (11,0; 14,0)	14,0 (14,0; 19,0)	14,0 (10,0; 14,0)	0,551
Неинвазивные тесты, n (%)	0	0	1 (2,5)	0,355

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой I; # – $p < 0,05$ по сравнению с группой 2.

TABLE 3
ASSESSMENT OF THE PRE-TEST PROBABILITY
OF CORONARY HEART DISEASE DEPENDING
ON THE DEGREE OF CORONARY ARTERY STENOSIS

В модели бинарной логистической регрессии независимыми факторами, ассоциированными с наличием обструктивных поражений КА в целом по всей когорте обследованных больных, были наличие инфаркта

миокарда в анамнезе и значения ПТВ (табл. 5). Данная модель логистической регрессии была статистически значимой ($\chi^2(2) = 24,936; p < 0,001$). Модель объяснила 26,4 % (Nagelkerke R²) дисперсии обструктивного пора-

ТАБЛИЦА 4

ТАКТИКА ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ СТЕНОЗОВ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ

Показатели	Группа I: обструктивные КА (n = 50)	Группа II: необструктивные КА (n = 32)	Группа III: интактные КА (n = 40)	p
ЧКВ, n (%)	38 (76,0)	0	0	< 0,001
КШ, n (%)	0	0	0	–
КЭЭ, n (%)	3 (6,0)	0	0	0,109
РЧА, n (%)	2 (4,0)	1 (3,13)	0	0,457
ЭКС, n (%)	0	1 (3,13)	0	0,242
Протезирование клапанов сердца, n (%)	0	1 (3,13)	0	0,242

Примечание. ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; КШ – коронарное шунтирование; КЭЭ – каротидная эндортерэктомия; РЧА – радиочастотная катетерная абляция; ЭКС – электрокардиостимулятор.

TABLE 4

TACTICS OF SURGICAL TREATMENT DEPENDING ON THE DEGREE OF CORONARY ARTERY STENOSIS

ТАБЛИЦА 5

ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ОБСТРУКТИВНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ И ПРОВЕДЕНИЕМ В ПОСЛЕДУЮЩЕМ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА, ПО ДАННЫМ БИНАРНОГО ЛОГИСТИЧЕСКОГО РЕГРЕССИОННОГО АНАЛИЗА (МЕТОД FORWARD STEPWISE LR)

TABLE 5

FACTORS ASSOCIATED WITH OBSTRUCTIVE CORONARY HEART DISEASE AND SUBSEQUENT MYOCARDIAL REVASCULARIZATION ACCORDING TO BINARY LOGISTIC REGRESSION ANALYSIS (FORWARD STEPWISE LR METHOD)

Факторы	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)
Обструктивное поражение коронарных артерий (вся когорта обследованных)						
Инфаркт миокарда в анамнезе	1,454	0,469	9,612	1	0,002	4,280
ПТВ	0,057	0,019	9,429	1	0,002	1,059
Константа	–2,504	0,629	15,866	1	0,000	0,082
Обструктивное поражение коронарных артерий (больные без инфаркта миокарда в анамнезе)						
ПТВ	0,088	0,025	12,322	1	0,000	1,092
Атеросклероз сонных артерий	1,672	0,711	5,537	1	0,019	5,324
Константа	–3,749	0,872	18,504	1	0,000	0,024
Проведение реваскуляризации миокарда после КАГ (вся когорта обследованных)						
Инфаркт миокарда в анамнезе	1,242	0,451	7,591	1	0,006	3,463
ПТВ	0,071	0,019	13,452	1	0,000	1,073
Константа	–3,658	0,713	26,353	1	0,000	0,026
Проведение реваскуляризации миокарда после КАГ (больные без инфаркта миокарда в анамнезе)						
Ожирение	1,850	0,690	7,191	1	0,007	6,360
ПТВ	0,101	0,030	11,258	1	0,001	1,107
Мультифокальный атеросклероз	2,769	1,228	5,084	1	0,024	15,947
Константа	–5,629	1,256	20,074	1	0,000	0,004

жения КА и правильно классифицировала 71,1 % случаев. В когорте больных без инфаркта миокарда в анамнезе предвестниками обструктивного поражения КА были ПТВ и наличие атеросклероза сонных артерий ($\chi^2(2) = 20,646; p < 0,001$; Nagelkerke R² = 31,7 %; правильная классификация в 74,1 % случаев). У больных с проведением реваскуляризации миокарда предикторами обструктивного поражения КА были ПТВ, наличие ожирения и мультифокального атеросклероза ($\chi^2(3) = 24,878; p < 0,001$; Nagelkerke R² = 37,3 %; правильная классификация в 87,2 % случаев).

По данным ROC-анализа (рис. 1), у больных без ИБС в анамнезе значения ПТВ в наибольшей степени предсказывали наличие обструктивного поражения КА (AUC = 0,747), в отличие от других изученных показателей (пол, возраст, характер болей в грудной клетке, факторы риска).

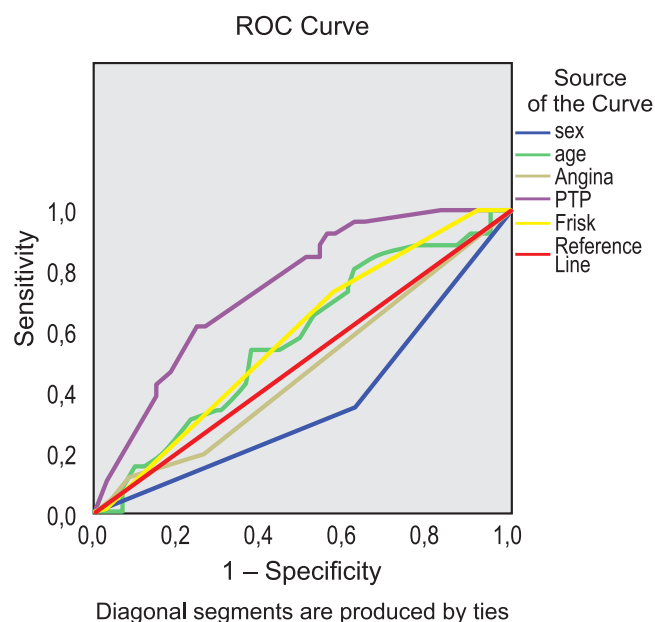


РИС. 1.

ROC-анализ: использование различных показателей в выявлении обструктивных поражений коронарных артерий при коронарной ангиографии

FIG. 1.

ROC analysis: using various indicators in the detection of obstructive lesion of the coronary arteries in coronary angiography

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании получено несколько интересных результатов. Во-первых, частота выявления обструктивных поражений КА остаётся невысокой (42 % в целом среди всех обследованных и 31 % у больных без ИБС в анамнезе). Во-вторых, проведение неинвазивных тестов по-прежнему остаётся эпизодическим. В-третьих, определение ПТВ используется в практике работы кардиологов, что свидетельствует об отсутствии больных с ПТВ < 5 % среди направленных на КАГ. Кроме

того, оценка ПТВ остаётся наиболее информативным показателем в предсказании наличия обструктивной ИБС.

По данным регистра KUGH (Южная Корея), за десятилетний период (2004–2014 гг.) обструктивная ИБС при КАГ выявлена в 41,4 % случаев [4]. Несколько чаще выявляли обструктивные поражения КА в исследовании M. Gonçalves и соавт. [3] – в 46 % случаев. Однако в этой работе были особенности направления больных на КАГ (включали только пациентов с наличием стенокардии, исключая возможные эквиваленты стенокардии, не рассматривали изменения ЭКГ покоя или ЭхоКГ как положительный тест), которые способствовали формированию более селективной выборки пациентов. В регистре EURECA в целом в обследованной когорте больных частота обструктивной ИБС при инвазивной КАГ составила 45 % (процент удалось увеличить за счёт того, что при обследовании части пациентов соблюдался предложенный ЕАК алгоритм обследования). По данным нашей клиники, в указанном регистре частота выявления обструктивной ИБС составила 43,3 %, что вполне сопоставимо с данными настоящего исследования.

Однако проведение неинвазивных тестов при диагностике ИБС в нашей стране заметно отличается от зарубежных стран. Так, в регистре EURECA ЭКГ с нагрузкой выполнялась у 32 % пациентов, при этом чаще всего она выполнялась у больных с ПТВ ≤ 5 % (в 50 % случаев), прогрессивно снижаясь в группах с более высокой ПТВ, с фракцией выброса левого желудочка (ФВЛЖ) < 50 % и с предшествующей ИБС. Среди неинвазивных визуализирующих тестов КТ-ангиография КА выполнялась у 24 % пациентов, чаще у пациентов с нормальной функцией левого желудочка и без предшествующей ИБС. Стресс-визуализация проводилась у 41 % пациентов, в основном с помощью однофотонной эмиссионной КТ (ОФЭКТ) или эхокардиографии (23 % и 16 % соответственно), и её использование постепенно увеличивалось от групп с более низкой ПТВ к группам с более высокой ПТВ, ФВЛЖ < 50 % и/или предшествующей ИБС. Инвазивная КАГ выполнялась у 29 % пациентов, и у значительной части (17 %) – в качестве первого визуализирующего теста [10]. Выбор диагностических тестов определялся несколькими факторами (ПТВ, ФВ и наличие ИБС в анамнезе), на основе их были предложены оптимальные диагностические алгоритмы согласно ранее предложенным рекомендациям [9]. Только у 20 % пациентов визуализирующие тесты (неинвазивные или инвазивные) не проводились. По данным нашей клиники, в этом регистре велоэргометрия была проведена у 7,5 % больных, стресс-ЭхоКГ – у 1 %, ОФЭКТ – у 11,5 %, КТ-ангиография КА – у 0,5 %. При анализе регистров пациентов, проходивших госпитальное обследование и лечение в 2017–2019 гг. в нескольких крупных кардиохирургических центрах Российской Федерации по поводу ИБС, частота стресс-ЭКГ у них составила 4,88 %, стресс-ЭхоКГ – 0,19 %, КТ-ангиографии – 0,05 % [8]. Можно отметить, что в отечественных регистровых исследованиях проведение неинвазивных тестов до КАГ является скорее исключением, в зарубежных странах – наоборот, таким исключением является непроведение неинвазивных тестов.

Очевидно, что в отечественной клинической практике приходится ориентироваться на клиническую симптоматику и оценку ПТВ [8, 12]. В настоящем исследовании показано, что характер болевого синдрома не различался в группах с различной степенью поражения КА. В то же время медиана значения ПТВ была статистически значимо выше в группе обструктивной ИБС по сравнению с двумя другими группами; также ПТВ имела независимую ассоциацию с выявлением обструктивной ИБС. Тем не менее, ориентация только на ПТВ в диагностике ИБС имеет свои ограничения. Как можно заметить по нашим данным, медиана значений ПТВ в группах с незначимым поражением КА и их отсутствием была в пределах высокого риска наличия обструктивной ИБС. В итоге и общая частота выявления обструктивной ИБС оказалась относительно невысокой. Однако выявляется парадокс: несмотря на минимальное число неинвазивных тестов в отечественных исследованиях, частота выявления обструктивных поражений КА сопоставима с данными зарубежных исследований, где эти тесты проводят в подавляющем числе случаев. Поэтому возникает закономерный вопрос: за счёт чего же тогда возможно повышение продуктивности инвазивной КАГ в выявлении обструктивной ИБС?

В недавнем анализе было показано, что среди неинвазивных методов визуализации для выявления ишемии миокарда наибольшую эффективность имели стресс-магнитно-резонансная томография и позитрон-эмиссионная томография [13]. Тем не менее, широкое использование этих методов в рутинной клинической практике наступит нескоро. В то же время результаты исследования EURECA показали, что следование предложенному в рекомендациях ЕАК [9] алгоритму позволяет добиться следующих результатов: снижение числа проведённых КАГ (с 48 % у больных без следования диагностическому алгоритму до 15 % в группе следования ему) и повышение числа выявленных обструктивных изменений КА (с 39 % до 60 % соответственно) и проведённых последующих реваскуляризаций миокарда (с 37 % до 54 % соответственно) [10]. Однако приверженность к рекомендациям имеет большие различия в зависимости от региона. Так, в странах Западной Европы она составила 87 %, а в странах Восточной Европы – 48 % [10]. По данным нашей клиники, также участвовавшей в исследовании, приверженность алгоритму составила только 23,4 % (Щеглова А.В., доклад на конгрессе Российского кардиологического общества, 2021 г.). Поэтому одним из путей улучшения диагностики обструктивной ИБС является повышение приверженности предложенным диагностическим сценариям. Судя по всему, при этом следует более широко использовать мультиспиральную компьютерную томографическую КА. Во-первых, оценка кальциевого индекса позволяет в модели CACS-CL (Coronary Artery Calcium Score – Clinical Likelihood) отнести более половины больных в категорию низкого клинического риска, не требующего дальнейшего неинвазивного или инвазивного обследования [11]. Во-вторых, использование КТ-ангиографии КА позволяет снизить число инвазивных КАГ [14], при этом существенно улучшая частоту выяв-

ления обструктивных поражений КА [14, 15]. Интересно, что в статье J.R. Weir-McCall и соавт. [14] проанализировали результаты внедрения в Великобритании диагностического подхода, предложенного в рекомендациях NICE (National Institute for Health and Care Excellence) CG95 [16]. Суть данного алгоритма состоит в отказе от оценки ПТВ, а у больных с типичной и атипичной стенокардией следует сразу проводить КТ-коронарографию, а при её неинформативности – неинвазивные функциональные тесты [17]. То есть, на данный момент реальной клинической практикой подтверждена действенность двух алгоритмов диагностики обструктивной ИБС (European Society of Cardiology 2019 и NICE CG95) [18]. Поэтому в настоящее время в Китае запланировано проспективное рандомизированное исследование OPERATE, в котором планируется сопоставить возможность данных алгоритмов выявлять больных низкого риска (что будет дополнительно верифицироваться данными КТ-ангиографии КА) [19].

Кроме того, в диагностических алгоритмах следует учитывать и результаты исследования ISCHEMIA [20, 21], которое не продемонстрировало улучшения прогноза от первичной инвазивной стратегии для больных стабильной ИБС и с данными стресс-теста от умеренного до высокого риска по сравнению с оптимальной медикаментозной терапией. Как следствие возникают предложения не использовать неинвазивные тесты, в частности показавшие свою неэффективность в качестве «привратника» в недавнем исследовании J. Jo и соавт. [22]. При анализе этих результатов предложено обсудить следующую тактику ведения пациентов с подозрением на ИБС: начинать не с выбора тестов, а с лечения модифицируемых факторов риска, включая рассмотрение вопроса о назначении антитромбоцитарной терапии и статинов. Решение о необходимости тестирования или его отсрочки принимается после оценки эффективности медикаментозной терапии. Изменения симптомов стенокардии, качества жизни и результатов тестов на ИБС позволяют клиницисту модифицировать медикаментозную терапию и рассмотреть необходимость реваскуляризации [23]. Без сомнения, применение данной парадигмы возможно только после сопоставления её с традиционным подходом в рандомизированных клинических исследованиях.

Настоящее исследование имеет ряд ограничений, которые необходимо учитывать при трактовке его результатов. Во-первых, в исследование включено небольшое число больных. Тем не менее, несмотря на это, нам удалось получить статистически значимые результаты. Кроме того, наши данные вполне согласуются с результатами предыдущих исследований в нашем центре [2], а также крупных многотысячных регистров – как отечественных [8], так и зарубежных [1, 4, 10]. Во-вторых, данное исследование является одноцентровым, поэтому его результаты нельзя транслировать на состояние диагностики ИБС в других регионах. Тем не менее, мы постарались нивелировать это ограничение, анализируя наш опыт участия в международном регистре EURECA. В-третьих, мы включили в анализ больных, направленных на инвазивную КАГ. В слу-

чае оценки поражения КА с помощью КТ-ангиографии КА частота выявления обструктивных поражений могла бы быть существенно ниже, как показывают недавние исследования [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обследованной нами когорте амбулаторных больных с подозрением на ИБС при проведении инвазивной КАГ частота выявления обструктивных поражений коронарных артерий остаётся невысокой. Неинвазивные тесты были проведены в единичных случаях, в то же время ПТВ была независимым предиктором обструктивной ИБС и последующей реваскуляризации миокарда. Для увеличения частоты выявления обструктивной ИБС следует придерживаться диагностических алгоритмов Европейского общества кардиологов, шире использовать неинвазивные визуализирующие тесты.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований СО РАН в рамках темы фундаментальных исследований ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» № 0419-2022-0002 «Разработка инновационных моделей управления риска развития заболеваний системы кровообращения с учётом коморбидности на основе изучения фундаментальных, клинических, эпидемиологических механизмов и организационных технологий оказания медицинской помощи в промышленном регионе Сибири».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Patel MR, Dai D, Hernandez AF, Douglas PS, Messenger J, Garratt KN, et al. Prevalence and predictors of nonobstructive coronary artery disease identified with coronary angiography in contemporary clinical practice. *Am Heart J*. 2014; 167(6): 846-852. doi: 10.1016/j.ahj.2014.03.001
2. Корок Е.В., Сумин А.Н., Синьков М.А., Нагирняк О.А., Чичкова Т.Ю., Барбараш Л.С. Частота выявления интактных коронарных артерий в зависимости от показаний для плановой коронарной ангиографии. *Российский кардиологический журнал*. 2016; (2): 52-59. [Korok EV, Sumin AN, Sinkov MA, Nagirnyak OA, Chichkova TYu, Barbarash LS. The prevalence of intact coronary arteries in relation with indications for scheduled coronary arteriography. *Russian Journal of Cardiology*. 2016; (2): 52-59. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2016-2-52-59
3. Gonçalves M, Roque D, de Araújo Gonçalves P, Borges Santos M, Faustino M, Campante Teles R, et al. Temporal trends in referral patterns for invasive coronary angiography – A multicenter 10-year analysis. *Coron Artery Dis*. 2021; 32(3): 224-230. doi: 10.1097/MCA.0000000000000951
4. Choi BG, Park JY, Rha SW, Noh YK. Pre-test probability for coronary artery disease in patients with chest pain based on machine learning techniques. *Int J Cardiol*. 2023; 385: 85-93. doi: 10.1016/j.ijcard.2023.05.041
5. Атамась О.В., Антонюк М.В. Факторы риска и степень поражения коронарных артерий у больных с ишемической болезнью сердца. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 93-102. [Atamas OV, Antonyuk MV. Analysis of coronary artery lesion degree and related risk factors in patients with coronary heart disease. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(2): 93-102. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2023-8.2.9
6. Алесян Б.Г., Григорьян А.М., Стаферов А.В., Карапетян Н.Г. Рентгенэндоваскулярная диагностика и лечение заболеваний сердца и сосудов в Российской Федерации (2017 год). *Эндоваскулярная хирургия*. 2018; 2: 93-240. [Alekyan BG, Grigor'yan AM, Staferov AV, Karapetyan NG. Endovascular diagnostics and treatment in the Russian Federation (2017). *Russian Journal of Endovascular Surgery*. 2018; 2: 93-240. (In Russ.)]. doi: 10.24183/2409-4080-2018-5-2-93-240
7. Коротин А.С., Посненкова О.М., Киселев А.Р., Попова Ю.В., Гриднев В.И. Стеноз коронарных артерий: всегда ли обоснована реваскуляризация? *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2019; 8(1): 42-51. [Korotin AS, Posnenkova OM, Kiselev AR, Popova YuV, Gridnev VI. Coronary artery stenosis: is revascularization always reasonable? *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2019; 8(1): 42-51. (In Russ.)]. doi: 10.17802/2306-1278-2019-8-1-42-51
8. Симонян М.А., Калюта Т.Ю., Генкал Е.Н., Посненкова О.М., Гриднев В.И. Предтестовая вероятность ишемической болезни сердца как фактор оптимизации инвазивной диагностики в реальной клинической практике. *Российский кардиологический журнал*. 2022; 27(1): 4765. [Simonyan MA, Kalyuta TYu, Genkal EN, Posnenkova OM, Gridnev VI. Pretest probability of coronary artery disease as a factor for optimizing invasive diagnostics in routine clinical practice. *Russian Journal of Cardiology*. 2022; 27(1): 4765. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2022-4765
9. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, et al.; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2020; 41(3): 407-477. doi: 10.1093/eurheartj/ehz425
10. Neglia D, Liga R, Gimelli A, Podlesnikar T, Cvijic M, Pontone G, et al.; EURECA Investigators. Use of cardiac imaging in chronic coronary syndromes: The EURECA Imaging registry. *Eur Heart J*. 2023; 44(2): 142-158. doi: 10.1093/eurheartj/ehac640
11. Winther S, Schmidt SE, Mayrhofer T, Botker HE, Hoffmann U, Douglas PS, et al. Incorporating coronary calcification into pre-test assessment of the likelihood of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2020; 76(21): 2421-2432. doi: 10.1016/j.jacc.2020.09.585
12. Сумин А.Н., Щеглова А.В. Оценка предтестовой и клинической вероятности в диагностике хронического коронарного синдрома – что нового? *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2022; 18(1): 92-96. [Sumin AN, Shcheglova AV. Assessment of pre-test and clinical probability in the diagnosis of chronic coronary syndrome – What's new? *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2022; 18(1): 92-96. (In Russ.)]. doi: 10.20996/1819-6446-2022-02-04
13. Iwata K, Ogasawara K. Assessment of the efficiency of non-invasive diagnostic imaging modalities for detecting

myocardial ischemia in patients suspected of having stable angina. *Healthcare (Basel)*. 2022; 11(1): 23. doi: 10.3390/healthcare11010023

14. Weir-McCall JR, Williams MC, Shah ASV, Roditi G, Rudd JHF, Newby DE, et al. National trends in coronary artery disease imaging: Associations with health care outcomes and costs. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2023; 16(5): 659-671. doi: 10.1016/j.jcmg.2022.10.022

15. Nissen L, Winther S, Schmidt M, Rønnow Sand NP, Urbonaviciene G, Zelechowski MW, et al. Implementation of coronary computed tomography angiography as nationally recommended first-line test in patients with suspected chronic coronary syndrome: Impact on the use of invasive coronary angiography and revascularization. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2020; 21(12): 1353-1362. doi: 10.1093/ehjci/jeaa197

16. Kelion AD, Nicol ED. The rationale for the primacy of coronary CT angiography in the National Institute for Health and Care Excellence (NICE) guideline (CG95) for the investigation of chest pain of recent onset. *J Cardiovasc Comput Tomogr*. 2018; 12(6): 516-522. doi: 10.1016/j.jcct.2018.09.001

17. Kelion AD. Stable chest pain: Are we investigating a symptom or screening for coronary disease? *JACC Cardiovasc Imaging*. 2022; 15(1): 105-107. doi: 10.1016/j.jcmg.2021.10.011

18. Сумин А.Н. Алгоритмы диагностики у больных хроническим коронарным синдромом – что показывает реальная клиническая практика? *Российский кардиологический журнал*. 2023; 28(9): 5483. [Sumin AN. Diagnostic algorithms in patients with chronic coronary syndromes – What does clinical practice show? *Russian Journal of Cardiology*. 2023; 28(9): 5483. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2023-5483

19. Zhou J, Xin T, Tan Y, Pang J, Chen T, Wang H, et al. Comparison of two diagnostic strategies for patients with stable chest pain suggestive of chronic coronary syndrome: Rationale and design of the double-blind, pragmatic, randomized and controlled OPERATE Trial. *BMC Cardiovasc Disord*. 2023; 23(1): 416. doi: 10.1186/s12872-023-03424-3

20. Kohsaka S, Ejiri K, Takagi H, Watanabe I, Gatate Y, Fukushima K, et al. Diagnostic and therapeutic strategies for stable coronary artery disease following the ISCHEMIA trial. *JACC Asia*. 2023; 3(1): 15-30. doi: 10.1016/j.jacasi.2022.10.013

21. Bershtein L, Sumin A, Zbyshevskaya E, Gumerova V, Tsurtsumia D, Kochanov I, et al. Stable coronary artery disease: Who finally benefits from coronary revascularization in the modern era? The ISCHEMIA and interim ISCHEMIA-EXTEND analysis. *Life (Basel)*. 2023; 13(7): 1497. doi: 10.3390/life13071497

22. Jo J, Cha MJ, Lee HJ, Kim WD, Kim J, Ha KE, et al. Cardiovascular outcomes of coronary computed tomography angiography versus functional testing in suspected coronary syndromes: Real-world evidence from the nationwide cohort. *J Am Heart Assoc*. 2023; 12(16): e029484. doi: 10.1161/JAHA.123.029484

23. Mancini GBJ. Reframing the paradigm for assessing optimal test selection when suspecting chronic coronary disease. *J Am Heart Assoc*. 2023; 12(16): e031027. doi: 10.1161/JAHA.123.031027

24. Winther S, Schmidt SE, Rasmussen LD, Juárez Orozco LE, Steffensen FH, Bøtker HE, et al. Validation of the European Society of Cardiology pre-test probability model for obstructive coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2021; 42(14): 1401-1411. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa755

Сведения об авторах

Сумин Алексей Николаевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией коморбидности при сердечно-сосудистых заболеваниях отдела клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: an_sumin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0963-4793>

Щеглова Анна Викторовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории коморбидности при сердечно-сосудистых заболеваниях отдела клинической кардиологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: nura.karpovitch@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4108-164X>

Старовойтова Анастасия Викторовна – врач-кардиолог, ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер им. академика Л.С. Барбараша», e-mail: starav@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0331-7743>

Горбунова Елена Владимировна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»; заведующая кардиополиткликой, ГБУЗ «Кемеровский областной клинический кардиологический диспансер им. академика Л.С. Барбараша», e-mail: gev@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2327-2637>

Information about the authors

Alexey N. Sumin – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Comorbidity in Cardiovascular Diseases, Department of Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, e-mail: an_sumin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0963-4793>

Anna V. Shcheglova – Cand. Sc. (Med.), Researcher Officer at the Laboratory of Comorbidity in Cardiovascular Diseases, Department of Clinical Cardiology, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, e-mail: nura.karpovitch@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4108-164X>

Anastasia V. Starovoytova – Cardiologist, Kuzbass Cardiology Center, e-mail: starav@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0331-7743>

Elena V. Gorbunova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Cardiac Rhythm Disorders and Cardiac Pacing, Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Head of the Cardiology Outpatient Clinic, Kuzbass Cardiology Center, e-mail: gev@kemcardio.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2327-2637>

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОКУЛЬТУР И КОНСОРЦИУМОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ КАК СКРИНИНГ ИХ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА

Пеньдюхова А.С.¹,
Белькова Н.Л.¹,
Охотина Ю.С.¹,
Иванчиков Е.А.²,
Щёкотова А.В.²,
Семёнова Н.В.¹,
Рычкова Л.В.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем
здоровья семьи и репродукции
человека» (664003, г. Иркутск,
ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский
государственный университет
технологий и управления»
(670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40В,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Пеньдюхова Анна Сергеевна,
e-mail: annapend@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. В последние годы особое внимание уделяется изучению консорциумов пробиотических бактерий. В этих ассоциациях свойства отдельных микроорганизмов могут усиливаться, в частности их антагонистическая активность, которая является эффективным показателем для скрининга пробиотического потенциала. Разработка пробиотиков на основе таких консорциумов с антибактериальными свойствами имеет решающее значение в свете растущей проблемы лекарственной устойчивости микроорганизмов.

Цель работы. Изучение антагонистической активности монокультур и консорциумов лактобацилл в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий.

Материалы и методы. Антагонистическую активность монокультур лактобацилл и их консорциумов оценивали параллельно двумя методами: методом перпендикулярных штрихов и методом лунок.

Результаты. Все штаммы лактобацилл и их консорциумы в зависимости от метода исследования обладали разной степенью антагонистической активности. В пяти консорциумах антагонизм к тестовым культурам был сильнее, чем в монокультурах, в то время как в одном консорциуме эффект антагонистической активности снизился по сравнению с монокультурами. Результаты исследования антагонистической активности двух консорциумов (*Limosilactobacillus fermentum* 44/1 и *Lactisacibacillus rhamnosus* 12L, *Latilactobacillus curvatus* LCR-111-1 и *Lactiplantibacillus plantarum* 8PA3) противоречат данным о биосовместимости штаммов в этих консорциумах. Выявлены различия в степени антагонистического воздействия лактобацилл на грамположительные и грамотрицательные виды условно-патогенных бактерий.

Заключение. Исследование показало, что важными требованиями для создания пробиотического консорциума с эффективным пробиотическим потенциалом являются как биосовместимость пробиотических штаммов, так и антагонистическая активность консорциума. Для изучения антагонистических свойств лактобацилл следует увеличить количество изолятов целевых грамположительных и грамотрицательных бактерий и нормобиоты. Это позволит определить эффективные стратегии применения пробиотиков в условиях распространения лекарственной устойчивости микроорганизмов.

Ключевые слова: лактобациллы, пробиотические консорциумы, пробиотический потенциал, антагонистическая активность, условно-патогенные бактерии, полирезистентные изоляты

Для цитирования: Пеньдюхова А.С., Белькова Н.Л., Охотина Ю.С., Иванчиков Е.А., Щёкотова А.В., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В. Антагонистическая активность монокультур и консорциумов лактобацилл в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий как скрининг их пробиотического потенциала. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 121-129. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.12

Статья поступила: 29.03.2024

Статья принята: 18.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF MONOCULTURES AND CONSORTIA OF LACTOBACILLI AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES OF OPPORTUNISTIC BACTERIA AS A SCREENING OF THEIR PROBIOTIC POTENTIAL

Pendyukhova A.S.¹,
Belkova N.L.¹,
Okhotina Yu.S.¹,
Ivanchikov E.A.²,
Shchekotova A.V.²,
Semenova N.V.¹,
Rychkova L.V.¹

¹ Scientific Centre for Family Health
and Human Reproduction Problems
(Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

² East Siberian State University
of Technology and Management
(Klyuchevskaya str. 40V, Ulan-Ude 670013,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anna S. Pendyukhova,
e-mail: annapend@yandex.ru

ABSTRACT

Background. In recent years, special attention has been paid to the studying the consortia of probiotic bacteria. In these associations, the properties of individual microorganisms can be enhanced, in particular, their antagonistic activity which is an effective indicator for screening of probiotic potential. The development of probiotics based on such consortia with antibacterial properties is critical in the light of the growing problem of drug resistance in microorganisms.

The aim of the work. To study the antagonistic activity of monocultures and consortia of lactobacilli against multidrug-resistant isolates of opportunistic bacteria.

Materials and methods. The antagonistic activity of lactobacilli monocultures and their consortia was assessed simultaneously by two methods: the cross streak method and the well diffusion method.

Results. All strains of lactobacilli and their consortia, depending on the research method, had varying degrees of antagonistic activity. Five consortia had stronger antagonism to test cultures as compared to monocultures, while in one consortium, the effect of antagonistic activity was reduced compared to monocultures. The results of studying the antagonistic activity of two consortia (*Limosilactobacillus fermentum* 44/1 and *Lacticaseibacillus rhamnosus* 12L, *Latilactobacillus curvatus* LCR-111-1 and *Lactiplantibacillus plantarum* 8PAZ) contradict data on the biocompatibility of strains in these consortia. Differences in the degree of antagonistic effects of lactobacilli on gram-positive and gram-negative species of opportunistic bacteria were revealed.

Conclusion. The study showed that both the biocompatibility of the probiotic strains and the antagonistic activity of the consortium are the important requirements for creating a probiotic consortium with effective probiotic potential. To study the antagonistic properties of lactobacilli, the number of isolates of target gram-positive and gram-negative bacteria and normobiota should be increased. This will allow us to determine effective strategies for using probiotics in conditions of the spread of drug resistance of microorganisms.

Key words: lactobacilli, probiotic consortia, probiotic potential, antagonistic activity, opportunistic bacteria, multidrug-resistant isolates

For citation: Pendyukhova A.S., Belkova N.L., Okhotina Yu.S., Ivanchikov E.A., Shchekotova A.V., Semenova N.V., Rychkova L.V. Antagonistic activity of monocultures and consortia of lactobacilli against multidrug-resistant isolates of opportunistic bacteria as a screening of their probiotic potential. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 121-129. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.12

Received: 29.03.2024

Accepted: 18.06.2024

Published: 15.07.2024

ОБОСНОВАНИЕ

В последнее время организм человека рассматривают как систему симбиотических отношений с населяющим его сообществом микроорганизмов. Это сообщество включает в себя бактерии, археи, вирусы, грибы и простейшие и называется микробиотой [1, 2]. Исследования показывают, что дисбаланс кишечной микробиоты не только приводит к проблемам с пищеварительной системой, но также повышает вероятность возникновения сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний и вызывает нарушения психоэмоционального состояния [3–5].

Пробиотики являются эффективным средством для восстановления здорового баланса кишечной микробиоты [2]. Сегодня особый акцент делается на исследовании ассоциаций (консорциумов) пробиотических микроорганизмов, в которых разнообразие штаммов и видов бактерий определяет спектр положительного воздействия на организм [6]. В научной литературе указывается, что одной из важных причин непостоянной клинической эффективности многоштаммовых пробиотических препаратов является отсутствие учёта биосовместимости микроорганизмов при создании консорциума. Это приводит к снижению жизнеспособности микроорганизмов и потере значимых свойств. К тому же сообщается, что консорциумы микроорганизмов часто нестабильны [6]. Поэтому главная цель разработки комплексного пробиотика – подбор микроорганизмов, обладающих биосовместимостью и сходными биологическими и технологическими свойствами и сохранение постоянного состава этих штаммов. Оценку биосовместимости штаммов проводят методом прямого совместного культивирования, учитывая способность лактобацилл вырабатывать бактериоцины и другие биологически активные вещества, определяющие степень антагонизма штамма по отношению к представителям своего рода и влияющие на характер межштаммовых взаимодействий [7–9].

Для характеристики фундаментальных механизмов пробиотического воздействия бактерий на различные функции макроорганизма используют современные методы, включая секвенирование нового поколения: геномные, протеомные и метаболомные исследования. Новые научные технологии позволяют оценивать роль нормальной микробиоты человека и выявлять тонкие механизмы её реакции на разные стрессовые воздействия окружающей среды, определять факторы, поддерживающие биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие, необходимое для стабильных отношений между макроорганизмом и симбиотическими микроорганизмами [10, 11].

Однако характеристика, основанная на генетических механизмах и потенциале их реализации, должна быть исследована в условиях как *in vivo*, так и *in vitro*. Требования к пробиотическим штаммам включают устойчивость к низкому pH желудочного сока и желчным кислотам, антагонизм по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам, стабильность состава

и жизнеспособность бактерий при длительном сроке хранения. Кроме того, безопасность применения пробиотиков должна быть подтверждена в исследованиях *in vitro* и *in vivo* на животных и в первой фазе клинических исследований [12].

Изучение биосовместимости штаммов и биотехнологического потенциала консорциума *in vitro* – начальная, но очень важная стадия разработки эффективного пробиотического препарата на основе консорциума.

В правильно подобранном пробиотическом консорциуме может возникнуть эффект синергии – явления, при котором совместное действие нескольких факторов даёт более значительный эффект, чем действие каждого из них по отдельности. Синергетический эффект позволяет консорциуму сформировать единую систему, способную противостоять воздействию других микроорганизмов. Защитные свойства консорциума обусловлены антагонистической активностью бактерий и синтезом целого ряда биологически активных веществ [13].

Антагонистическая активность в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов является не только одной из классических характеристик пробиотических бактерий, но и важным показателем эффективности и безопасности пробиотического продукта, определяемым *in vitro* [14]. По мере развития знаний о структуре и функциях кишечной микробиоты становится всё более очевидным, что в дополнение к большому количеству внешних факторов, вызывающих микробный дисбаланс, значительно более вредное воздействие на микробиоту оказывают антибиотики. Устойчивость условно-патогенных микроорганизмов к антимикробным препаратам, которая растёт с каждым годом, представляет собой одну из глобальных проблем здравоохранения во всём мире [15]. В связи с этим разработка эффективных консорциумов пробиотических штаммов, обладающих антагонизмом к полирезистентным условно-патогенным микроорганизмам, является крайне необходимой.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение антагонистической активности монокультур и консорциумов лактобацилл в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий.

МЕТОДЫ

Объекты исследования

Грамположительные факультативно анаэробные и/или микроаэрофильные бактерии семейства *Lactobacillaceae*

Штаммы лактобацилл и их консорциумы были получены в рамках научно-исследовательской работы по теме: «Получение микрoэкологическx средств на основе разных штаммов лактобацилл» от ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления» (ВСГУТУ) (договор № 6 от 10.05.2023).

Были получены следующие штаммы: *Lactobacillus curvatus* (*Latilactobacillus curvatus*) LCR-111-1, *Lactobacillus fermentum* (*Limosilactobacillus fermentum*) 44/1, *Lactobacillus acidophilus* 100АШ, *Lactobacillus rhamnosus* (*Lacticaseibacillus rhamnosus*) 12L, *Lactobacillus paracasei* (*Lacticaseibacillus paracasei*) k-406, *Lactobacillus plantarum* (*Lactiplantibacillus plantarum*) 8РА3, *Lactobacillus casei* (*Lacticaseibacillus casei*) МДП-1 [16].

Были получены следующие консорциумы: *L. fermentum* 44/1 и *L. acidophilus* 100АШ (+); *L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L (±); *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. fermentum* 44/1 (+); *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. acidophilus* 100АШ (+); *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. plantarum* 8РА3 (+); *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. casei* МДП-1 (+); *L. acidophilus* 100АШ и *L. rhamnosus* 12L (+); *L. acidophilus* 100АШ и *L. casei* МДП-1 (+) [16].

В скобках указана биосовместимость штаммов: «+» – штаммы совместимы; «–» – штаммы несовместимы; «±» – наблюдается умеренный антагонизм («выход наверх» одной из культур) [16].

Нормобиота и полирезистентные изоляты условно-патогенных бактерий

В качестве тест-культур при тестировании антагонистической активности использовали 7 изолятов бактерий, из которых: 1 штамм, относящийся к нормобиоте кишечника, и 6 изолятов условно-патогенных бактерий с множественной антибиотикорезистентностью (АБР), входящих в «Коллекцию микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) [15]. Видовой состав тест-культур бактерий представлен в таблице 1.

Методы исследования

Культивирование тест-культур для эксперимента in vitro

Штаммы тест-культур высевали на поверхность мясо-пептонного агара (ООО «НИЦФ», Россия) в чашке Петри, культивировали при 37 °С до достижения экспоненциальной фазы роста. В стерильных условиях отбирали колонии экспоненциальной культуры тест-штамма и готовили взвеси в 10 мл физиологического раствора, которые доводили до мутности стандарта 0,5 McFarland.

Определение антагонистической активности методом перпендикулярных штрихов

На поверхности агаровой Бифидум-среды (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) в чашке Петри высевали штрихом исследуемый штамм/консорциум лактобацилл и инкубировали в анаэробе с газогенерирующими пакетами (Анаэрогаз GasPak, Россия) при 37 °С в течение 48 ч для образования и диффузии в агар ингибиторных соединений. Затем перпендикулярно от края чашки к штриху выросшей культуры/консорциума лактобацилл подсеивали штрихом экспоненциальную культуру тест-штамма. Чашку вновь инкубировали, но при условиях, благоприятных для роста тест-культуры: 37 °С без анаэроба в течение 24 ч. Эксперимент проводили в 3–4 повторностях.

Учитывали наличие и ширину зон задержки роста тест-культур микроорганизмов. К слабым в антагонистическом отношении лактобациллам относили культуры, образующие зоны задержки роста индикаторного штамма от 4 до 9 мм; к средним в антагонистическом отношении микроорганизмам – культуры, образующие зону от 9 до 14 мм; к высокоактивным антагонистам – культуры, образующие зону от 14 мм и более [14].

Определение антагонистической активности методом лунок

Инокуляцию тест-культур проводили штриховыми движениями в трёх направлениях на среду Мюллера – Хинтона (HiMedia Laboratories, Индия). Не позднее чем через 15 мин в слое агара, содержащего тест-штамм, пробочным сверлом вырезали лунки диаметром 10 мм, в которые помещали по 0,1 мл суспензии монокультуры/консорциума лактобацилл (количество клеток – не менее 10^9 КОЕ/см³). Инкубировали посеы в термостате при 37 °С в течение 48 ч. Эксперимент проводили в 2–3 повторностях. Учитывали наличие зон задержки роста и диаметры зон с точностью до 1 мм с учётом диаметра самой лунки. К слабым антагонистам относят лактобациллы, метаболиты которых образуют зоны задержки роста тест-культур от 10 до 15 мм, к средним – от 15 до 20 мм, к сильным – более 20 мм [14].

Статистические методы

Данные по зонам задержки роста представлены в виде среднего арифметического диаметров зон по

ТАБЛИЦА 1
ВИДОВОЙ СОСТАВ ТЕСТ-КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ

Вид микроорганизма	Количество изолятов, абс.	Маркировка изолятов
Нормобиота человека		
<i>Escherichia coli</i>	1	№ 10
Условно-патогенные бактерии с множественной устойчивостью к антимикробным препаратам		
<i>Enterobacter hormaechei</i>	1	№ 2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	№ 9, № 12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	№ 34, № 38
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	№ 19

TABLE 1
SPECIES COMPOSITION OF BACTERIAL TEST CULTURES

давления роста тест-культур (М) и среднеквадратично-го отклонения (m).

Статистическая обработка данных проведена с использованием программы PAST v. 4.03 (Швеция). Вычисляли непараметрический критерий оценки статистической значимости (Mann – Whitney U-test) для данных по антагонистической активности консорциумов и отдельных штаммов лактобацилл, входящих в их состав. Различия статистических показателей считались значимыми при $p < 0,05$.

Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (г. Иркутск), а также оборудования ЦКП «Прогресс» и Биотехнологического центра ВСГУТУ (г. Улан-Удэ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании монокультур лактобацилл методом перпендикулярных штрихов антагонистическую активность в отношении тест-культур бактерий проя-

вили 5 штаммов: *L. curvatus* LCR-111-1, *L. rhamnosus* 12L, *L. plantarum* 8PA3, *L. casei* МДП-1 и *L. paracasei* k-406 (табл. 2).

Слабыми антагонистами по результатам эксперимента являются штаммы *L. plantarum* 8PA3, *L. rhamnosus* 12L и *L. paracasei* k-406 в отношении грамположительного изолята *S. aureus* № 19. В отношении грамотрицательных изолятов *E. hormaechei* № 2, *K. pneumoniae* № 9, *K. pneumoniae* № 12, *P. aeruginosa* № 34, *P. aeruginosa* № 38 и *E. coli* № 10 все 5 штаммов лактобацилл проявляли средний антагонизм.

При исследовании методом лунок антагонистическую активность проявили два штамма: *L. acidophilus* 100АШ и *L. fermentum* 44/1, – в отношении всех изолятов тест-культур, тогда как остальные пять штаммов лактобацилл не оказывали влияния. При этом штамм *L. acidophilus* 100АШ был слабым антагонистом в отношении грамположительного изолята *S. aureus* № 19 и высокоактивным антагонистом наряду с *L. fermentum* 44/1 в отношении грамотрицательных изолятов № 2, № 9, № 12, № 34, № 38 и № 10.

Следует отметить, что эффект антагонистической активности лактобацилл может быть различным в зависи-

ТАБЛИЦА 2

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОНОКУЛЬТУР ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ И *E. COLI*

TABLE 2

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI MONOCULTURES AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES OF OPPORTUNISTIC BACTERIA AND *E. COLI*

Маркировка тест-культуры	Зоны задержки роста (М ± m)						
	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1	<i>L. acidophilus</i> 100АШ	<i>L. rhamnosus</i> 12L	<i>L. plantarum</i> 8PA3	<i>L. casei</i> МДП-1	<i>L. fermentum</i> 44/1	<i>L. paracasei</i> k-406
Метод перпендикулярных штрихов							
№ 2	10,5 ± 2,0	0	10,0 ± 0,2	10,0 ± 1,4	9,5 ± 0,2	0	9,5 ± 2,0
№ 9	12,0 ± 1,4	0	10,0 ± 0,1	12,0 ± 0,4	12,0 ± 0,8	0	11,5 ± 0,7
№ 12	12,5 ± 0,7	0	12,5 ± 0,7	12,0 ± 1,4	11,5 ± 0,7	0	12,0 ± 0,2
№ 19	10,0 ± 0,3	0	8,0 ± 1,4	8,8 ± 0,6	8,6 ± 0,3	0	8,5 ± 1,4
№ 34	10,0 ± 0,1	0	10,0 ± 0,3	10,0 ± 0,3	11,0 ± 1,4	0	10,0 ± 1,4
№ 38	11,5 ± 2,0	0	13,0 ± 0,2	11,0 ± 1,4	16,0 ± 5,6	0	12,5 ± 0,7
№ 10	10,0 ± 4,0	0	12,0 ± 1,4	11,0 ± 1,4	11,5 ± 0,7	0	11,0 ± 1,4
Метод лунок							
№ 2	0	22,0 ± 0,8	0	0	0	23,2 ± 0,6	0
№ 9	0	23,5 ± 0,4	0	0	0	23,3 ± 0,5	0
№ 12	0	22,5 ± 0,7	0	0	0	22,0 ± 0,8	0
№ 19	0	18,5 ± 0,6	0	0	0	23,0 ± 0,8	0
№ 34	0	24,3 ± 1,2	0	0	0	24,5 ± 0,7	0
№ 38	0	24,0 ± 0,8	0	0	0	22,3 ± 1,2	0
№ 10	0	22,7 ± 0,5	0	0	0	22,3 ± 0,9	0

Примечание. № 2 – *E. hormaechei*; № 9 – *K. pneumoniae*; № 12 – *K. pneumoniae*; № 19 – *S. aureus*; № 34 – *P. aeruginosa*; № 38 – *P. aeruginosa*; № 10 – *E. coli*.

мости от типа условно-патогенных микроорганизмов, с которыми они взаимодействуют. Вероятно, это связано с тем, что грамположительные и грамотрицательные бактерии имеют разные структуры клеточной стенки и механизмы взаимодействия с другими бактериями. Помимо этого, разные изоляты (№ 34 и № 38) одного вида – *P. aeruginosa* – показали различающиеся результаты антагонистической активности (разные зоны задержки роста). Это может указывать на то, что чем больше будет протестировано изолятов одного вида, тем эффективнее будут исследованы антагонистические свойства лактобацилл.

Среди консорциумов антагонистическая активность при исследовании методом перпендикулярных штрихов отмечена у двух (табл. 3):

- *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. plantarum* 8PA3, который проявил слабый антагонизм в отношении изолятов № 2, № 9, № 19, № 34 и средний антагонизм в отношении изолятов № 12, № 38 и № 10. Причём антагонизм консорци-

ума проявлялся статистически значимо слабее, чем антагонизм отдельных штаммов лактобацилл, входящих в его состав ($p = 0,002$);

- *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. casei* МДП-1, проявивший слабый антагонизм в отношении изолята № 2 и средний антагонизм в отношении изолятов № 9, № 12, № 19, № 34, № 38 и № 10.

В отличие от монокультур лактобацилл, которые проявляют разную антагонистическую активность по отношению к грамположительным и грамотрицательным изолятам условно-патогенных микроорганизмов, в консорциумах таких различий не наблюдается: по степени антагонистического воздействия изоляты объединяются независимо от типа клеточной стенки или каких-либо специфических механизмов взаимодействия.

При исследовании методом лунок антагонистическую активность проявили 6 консорциумов (высокоактивные антагонисты), в составе которых присутствуют штаммы *L. acidophilus* 100АШ и/или *L. fermentum* 44/1,

ТАБЛИЦА 3
АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОНСОРЦИУМОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ В ОТНОШЕНИИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ ИЗОЛЯТОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ И *E. COLI*

TABLE 3
ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI CONSORTIUMS AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT ISOLATES OF OPPORTUNISTIC BACTERIA AND *E. COLI*

Маркировка тест-культур	Зоны задержки роста (M ± m)							
	<i>L. fermentum</i> 44/1 и <i>L. acidophilus</i> 100АШ	<i>L. fermentum</i> 44/1 и <i>L. rhamnosus</i> 12L	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1 и <i>L. fermentum</i> 44/1	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1 и <i>L. acidophilus</i> 100АШ	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1 и <i>L. plantarum</i> 8PA3	<i>L. curvatus</i> LCR-111-1 и <i>L. casei</i> МДП-1	<i>L. acidophilus</i> 100АШ и <i>L. rhamnosus</i> 12L	<i>L. acidophilus</i> 100АШ и <i>L. casei</i> МДП-1
Метод перпендикулярных штрихов								
№ 2	0	0	0	0	7,0 ± 0,1*	8,5 ± 0,7	0	0
№ 9	0	0	0	0	8,0 ± 0,3*	9,5 ± 0,7	0	0
№ 12	0	0	0	0	9,0 ± 0,2*	11 ± 0,3	0	0
№ 19	0	0	0	0	6,0 ± 0,3*	9,5 ± 0,7	0	0
№ 34	0	0	0	0	8,0 ± 1,4*	9,0 ± 1,4	0	0
№ 38	0	0	0	0	9,5 ± 2,0*	10 ± 0,2	0	0
№ 10	0	0	0	0	9,5 ± 2,0*	10,5 ± 0,7	0	0
Метод лунок								
№ 2	24,5 ± 0,7*	24,3 ± 0,9*	23,7 ± 1,2*	22,8 ± 1,4*	0	0	23,3 ± 1,2*	19,0 ± 6,3
№ 9	24,3 ± 0,6*	24,3 ± 0,9*	24,3 ± 0,5*	23,3 ± 0,5*	0	0	23 ± 0,8*	23,3 ± 0,5
№ 12	23,5 ± 1,5*	23,3 ± 0,5*	23,3 ± 1,2*	24,7 ± 0,5*	0	0	23,7 ± 0,5*	23,0 ± 0,8
№ 19	23,3 ± 0,9*	23,7 ± 1,2*	24,0 ± 0,3*	24,3 ± 0,6*	0	0	24,7 ± 1,5*	24,2 ± 1,2
№ 34	25,5 ± 1,0*	24,3 ± 0,9*	25,3 ± 1,2*	23,2 ± 1,6*	0	0	23,2 ± 1,4*	22,2 ± 6,7
№ 38	26,5 ± 1,8*	26,3 ± 1,7*	26,5 ± 1,0*	24,7 ± 1,2*	0	0	24,7 ± 1,2*	23,7 ± 0,9
№ 10	23,6 ± 2,0*	23,3 ± 1,2*	23,5 ± 1,9*	24,3 ± 2,0*	0	0	25,7 ± 1,2*	23,3 ± 2,4

Примечание. № 2 – *E. hormaechei*; № 9 – *K. pneumoniae*; № 12 – *K. pneumoniae*; № 19 – *S. aureus*; № 34 – *P. aeruginosa*; № 38 – *P. aeruginosa*; № 10 – *E. coli*; * – статистическая значимость различий между консорциумом и отдельными штаммами лактобацилл, входящими в его состав ($p < 0,05$).

причём у пяти из них антагонизм статистически значимо был более выражен, чем антагонизм отдельных штаммов:

- *L. fermentum* 44/1 и *L. acidophilus* 100АШ ($p = 0,002$);
- *L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L ($p = 0,001$);
- *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. fermentum* 44/1 ($p = 0,002$);
- *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. acidophilus* 100АШ ($p = 0,002$);
- *L. acidophilus* 100АШ и *L. rhamnosus* 12L ($p = 0,002$);
- *L. acidophilus* 100АШ и *L. casei* МДП-1 ($p = 0,198$).

Исследуемые штаммы лактобацилл в составе заявленных консорциумов обладали высоким биотехнологическим потенциалом и уровнем биосовместимости, за исключением консорциума на основе штаммов *L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L, в котором проявлялся умеренный антагонизм (\pm) [16]. Сопоставление результатов биосовместимости штаммов и антагонистической активности консорциумов позволило выявить следующие особенности:

1. В консорциуме на основе штаммов *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. plantarum* 8РАЗ, который характеризовался высоким уровнем биосовместимости (+), выявлено статистически значимое снижение эффекта антагонистической активности в сравнении с активностью монокультур.

2. В консорциуме на основе штаммов *L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L, в котором между штаммами проявлялся умеренный антагонизм (\pm), антагонистическая активность в отношении условно-патогенных микроорганизмов была статистически значимо более выраженной, чем у отдельных штаммов.

Исследование показало, что высокая степень совместимости штаммов лактобацилл не гарантирует эффекта синергии. В контексте лактобацилл синергия может выражаться в усилении или ослаблении антагонистической активности против патогенных микроорганизмов, влияя на пробиотический потенциал консорциума. Следовательно, ключевыми аспектами для создания эффективного пробиотического консорциума являются как биосовместимость пробиотических штаммов, так и антагонистическая активность консорциума. Пробиотический продукт, разработанный с учётом этих критериев, может демонстрировать повышенную эффективность и более широкий спектр полезных для организма свойств.

Антагонистическую активность пробиотических штаммов изучают различными методами: на первом этапе используются методы *in vitro* (диффузные методы, анализ в жидких питательных средах и др.), на втором – методы *in vivo* (приём живой культуры антагониста человеком или подопытным животным с последующим анализом изменений кишечной микробиоты). Все эти методы различаются по степени сложности выполнения, эффективности, возможности сравнения и точности получаемых результатов [17, 18]. Например, результаты, полученные двумя классическими методами (метод перпендикулярных штрихов и метод лунок), основанными на диффузии в толще агар компонента, продуцируемых лактобациллами, сложно сравнивать. Так, метод перпендикулярных штрихов даёт преимущество отдельным штаммам, продуцирующим ингибиторные сое-

динения небольшой молекулярной массы. Метод лунок удобен в свою очередь для тестирования антагонистической активности не только монокультур, но и консорциумов, поскольку в лунку помещают уже готовую суспензию бактерий, включая их метаболиты. Таким образом, оба этих метода дополняют друг друга и должны использоваться в сочетании, так как они позволяют получить более полную картину антагонистической активности лактобацилл и их консорциумов, которая является одной из характеристик пробиотического потенциала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что все лактобациллы и их консорциумы в зависимости от метода исследования обладали разной степенью антагонистической активности в отношении полирезистентных изолятов условно-патогенных бактерий. В пяти исследуемых консорциумах эффект антагонизма в отношении тест-культур был более выражен, чем у отдельных штаммов, а у одного консорциума, наоборот, наблюдалось снижение эффекта антагонистической активности, по сравнению с монокультурами. Полученные результаты исследования антагонистической активности двух консорциумов (*L. fermentum* 44/1 и *L. rhamnosus* 12L, *L. curvatus* LCR-111-1 и *L. plantarum* 8РАЗ) не согласуются с данными по биосовместимости штаммов в этих консорциумах. Следовательно, совместимость штаммов не всегда приводит к положительному синергетическому эффекту, который может проявляться в усилении антагонистической активности. Таким образом, создание пробиотических консорциумов требует точной настройки и выбора штаммов бактерий с учётом как биосовместимости штаммов, так и антагонистических свойств консорциума, чтобы обеспечить эффективное и безопасное действие для улучшения здоровья человека.

Обнаруженная антагонистическая активность в отношении изолята *E. coli* может быть обусловлена, вероятно, одинаковым механизмом воздействия лактобацилл как на условно-патогенные бактерии, так и на нормобиоту. Анализ полученных результатов позволил выявить различия в степени антагонистического воздействия лактобацилл на грамположительные и грамотрицательные виды бактерий. Причём у разных изолятов одного вида также могут наблюдаться такие различия. Учитывая выявленные особенности, для более детального исследования антагонистических свойств лактобацилл в эксперимент следует включать более широкий спектр как грамположительных бактерий, так и изолятов нормобиоты. Кроме того, целесообразно было бы использовать не разные виды, а разные изоляты одного вида: *E. coli* и целевых кишечных условно-патогенных бактерий, например, *K. pneumonia* – одного из самых опасных видов оппортунистических патогенов. Это поможет определить более эффективные стратегии использования пробиотиков в условиях массового распространения лекарственной устойчивости условно-патогенных микроорганизмов.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственной темы № 1023041400005-8-3.4.1.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Doré J, Ortega Ugalde S. Human-microbes symbiosis in health and disease, on earth and beyond planetary boundaries. *Front Astron Space Sci.* 2023; 10(1180522): 1-8. doi: 10.3389/fspas.2023.1180522
2. Савинова Ю.С., Белькова Н.Л., Семёнова Н.В., Рычкова Л.В. История, современные направления и перспективы развития про- и пребиотических препаратов в России и за рубежом. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 211-227. [Savinova YuS, Belkova NL, Semenova NV, Rychkova LV. History, current trends and prospects for the development of pro- and prebiotic drugs in Russia and abroad. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 211-227. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.23
3. Романица А.И., Немченко У.М., Погодина А.В., Григорова Е.В., Белькова Н.Л., Воропаева Н.М., и др. Ассоциации клинических проявлений функциональных кишечных расстройств с характеристиками микробиоты толстой кишки у подростков: пилотное исследование. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(6-2): 73-81. [Romanitsa AI, Nemchenko UM, Pogodina AV, Grigorova EV, Belkova NL, Voropaeva NM, et al. Associations of clinical features of functional bowel disorders with gut microbiota characteristics in adolescents: A pilot study. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(6-2): 73-81. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.8
4. Kazemian N, Mahmoudi M, Halperin F, Wu JC, Pakpour S. Gut microbiota and cardiovascular disease: Opportunities and challenges. *Microbiome.* 2020; 8(36): 1-17. doi: 10.1186/s40168-020-00821-0
5. Mitrea L, Nemeş S-A, Szabo K, Teleky B-E, Vodnar D-C. Guts imbalance imbalances the brain: A review of gut microbiota association with neurological and psychiatric disorders. *Front. Med.* 2022; 9(813204): 1-21. doi: 10.3389/fmed.2022.813204
6. Kwoji ID, Aiyegoro OA, Okpeku M, Adeleke MA. Multi-strain probiotics: Synergy among isolates enhances biological activities. *Biology.* 2021; 10(4): 322. doi: 10.3390/biology10040322
7. Исаева Д.А., Шайхин С.М., Абилядинов А.С., Укбаева Т.Д. Лактобациллы с установленными пробиотическими свойствами. *Астана медициналық журналы.* 2020; 105(3): 65-70. [Isaeva DA, Shaikhin SM, Abilkhadirov AS, Ukbaeva TD. Lactobacilli with established probiotic properties. *Astana Medical Journal.* 2020; 105(3): 65-70. (In Russ.)].
8. Markowiak-Kopeć P, Śliżewska K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. *Nutrients.* 2020; 12(4): 1107. doi: 10.3390/nu12041107
9. Volkova GS, Kuksova EV, Serba EM. Study of biological interstrain interactions and growth properties of production strains. *Topical Issues of Dairy Industry, Intersectoral Technologies and Quality Management Systems.* 2020; 1(1): 104-109.
10. Xie Z, Huang J, Sun G, He Sh, Luo Zh, Zhang L, et al. Integrated multi-omics analysis reveals gut microbiota dysbiosis

and systemic disturbance in major depressive disorder. *Psychiatry Res.* 2024; 334: 1-12. doi: 10.1016/j.psychres.2024.115804

11. Cheng F, Zhang K, Yang X, Shi L, Wei Y, Wang D, et al. Multi-omics analysis reveals the mechanism of *Lactocaseibacillus paracasei* IMAUJBC1 in alleviating hyperlipidemia. *J Func Foods.* 2024; 114: 1-11. doi: 10.1016/j.jff.2024.106079
12. ОФС.1.7.2.0012.15. Производственные пробиотические штаммы и штаммы для контроля пробиотиков. Государственная фармакопея Российской Федерации; XIV изд. 2016. [Major Pharmacopoeial Article 1.7.2.0012.15. Production probiotic strains and strains for probiotic control. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation; XIV ed.* 2016. (In Russ.)]. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-7/1-7-2/proizvodstvennyye-probioticheskie-shtammy-i-shtammy-dlya-kontrolya-probiotikov/> [дата доступа: 24.05.2024].

13. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Немцева Н.В., Черкасов С.В. Ассоциативный симбиоз. Екатеринбург: УрО РАН; 2007. [Bukharin OV, Lobakova ES, Nemtseva NV, Cherkasov SV. *Associative symbiosis.* Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 2007. (In Russ.)].

14. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011. [Guidelines for sanitary and epidemiological assessment of the safety and functional potential of probiotic microorganisms used for food production. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор; 2011. (In Russ.)].

15. Воропаева Н.М., Немченко У.М., Ситникова К.О., Савилов Е.Д., Чемезова Н.Н., Григорова Е.В., и др. Частота встречаемости штаммов с множественной антибиотикорезистентностью в структуре условно-патогенных микроорганизмов. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 145-153. [Voropaeva NM, Nemchenko UM, Sitnikova KO, Savilov ED, Chemezova NN, Grigorova EV, et al. Frequency of strains with multiple antibiotic resistance in the structure of opportunistic pathogens. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 145-153. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.16

16. Щёкотова А.В., Атласова Д.В. Изучение биологических взаимоотношений и биохимических свойств пробиотических микроорганизмов. *Вестник ВСГУ.* 2022; 3(86): 36-45. [Shchekotova AV, Atlasova DV. The study of biological relationships and biochemical properties of probiotic microorganisms. *ESSUTM Bulletin.* 2022; 3(86): 36-45. (In Russ.)].

17. Иркитова А.Н., Яценко Е.С. Оптимизация метода определения антагонистической активности пробиотических бактерий. *Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания.* 2017; 5(19): 113-117. [Irkutova AN, Yatsenko ES. Optimization of the method for determining the antagonistic activity of probiotic bacteria. *Technologies for the Food and Processing Industry of AIC – Healthy Food.* 2017; 5(19): 113-117. (In Russ.)].

18. Пеньдюхова А.С., Белькова Н.Л., Савинова Ю.С., Воропаева Н.М., Смурова Н.Е., Клименко Е.С., и др. Пробиотические консорциумы: структура и антагонистическая активность в отношении условно-патогенных бактерий и нормобиоты человека (на примере *Escherichia coli*) in vitro. *Acta biomedica*

scientifica. 2023; 8(4): 20-31. [Pendyukhova AS, Belkova NL, Savinova JS, Voropaeva NM, Smurova NE, Klimenko ES, et al. Probiotic consortiums: Structure and antagonistic activity against oppor-

tunistic bacteria and human normobiota (using the example of *Escherichia coli*) *in vitro*. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(4): 20-31. (In Russ.)). doi: 10.29413/ABS.2023-8.4.3

Сведения об авторах

Пендюхова Анна Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: annapend@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0398-4598>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, заведующая лабораторией микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Охотина Юлия Сергеевна – заведующая лабораторией биомедицинской микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alisaalisa2222@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

Иванчиков Егор Андреевич – преподаватель кафедры «Биотехнология», ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления», e-mail: ivanchikov92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9941-3715>

Щёктова Анна Владимировна – кандидат технических наук, доцент, директор Института пищевой инженерии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления», e-mail: anna-krivonosova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6665-2958>

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>

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>

Information about the authors

Anna S. Pendyukhova – Junior Research Officer at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: annapend@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0009-0398-4598>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Docent, Head of the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Yulia S. Okhotina – Head of the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alisaalisa2222@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

Egor A. Ivanchikov – Lecturer at the Department of Biotechnology, East Siberian State University of Technology and Management, e-mail: ivanchikov92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9941-3715>

Anna V. Shchekotova – Cand. Sc. (Tech.), Docent, Director of the Institute of Food Engineering and Biotechnology, East Siberian State University of Technology and Management, e-mail: anna-krivonosova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6665-2958>

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>

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>

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПАРАМЕТРОВ СЛУХОВЫХ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ Р300 У ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ В КОНТЕКСТЕ КОГНИТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ: ИССЛЕДОВАНИЕ НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРЕ РОССИИ

Поскотинова Л.В.^{1,2},
Кривоногова Е.В.^{1,2},
Кривоногова О.В.^{1,2},
Кудрявцев А.В.²

¹ ФГБУН Федеральный
исследовательский центр
комплексного изучения Арктики
имени академика Н.П. Лаверова
УрО РАН (163020, г. Архангельск,
просп. Никольский, 20, Россия)

² ФГБОУ ВО «Северный государственный
медицинский университет»
Минздрава России (163000,
г. Архангельск, просп. Троицкий, 51,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Поскотинова Лилия Владимировна,
e-mail: liliya200572@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Нормирование параметров когнитивных слуховых вызванных потенциалов (ВП) Р300 у пожилых людей с сохраненными когнитивными функциями с учётом проживания в определённых климатогеографических условиях является актуальной проблемой.

Цель исследования. Определение возрастных особенностей параметров когнитивных слуховых вызванных потенциалов Р300 у пожилых людей 60–69 и 70–74 лет, жителей Европейского Севера России (на примере г. Архангельска).

Методы. Определены параметры слуховых ВП Р300 у случайно отобранных городских жителей в возрастных группах 60–69 лет ($n = 284$) и 70–74 лет ($n = 115$) с нормальными показателями по Монреальской шкале оценки когнитивных функций (MoCA, Montreal Cognitive Assessment), отсутствием депрессии (по шкале депрессии Бека), сохранной трудоспособностью и/или социальными функциями. Рассчитаны 5–95-е процентильные значения (P5–P95) параметров ВП Р300 и оценены связи этих параметров с социально-демографическими характеристиками, образом жизни и результатами по шкале MoCA и шкале депрессии Бека.

Результаты. Определены статистически значимые различия показателей латентности ВП Р300 между группами 60–69 и 70–74 лет (P25–P90) во всех изучаемых мозговых отделах (лобных, центральных). В группе 60–69 лет диапазон значений P25–P75 латентностей ВП Р300 составил 342,5–401 мс, в группе 70–74 лет – 358,5–443 мс. Возрастные различия амплитуд ВП Р300 были минимальными при межквартильном диапазоне 4–13 мкВ в общей выборке. Курящие участники имели более высокие показатели латентности и более низкие показатели амплитуды, курившие в прошлом – более высокие показатели латентности в сравнении с никогда не курившими.

Заключение. Латентность выше 400 мс в возрасте 60–65 лет и выше 443 мс в 70–74 года может рассматриваться в качестве критерия сниженного когнитивного резерва и повышенного риска развития когнитивных нарушений у пожилых людей, проживающих на Европейском Севере России.

Ключевые слова: когнитивные функции, когнитивные вызванные потенциалы, Север, здоровое старение, когнитивное здоровье

Для цитирования: Поскотинова Л.В., Кривоногова Е.В., Кривоногова О.В., Кудрявцев А.В. Возрастные особенности параметров слуховых вызванных потенциалов Р300 у пожилых людей в контексте когнитивного здоровья: исследование на Европейском Севере России. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 130-143. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.13

Статья поступила: 03.12.2023

Статья принята: 03.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

AGE-RELATED PARAMETERS OF P300 AUDITORY EVOKED POTENTIALS IN ELDERLY PERSONS IN THE CONTEXT OF COGNITIVE HEALTH: A STUDY IN THE EUROPEAN NORTH OF RUSSIA

Poskotinova L.V.^{1,2},
Krivonogova E.V.^{1,2},
Krivonogova O.V.^{1,2},
Kudryavtsev A.V.²

¹ N. Laverov Federal Center
for Integrated Arctic Research,
Ural Branch of the Russian Academy
of Sciences (Nikolsky Ave. 20, Arkhangelsk
163020, Russian Federation)

² Northern State Medical University
(Troitsky Ave. 51, Arkhangelsk 163000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Liliya V. Poskotinova,
e-mail: liliya200572@mail.ru

ABSTRACT

Background. Setting of norms for the parameters of P300 cognitive auditory evoked potentials (EP) in elderly people with intact cognitive functions considering their residence in certain climatic and geographical regions is an urgent problem.

The aim of the study. To determine age-related parameters of P300 cognitive auditory evoked potentials in elderly people aged 60–69 and 70–74 years, living in the European North of Russia (using the example of Arkhangelsk).

Methods. The parameters of P300 auditory EP were determined in randomly selected urban residents in the age groups of 60–69 years ($n = 284$) and 70–74 years ($n = 115$) with normal scores on the Montreal Cognitive Assessment Scale (MoCA), without depression (according to Beck Depression Inventory), with preserved ability to work and/or social functions. We calculated the 5th–95th percentile values (P5–P95) of the P300 EP parameters and assessed the relationships of these parameters with socio-demographic characteristics, lifestyle and the results on the MoCA scale and Beck Depression Inventory.

Results. Statistically significant differences in latency indicators of P300 EP were determined between groups of 60–69 and 70–74 years (P25–P90) in all studied brain regions (frontal, central). In the group of 60–69 years, the range of P25–P75 values of P300 EP latencies was 342.5–401 ms, in the group of 70–74 years – 358.5–443 ms. Age differences in P300 EP amplitudes were minimal with an interquartile range of 4–13 μV in the total sample. Participants who smoked had higher latency scores and lower amplitude scores; former smokers had higher latency scores compared to never-smokers.

Conclusion. Latency above 400 ms at the age of 60–65 years and above 443 ms at 70–74 years can be considered as a criterion for reduced cognitive reserve and an increased risk of developing cognitive disorders in elderly people living in the European North of Russia.

Key words: cognitive function, cognitive evoked potentials, North, healthy aging, cognitive health

Received: 03.12.2023
Accepted: 03.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Poskotinova L.V., Krivonogova E.V., Krivonogova O.V., Kudryavtsev A.V. Age-related parameters of P300 auditory evoked potentials in elderly persons in the context of cognitive health: A study in the European North of Russia. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 130-143. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.13

ОБОСНОВАНИЕ

Сохранение высших психических функций на оптимальном уровне в пожилом возрасте обеспечивает активное участие пожилых людей в общественной жизни. Успешная когнитивная деятельность у пожилых людей также необходима для эффективной передачи наработанного трудового опыта молодому поколению, что обеспечивает также и стабильность общества. Тем не менее, индивидуальная жизнеспособность пожилых людей снижается, прежде всего за счёт снижения показателей когнитивного домена [1]. Современные психодиагностические подходы позволяют оценить риски когнитивных нарушений у пожилых людей, однако не всегда нейрофизиологические тесты чувствительны к выявлению ранних, преддементных нарушений.

Параметры биоэлектрических потенциалов головного мозга, связанных с событиями (вызванных потенциалов (ВП)), являются перспективными электрофизиологическими коррелятами когнитивных функций как в норме, так и при патологии [2, 3]. При этом остаётся актуальной проблема выявления пределов колебаний значений когнитивных вызванных потенциалов у пожилых лиц в контексте здорового старения. Закономерное возрастное изменение параметров ВП Р300 происходит как на фоне снижения когнитивных функций, отражённых в данных нейропсихологического тестирования, так и на фоне сохранённых когнитивных и социальных функций. Это затрудняет интерпретацию параметров ВП Р300 у лиц пожилого возраста в контексте необходимости дифференциации характеристик возрастной нормы и электрофизиологических коррелятов риска развития когнитивных нарушений [4]. Образ жизни, его активность в социуме значимо определяет нейрофизиологический статус пожилого человека.

Возрастное снижение скорости обработки информации в виде удлинения латентности и снижения амплитуды ВП Р300 традиционно рассматривается по 10-летним периодам [2]. 70-летний возраст как важный возрастной рубеж часто используется для прогноза различных аспектов жизни пожилых людей. Например, возраст 70 лет используют для расчёта предикторов выживаемости (социально-экономический статус, образ жизни, когнитивные функции и т. д.) [5]. Поэтому возрастные особенности параметров ВП Р300 и их соотношение с социальными и психологическими характеристиками представляется важным рассматривать с учётом разделения пожилого возраста на периоды до и после 70 лет.

Согласно концепции «кривой старения», предложенной в 70–90-е годы XX века на основании возрастной динамики латентности ВП Р300, с возрастом средняя латентность увеличивается согласно формуле: Латентность Р300 = $1,25 \times \text{возраст} + 285 \text{ мс}$ [2]. Но при этом максимальные значения латентности ВП Р300 могут значительно отличаться от расчётных показателей. То есть у лиц старших возрастных групп диапазоны значений показателей латентности Р300 могут быть довольно широкими.

Амплитуда ВП Р300 также традиционно рассматривается в рамках регрессионных моделей, согласно которым с возрастом амплитуда снижается (Амплитуда ВП Р300 = $11,9 \text{ мкВ} - 0,09 \times \text{Возраст}$) [6]. При этом разброс значений амплитуд в возрастных выборках может быть достаточно широким, а представление данных ограничивается значениями средних арифметических по выборке и стандартного отклонения. Также есть сведения о незначительном возрастном снижении амплитуд ВП Р300 при старении [7].

Возрастные изменения физиологических показателей, в том числе когнитивных функций, могут иметь региональные особенности. Так, в случайной выборке пожилых лиц, посещавших поликлинические учреждения в одном из регионов Арктической зоны РФ (г. Архангельск), преддементные нарушения по данным нейропсихологического тестирования были выявлены у половины посетителей [8]. В целом это сопоставимо с результатами оценки когнитивных нарушений среди лиц общероссийской выборки, когда среди лиц со средним возрастом $66,0 \pm 15,7$ года выявили лёгкие и умеренные (преддементные) нарушения у 46,6 % посетителей лаборатории нарушений памяти ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (г. Москва) [9]. Однако отмечается, что при регистрации зрительных ВП Р300 у женщин пожилого возраста в г. Архангельске наибольшее снижение амплитуды и удлинение латентности зрительных ВП Р300 было выявлено в возрастной группе 70–74 лет [10].

Определение нормативных диапазонов показателей латентности и амплитуды ВП Р300 с учётом данных нейропсихологического тестирования, а также сведений о социально-экономическом статусе, трудовой и социальной активности пожилых людей позволило бы обеспечить их применимость как для оценки параметров здорового старения, так и в целях выявления электрофизиологических критериев риска развития когнитивных нарушений у пожилых людей. С учётом непараметрического распределения этих параметров представление их нормативных диапазонов с использованием процентильных коридоров (от P5 до P95) также способствовало бы повышению их валидности. На этих основаниях целью данного исследования являлось определение возрастных особенностей параметров когнитивных слуховых вызванных потенциалов Р300 у пожилых людей 60–69 и 70–74 лет, проживающих на Европейском Севере России (на примере г. Архангельска).

МЕТОДЫ

В 2023 г. участники исследования набирались из числа жителей г. Архангельска, ранее вошедших в случайную популяционную выборку исследования «Узнай своё сердце» [11], сформированную на основе обезличенной базы данных территориального фонда обязательного медицинского страхования. Для посещения отбирались случайные адреса и проживающие по ним мужчины и женщины пожилого возраста (согласно возраст-

ной периодизации – в возрасте 60–74 лет) приглашались к участию в исследовании. Обследование проводилось на базе консультативно-диагностической поликлиники ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России (СГМУ) и лаборатории биоритмологии ФГБУН Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаврова УрО РАН (ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН). От всех участников получено письменное информированное согласие на обследование, которое одобрено локальным этическим комитетом СГМУ (протокол № 03/04-23 от 26.04.2023) и выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации.

Критериями включения в выборку данного исследования являлись: возраст 60–74 года; проживание на территории Архангельской области в течение 10 лет; наличие подписанного информированного согласия на исследование.

Критериями исключения являлись: наличие острого инфекционного заболевания на момент исследования; обострение хронического заболевания; наличие в анамнезе психических заболеваний.

Всего в исследовании приняли участие 605 человек в возрасте 60–74 лет, которым предложено пройти полное обследование, включавшее медицинское обследование и анкетирование (первый этап), а также когнитивно-психологическое тестирование и регистрацию параметров когнитивных слуховых потенциалов ВП Р300 (второй этап). Дополнительными критериями исключения при оценке параметров когнитивных слуховых потенциалов ВП Р300 являлись наличие эпилепсии, черепно-мозговых травм с повреждением костей черепа, нарушений мозгового кровообращения, сопровождающихся гемипарезом, тугоухость выше I степени. Оба этапа прошли 529 человек. Остальные участники соответствовали критериям исключения или отказались от прохождения второго этапа.

Посредством анкетирования были получены данные о трудоспособности участников (в настоящее время работает или не работает, но смог(ла) бы работать при желании или необходимости), уровне образования, семейном положении, продолжительности проживания в г. Архангельске, финансовом положении, табакокурении и потреблении алкоголя, выполнении функций в семье (1 – материальное обеспечение семьи и близких; 2 – ведение домашнего хозяйства; 3 – ведение дачного или приусадебного хозяйства; 4 – воспитание детей и внуков; 5 – уход за пожилыми и/или больными родственниками) и социально значимой деятельности (волонтерская работа, участие в работе политических партий, общественных организаций, в общественной работе как минимум один раз в год).

Тестирование когнитивных функций проводилось с использованием Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (MoCA, Montreal Cognitive Assessment) [12]. При получении общего балла 26 и выше констатировали нормальные показатели по данной шкале. Определение уровня депрессии выполняли с использованием

шкалы депрессии Бека [13]. Отсутствие симптомов депрессии расценивали при уровне менее 14 баллов. В дополнение для определения признаков старческой астении использовали тест «Возраст не помеха» [14, 15].

Оценка слухового ВП Р300 осуществлялась с использованием электроэнцефалографа «Нейрон-Спектр» (ООО «Нейрософт», Россия), регистрация параметров ВП Р300 выполнялась в стандартных отведениях электроэнцефалограммы (ЭЭГ) с использованием международной системы наложения электродов «10-20» с ушным референтом в лобных (F3, F4) и центральных (C3, C4) отделах головного мозга. Условия бинауральной невербальной акустической стимуляции при модели случайно возникающего события (oddball paradigm) с нажатием кнопки включали: длительность стимула – 50 мс; интенсивность – 80 дБ; период между стимулами – 1 с; частота тона – 2000 Гц с 30 % встречаемости значимого стимула, 1000 Гц с 70 % встречаемости незначимого стимула. Были определены латентности ВП Р300 (мс) и межпиковая амплитуда N2-P300 (мкВ) [2, 6].

В последующем для рассмотрения возрастных диапазонов показателей ВП Р300 был выполнен отбор лиц с нормальными показателями когнитивных функций по шкале MoCA (26 баллов и более), без признаков депрессии (менее 14 баллов по шкале депрессии Бека), сохранной трудоспособностью, выполнением двух и более рабочих функций в семье и/или выполнением социально значимой деятельности не реже одного раза в месяц.

При статистическом анализе категориальные переменные представлены абсолютными значениями (Abs) и процентными долями (%). Непрерывные переменные представлены средними арифметическими значениями (M) и стандартными отклонениями (SD, standard deviation) или медианами (Me) с 25%-м и 75%-м процентиллями [P25; P75]. Сравнения групп по категориальным переменным проводили с использованием теста хи-квадрат (χ^2) Пирсона, по непрерывным переменным – с использованием теста Манна – Уитни. Нормативные значения показателей когнитивного слухового вызванного потенциала Р300 для возрастных групп 60–69 и 70–74 лет представлены процентильными значениями (P5, P10, P25, P50, P75, P90, P95), смоделированными с помощью множественных квантильных регрессий с возрастной группой, полом и образованием в качестве ковариат, с заданием условия равномерного распределения возрастных групп по полу и образованию. Различия между соответствующими процентильными значениями в возрастных группах оценивались на основании статистической значимости регрессионных коэффициентов для переменной возрастной группы в описанных квантильных регрессионных моделях. Связи показателей ВП Р300 с социально-демографическими характеристиками, стилем жизни (курение и употребление алкоголя) и результатами по шкале MoCA и шкале депрессии Бека в анализируемой выборке пожилых людей с нормальными показателями по шкале MoCA, без признаков депрессии (по шкале депрессии Бека) и с сохранной трудоспо-

способностью и/или социальными функциями оценивали с помощью множественных линейных регрессий с коррекцией на пол и возраст. Условия применимости множественных линейных регрессионных моделей оценивались посредством визуальной оценки распределения остатков. Статистически значимыми считали регрессионные коэффициенты и различия между группами при $p < 0,05$. Для анализа данных использовали программу STATA 18.0 (Stata Corp., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате применения критериев отбора участников с нормальными показателями по шкале МоСА и шкале депрессии Бека, с сохранной трудоспособностью и/или социальными функциями для анализа возрастных особенностей диапазонов параметров ВП Р300 сформирована группа в количестве 399 человек (284 человека в возрасте 60–69 лет и 115 человек в возрасте 70–74 лет), что составило 75,4 % от общей численности выборки (605 человек) (табл. 1).

По данным опросника «Возраст не помеха» в группу вошли: 310 (77,7 %) человек, у которых старческая астения маловероятна (0–2 балла); 84 (21 %) человека, у которых вероятно преастения (3–4 балла); 5 (1,3 %) человек с вероятной старческой астенией (5–7 баллов). С учётом отбора участников с нормальными показателями по шкале МоСА [16, 17] наличие признаков преастении и астении у участников рассматривалось как обусловленное снижением физических функций.

Группы участников исследования в возрасте 60–69 и 70–74 лет были сопоставимы ($p > 0,05$) по соотношению мужчин и женщин, времени проживания в г. Архангельске, выполнению функций в семье (за исключением

доли занимающихся дачными и приусадебными участками, которая была выше среди лиц 70–74 лет), участию в общественно полезной деятельности и частоте употребления алкоголя (табл. 2). Неработающих и сообщавших о том, что не смогли бы работать при желании или необходимости, было больше в возрасте 70–74 лет ($p < 0,001$), и в этом возрасте была больше доля лиц с образованием не выше среднего ($p = 0,037$). Лиц, состоящих в браке, было больше в возрасте 60–69 лет ($p = 0,011$), а проживающих в одиночестве было больше среди лиц 70–74 лет ($p = 0,046$). Курящих было больше среди лиц 60–69 лет ($p = 0,005$). Уровень доходов был ниже в группе 70–74 лет за счёт большей доли лиц, сообщавших о наличии финансовых ограничений в отношении приобретения крупной бытовой техники. Участники 70–74 лет также имели более низкий средний балл по данным шкалы МоСА. Баллы по шкале депрессии Бека у участников 60–69 и 70–74 лет не имели статистически значимых различий.

Анализ диапазонов показателей ВП Р300 показал увеличение показателей латентности ВП Р300 с возрастом во всех изучаемых отведениях ЭЭГ (табл. 3). С учётом максимального разброса значений в четырёх рассматриваемых отведениях ЭЭГ в группе 60–69 лет диапазон значений латентностей ВП Р300 на уровне средних процентильных величин (P25–P75), отражающий условную «среднюю норму», составил 342,5–400,9 мс, в группе 70–74 лет – 358,5–442,9 мс. Во всех рассматриваемых отведениях ЭЭГ (C3, C4, F3, F4) в группе 70–74 лет в сравнении с группой 60–69 лет определены более высокие процентильные значения в диапазоне P10–P95. На уровне P90 латентность ВП Р300 значительно увеличивалась по сравнению со значением на P75 в каждой возрастной группе, особенно в возрастной группе 70–74 лет – более 40 мс.

ТАБЛИЦА 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ОТБОРА УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ С НОРМАЛЬНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПО ШКАЛЕ МОСА, БЕЗ ПРИЗНАКОВ ДЕПРЕССИИ, С СОХРАННОЙ ТРУДОСПОСОБНОСТЬЮ И/ИЛИ СОХРАННЫМИ СОЦИАЛЬНЫМИ ФУНКЦИЯМИ

TABLE 1

RESULTS OF SELECTING STUDY PARTICIPANTS WITH NORMAL MOCA SCORES, NO SIGNS OF DEPRESSION AND PRESERVED ABILITY TO WORK AND/OR SOCIAL FUNCTIONS

Возрастные группы	Всего (n = 529)	60–69 лет (n = 354) Abs (%)	70–74 года (n = 175)	p*
Отсутствие когнитивных нарушений (оценка по шкале МоСА ≥ 26)	441 (84,2)	306 (87,2)	135 (78,0)	0,007
Отсутствие депрессии (оценка по шкале депрессии Бека < 14)	477 (90,7)	328 (93,2)	149 (85,6)	0,005
Сохранная трудоспособность (работает или смог(ла) бы работать при желании и/или необходимости)	347 (65,6)	260 (73,5)	87 (49,7)	$< 0,001$
Сохранные социальные функции (≥ 2 функций в семье и/или общественно полезная деятельность не реже 1 раза в месяц)	498 (94,1)	334 (94,4)	164 (93,7)	0,770
Отсутствие когнитивных и психологических нарушений и сохранная трудоспособность и/или социальные функции	399 (76,2)	284 (80,9)	115 (66,5)	$< 0,001$

Примечание. * – значение p оценено тестом Пирсона (χ^2).

ТАБЛИЦА 2
СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ, ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ,
КОГНИТИВНЫЕ, ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ
И НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
УЧАСТНИКОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 60–69 И 70–74 ЛЕТ

TABLE 2
SOCIODEMOGRAPHIC, BEHAVIOURAL, COGNITIVE,
PSYCHOLOGICAL AND NEUROPSYCHOLOGICAL
CHARACTERISTICS OF STUDY PARTICIPANTS
AGED 60–69 AND 70–74 YEARS

Характеристики	60–69 лет (n = 284)	70–74 лет (n = 115)	p*
Abs (%)			
<i>Социально-демографические</i>			
Пол:			
– мужской	112 (39,4)	35 (30,4)	0,091
– женский	172 (60,6)	80 (69,6)	
Проживание в г. Архангельске:			
– с рождения	140 (49,3)	58 (50,4)	0,837
– более 10 лет	144 (50,7)	57 (49,6)	
Образование:			
– высшее	98 (34,5)	38 (33,0)	0,037
– среднее специальное	158 (55,6)	55 (47,8)	
– среднее и ниже	28 (9,9)	22 (19,1)	
Занятость:			
– работает в настоящее время	116 (40,9)	14 (12,2)	< 0,001
– не работает, но смог(ла) бы работать при желании и/или необходимости	100 (35,2)	54 (47,0)	
– не работает и не смог(ла) бы работать при желании и/или необходимости	68 (23,9)	47 (40,9)	
Уровень дохода:			
– не хватает денег на продукты/одежду	21 (7,4)	7 (6,1)	0,046
– хватает на продукты/одежду, покупка крупной бытовой техники затруднительна	124 (43,8)	68 (59,1)	
– можно купить крупную бытовую технику, но покупка автомобиля затруднительна	106 (37,5)	29 (25,2)	
– материальных затруднений нет, есть возможность купить автомобиль, квартиру	32 (11,3)	11 (9,6)	
Семейное положение:			
– женат/замужем	172 (60,6)	60 (52,2)	0,011
– разведен(а)	42 (14,8)	13 (11,3)	
– вдовец/вдова	45 (15,9)	35 (30,4)	
– никогда не был(а) женат/замужем	25 (8,8)	7 (6,1)	
Проживание в одиночестве	73 (25,7)	41 (35,7)	0,046
Функции в семье:			
– материальное обеспечение семьи и близких	204 (71,8)	88 (76,5)	0,338
– ведение домашнего хозяйства	265 (93,3)	107 (93,0)	0,924
– ведение дачного или приусадебного хозяйства	180 (63,4)	86 (74,8)	0,029
– воспитание детей и внуков	186 (65,5)	78 (67,8)	0,656
– уход за пожилыми и/или больными родственниками	72 (25,4)	29 (25,2)	0,978
Общественно полезная деятельность или волонтерство:			
– редко или никогда	263 (92,6)	105 (1,3)	0,660
– не реже раза в месяц	21 (7,4)	10 (8,7)	

ТАБЛИЦА 2 (продолжение)

TABLE 2 (continued)

Стиль жизни			
Курение:			
– никогда	169 (59,5)	86 (74,8)	0,005
– в прошлом	68 (23,9)	22 (19,1)	
– в настоящем	47 (16,6)	7 (6,1)	
Употребление алкоголя:			
– раз в месяц или реже	212 (74,6)	89 (77,4)	0,103
– 2–4 раза в месяц	59 (20,7)	16 (13,9)	
– 2–3 раза в неделю и чаще	13 (4,6)	10 (8,7)	
Психическое здоровье, Ме [P25; P75]			
Шкала MoCA, баллы	28 [27; 29]	28 [26; 29]	0,001
Шкала депрессии Бека, баллы	4 [1; 7]	5 [2; 7]	0,060

Примечание. * – для количественных признаков значение p оценено t -тестом для независимых выборок или тестом Манна – Уитни, для категориальных – тестом Пирсона (χ^2).

ТАБЛИЦА 3

**НОРМАТИВНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ
КОГНИТИВНОГО СЛУХОВОГО ВЫЗВАННОГО
ПОТЕНЦИАЛА P300 У ЛИЦ 60–69 ($n = 284$) И 70–74 ЛЕТ
($n = 115$) С НОРМАЛЬНЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПО ШКАЛЕ
МОСА, БЕЗ ПРИЗНАКОВ ДЕПРЕССИИ, С СОХРАННОЙ
ТРУДОСПОСОБНОСТЬЮ И/ИЛИ СОЦИАЛЬНЫМИ
ФУНКЦИЯМИ**

TABLE 3

**NORMATIVE VALUES FOR THE PARAMETERS
OF P300 COGNITIVE AUDITORY EVOKED POTENTIAL
IN INDIVIDUALS AGED 60–69 ($n = 284$) AND 70–74 YEARS
($n = 115$) WITH NORMAL MOCA SCORES, NO SIGNS
OF DEPRESSION AND PRESERVED ABILITY TO WORK
AND/OR SOCIAL FUNCTIONS**

Группы	Mean	SD	P5	P10	P25	P50	P75	P90	P95
Латентность ВП P300, мс									
C4									
60–69 лет	378,0	46,2	319,2	330,7	349,2	370,3	395,3	430,1	453,1
70–74 года	403,0	53,9	328,2	345,7*	367,2*	392,3*	440,3*	488,1*	512,1*
C3									
60–69 лет	379,7	42,4	322,1	331,2	351,5	374,6	400,9	434,0	465,8
70–74 года	406,4	55,9	332,1	343,7*	371,5*	392,6*	442,9*	482,0*	514,8*
F4									
60–69 лет	374,5	45,7	317,9	328,0	344,0	368,1	396,4	426,4	454,1
70–74 года	398,5	53,6	324,9	338,0	360,0*	390,1*	422,4*	469,4*	503,1*
F3									
60–69 лет	374,7	45,2	317,1	326,1	342,5	369,3	395,6	429,3	467,3
70–74 года	399,2	54,7	330,1*	337,1	358,5*	384,3*	427,6*	479,3*	506,3
Амплитуда ВП P300, мкВ									
C4									
60–69 лет	9,5	6,0	2,1	3,1	5,7	8,4	12,1	18,0	21,3
70–74 года	8,3	5,2	0,9*	1,4*	4,3*	8,1	11,4	15,3	18,2
C3									
60–69 лет	9,9	6,2	1,9	3,2	6,2	9,0	12,6	17,0	21,1
70–74 года	9,2	4,8	2,9	3,7	5,6	8,3	12,3	16,7	19,3
F4									
60–69 лет	8,5	6,3	0,9	2,1	4,3	7,4	10,5	16,0	21,5
70–74 года	8,3	6,1	0,7	1,7	3,5	7,2	12,3	17,3	21,6
F3									
60–69 лет	8,4	6,5	1,1	2,2	4,2	7,2	10,9	15,2	20,2
70–74 года	7,9	5,2	1,7	2,3	4,1	6,5	11,2	14,8	19,0

Примечание. Значения процентилей смоделированы, и различия между ними в возрастных группах оценены с помощью множественных квантильных регрессий с возрастной группой, полом и образованием в качестве ковариат с условием равномерного распределения возрастных групп по полу и образованию; * – $p < 0,05$ для различия между значениями соответствующих процентилей.

Диапазон условной «средней» нормы (P25–P75) амплитуд ВП Р300 в группе 60–69 лет с учётом разброса значений в отведениях ЭЭГ составил 4,2–12,6 мкВ, в группе 70–74 лет – 3,5–12,3 мкВ. Различия амплитуд ВП Р300 между возрастными группами были несущественными и достигали статистической значимости только на уровне низких процентилей (P5–P25) для отведения С4.

В рамках анализируемой группы участников, состоящей из лиц без когнитивных и психологических нарушений, с сохранной трудоспособностью и/или социальными функциями, анализируемые показатели ВП Р300 не имели статистически значимых связей с уровнем образования, занятостью, уровнем дохода. В сравнении с никогда не курившими курящие в настоящем имели более высокие показатели латентности (отведение С4: Ме – 394,0 против 374,0 мс, $p = 0,024$; отведение F4: Ме – 393,4 против 370,1 мс, $p = 0,008$; отведение F3: Ме – 393,3 против 366,5 мс, $p = 0,004$) и более низкие показатели амплитуды (отведение С3: Ме – 6,5 против 8,5 мкВ; $p = 0,043$); курившие в прошлом – более высокие показатели латентности (отведение F3: Ме – 384,8 против 366,5 мс; $p = 0,019$). Частота употребле-

ния алкоголя не имела статистически значимых связей с показателями ВП Р300.

При рассмотрении этой же выборки не определены взаимосвязи показателей латентности амплитуды ВП Р300 с результатами по шкале МоСА, ограниченными диапазоном от 26 до 30 баллов (рис. 1, 2), а также с результатами по шкале депрессии Бека, рассматриваемой в диапазоне от 0 до 13 баллов (рис. 3, 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные отражают статистически значимые возрастные различия латентностей ВП Р300 у пожилых людей в группах 60–69 и 70–74 лет, в большей степени в процентильном диапазоне P25–P90, когда различия отражены во всех отведениях ЭЭГ, и минимальные возрастные различия амплитуд ВП Р300.

Социально-демографические факторы, а также колебания параметров внутри нормативных диапазонов по данным шкалы МоСА и шкалы депрессии Бека не имели связи с параметрами ВП Р300 у лиц группы с нормальными показателями по данным шкалы МоСА, от-

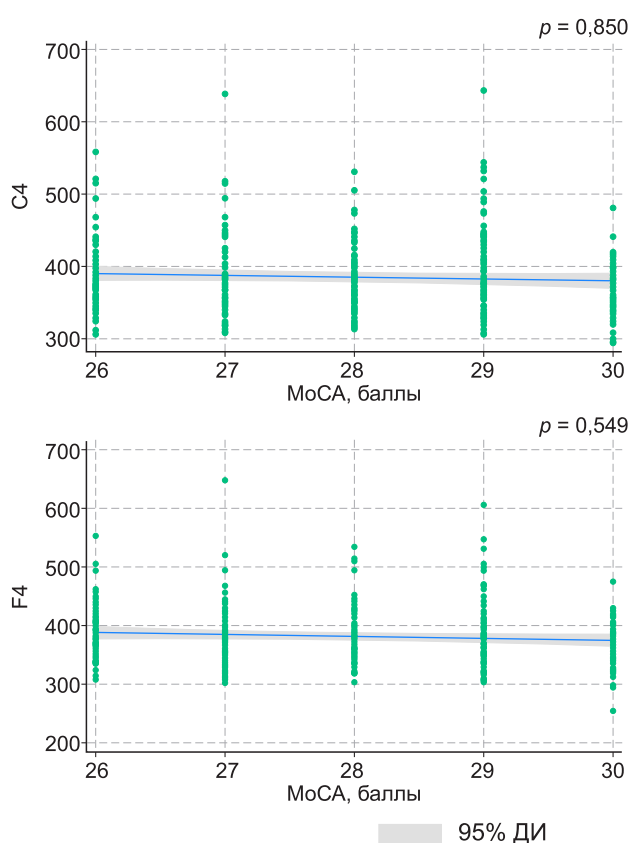


РИС. 1.

Результаты множественного регрессионного анализа, отражающего связи показателей латентности ВП Р300 с результатами по шкале МоСА в диапазоне от 26 до 30 баллов у лиц с нормативными значениями параметров ВП Р300: линии регрессии и связи между переменными определены с коррекцией на пол и возраст

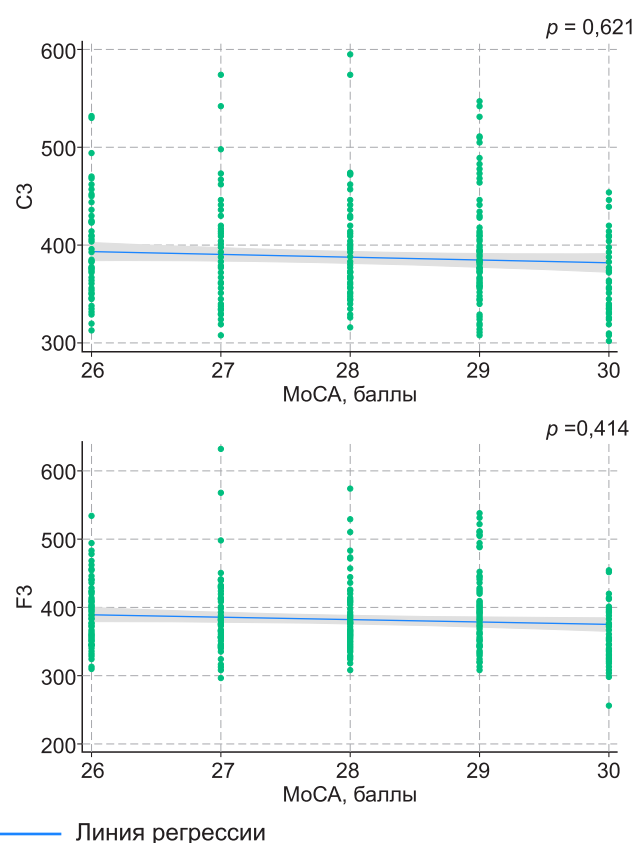


FIG. 1.

Results of multiple regression analysis showing the relationship between P300 evoked potential latency and MoCA scores ranging from 26 to 30 points in individuals with normative values of P300 evoked potential parameters: regression lines and relationships between variables are defined with correction for gender and age

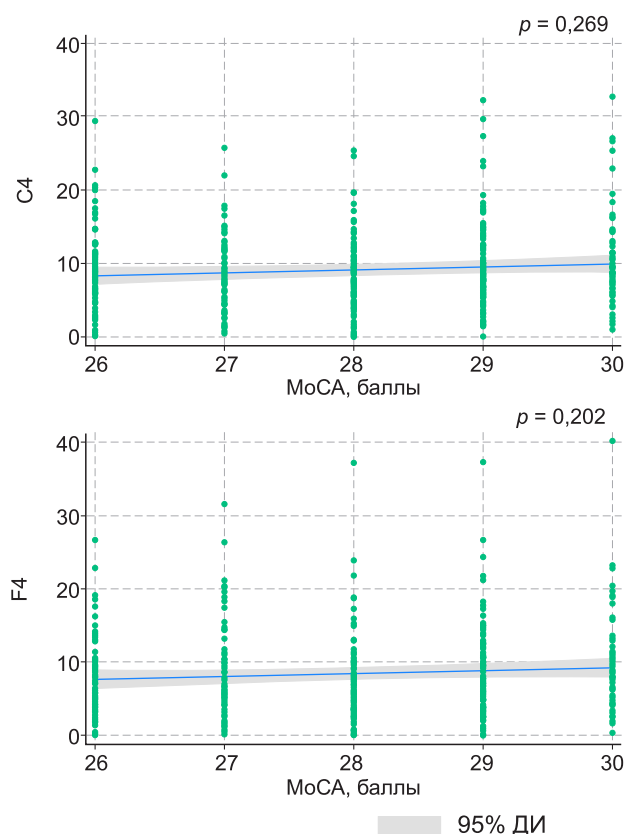


РИС. 2.

Результаты множественного регрессионного анализа, отражающего связи показателей амплитуды ВП Р300 с результатами по шкале МоСА в диапазоне от 26 до 30 баллов у лиц с нормативными значениями параметров ВП Р300: линии регрессии и связи между переменными определены с коррекцией на пол и возраст

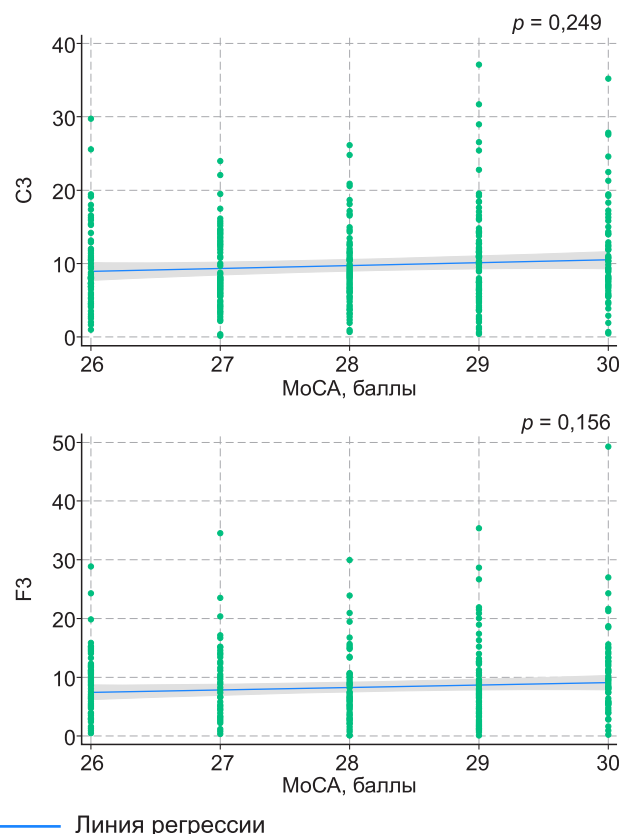


FIG. 2.

Results of multiple regression analysis showing the relationship between P300 evoked potential amplitude and MoCA scores ranging from 26 to 30 points in individuals with normative values of P300 evoked potential parameters: regression lines and relationships between variables are defined with correction for gender and age

существом депрессии, сохранной трудоспособностью и/или социальными функциями. Это свидетельствует о том, что принципы отбора участников исследования для формирования именно нормативных значений параметров ВП Р300 выбраны корректно, насколько это позволяли возможности обследования. Тем не менее, фактор курения, даже курения в прошлом (у бросивших курить к моменту исследования), был ассоциирован как с латентностью, так и с амплитудой ВП Р300. Полученные данные согласуются с исследованиями, где на представительных выборках психически здоровых, курящих на момент исследования и никогда не куривших людей показан электрофизиологический фенотип курильщика со сниженной у них амплитудой ВП Р300, с возможной взаимосвязью «доза-реакция» [18, 19]. Удлинение латентности слухового ВП Р300 связывают с удлинением его сенсорного компонента N1, когда происходит снижение восприятия слухового сигнала вследствие хронического воздействия никотина на нейронные пути от внутреннего уха до слуховой зоны коры головного мозга [20].

Несмотря на то, что вопрос о создании нормативных баз данных параметров ВП Р300 поднимается дав-

но, в течение более 30 лет [21], сравнение полученных результатов с литературными данными затруднено. Это связано с разным числом участников в выборках, разными статистическими подходами. Чаще всего используется метод оценки показателей ВП Р300 с учётом среднего значения и стандартного отклонения (сигмы) [2]. Тем не менее, ориентируясь на данные нормы ВП Р300 в центральных отведениях ЭЭГ с нажатием кнопки в группе 60–69 лет (383 ± 40 мс), приведённые в работе В.В. Гнездицкого и соавт. [2], можно заключить, что в нашем исследовании как средние значения ($374,5\text{--}380$ мс), так и стандартные отклонения ($42,4\text{--}46,2$ мс) в группе 60–69 лет в целом сопоставимы с данными вышеуказанных авторов. В группе 70–74 лет латентность ВП Р300 в нашем исследовании выглядит более удлинённой (среднее – $399\text{--}406$ мс, сигма – $54\text{--}56$ мс; по данным В.В. Гнездицкого и соавт. [2] – 392 ± 46 мс).

В другом исследовании, проведённом также с использованием слуховых ВП Р300 [22] у здоровых пожилых лиц в Южной Корее со средним возрастом 75,8 года, латентность ВП Р300 составляла $362,5 \pm 44,2$ мс в срединном лобном отведении ЭЭГ, $362,2 \pm 43,5$ мс – в централь-

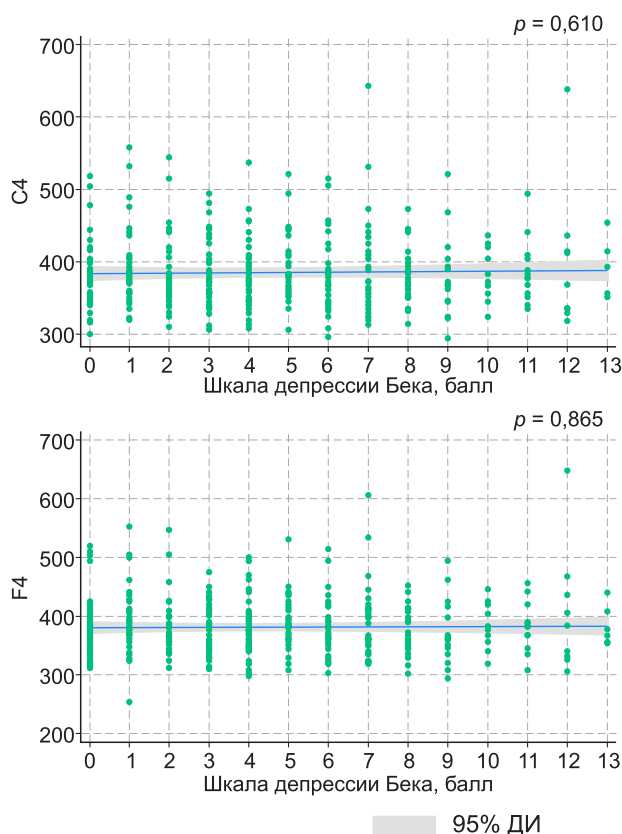


РИС. 3.

Результаты множественного регрессионного анализа, отражающего связи показателей латентности ВП Р300 с результатами по шкале депрессии Бека в диапазоне от 0 до 13 баллов у лиц с нормативными значениями параметров ВП Р300: линии регрессии связи между переменными определены с коррекцией на пол и возраст

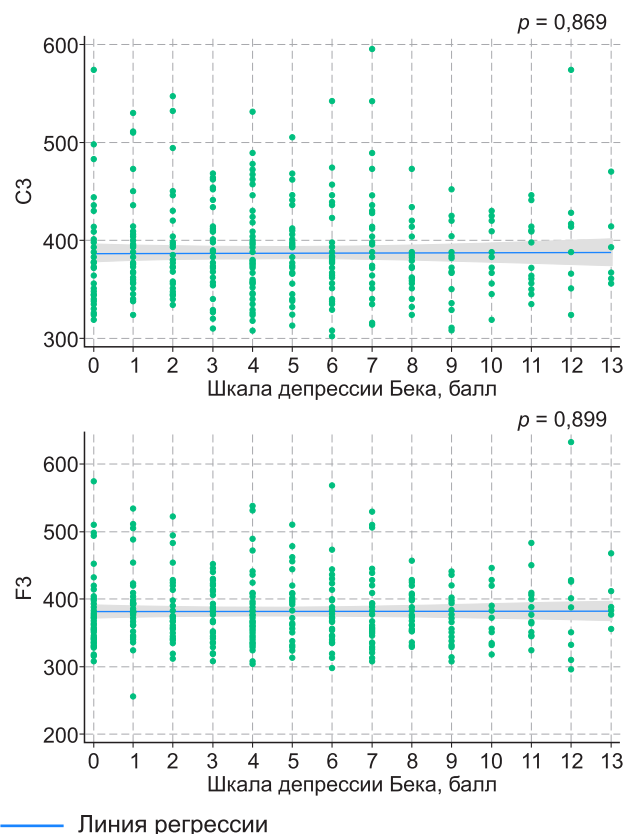


FIG. 3.

Results of multiple regression analysis showing the relationship between P300 evoked potential latency and Beck Depression Inventory scores ranging from 0 to 13 points in individuals with normative values of P300 evoked potential parameters: regression lines and relationships between variables are defined with correction for gender and age

ном отведении ЭЭГ ($M \pm \sigma$). В исследовании, проведенном авторами из Японии у здоровых лиц со средним возрастом 62,7 года, латентность ВП Р300 составляла 377–406 мс [23].

Признавая то, что сравнение полученных данных с данными, представленными в литературе, возможно только условно (различие схем наложения электродов, разные характеристики выборок) [4], можно констатировать в целом соответствие диапазонов латентностей слуховых ВП Р300 в нашем исследовании с литературными данными для лиц 60–69 лет (особенно на уровне P25–P75), но есть более выраженное смещение в сторону удлинения латентности ВП Р300 у группы жителей г. Архангельска в возрасте 70–74 лет.

Несмотря на признание разными авторами наличия удлиненных латентностей ВП Р300 у лиц без выявленных когнитивных нарушений, латентность ВП Р300 около 400 мс рассматривается как рубеж, выше которого риск когнитивных нарушений, снижения объема оперативной памяти статистически значимо возрастает, причём у лиц как с нейродегенеративной, так и с нейрососудистой патологией [2]. Есть данные, по которым латентность ВП Р300 более 400 мс может быть ассоции-

рованной с дисциркуляторной энцефалопатией и признаками деменции по данным нейропсихологического тестирования [24]. Таким образом, можно констатировать, что у пожилых людей г. Архангельска в возрасте 60–69 лет предел условной «средней» нормы (P25–P75) латентности ВП Р300 во всех рассматриваемых отведениях ЭЭГ соответствует 400 мс.

Результаты показали, что возрастные различия амплитуд ВП Р300 в возрастном диапазоне 60–74 лет были минимальными. Согласно расчётам «кривой старения» [6], для возраста до 74 лет норма амплитуды ожидается более 5 мкВ. В нашем исследовании нижний предел средней нормы (P25) представлен немного ниже – на уровне 5 мкВ (4 мкВ), но при P10 он значимо ниже (от 1,4 до 4 мкВ) в зависимости от отведения ЭЭГ. При этом стоит учитывать, что представленные в литературе расчёты регрессионных моделей прогноза амплитуды в зависимости от возраста проводились с учётом большого разброса возрастов (от 18 до 80 лет) и на небольших выборках людей.

Если опираться на работы, посвящённые изучению параметров слуховых ВП Р300 именно у пожилых людей, то связь возраста и амплитуды Р300 не очевидна,

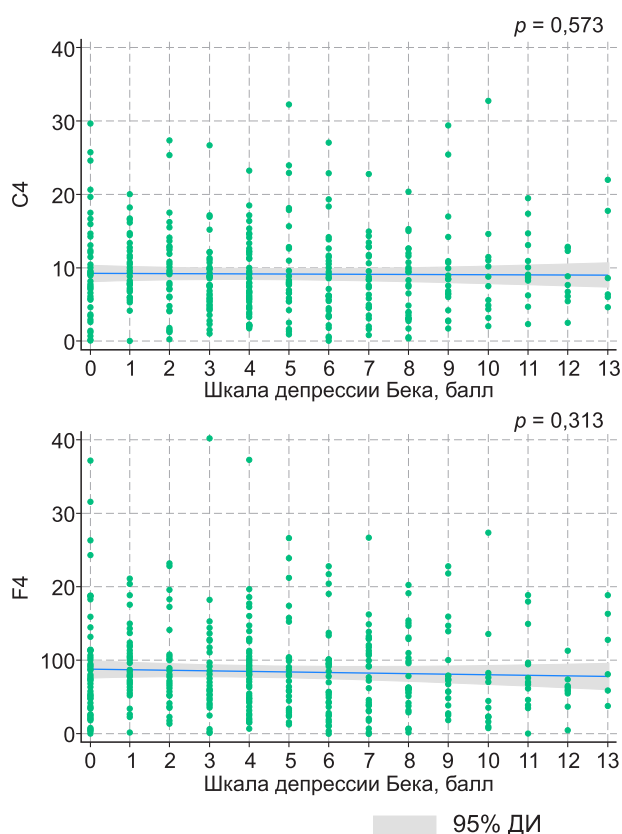


РИС. 4.

Результаты множественного регрессионного анализа, отражающего связи показателей амплитуды ВП Р300 с результатами по шкале депрессии Бека в диапазоне от 0 до 13 баллов у лиц с нормативными значениями параметров ВП Р300: линии регрессии и связи между переменными определены с коррекцией на пол и возраст

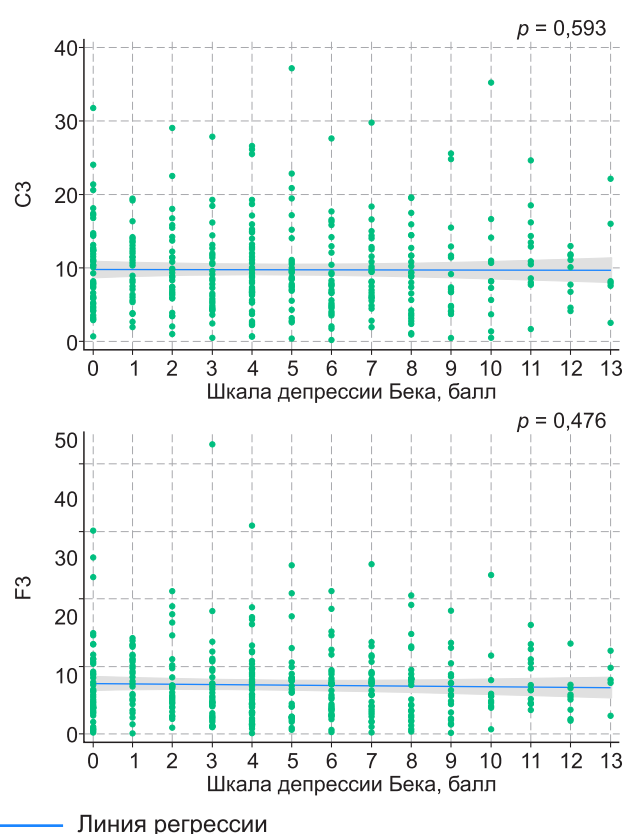


FIG. 4.

Results of multiple regression analysis showing the relationship between P300 evoked potential amplitude and Beck Depression Inventory scores ranging from 0 to 13 points in individuals with normative values of P300 evoked potential parameters: regression lines and relationships between variables are defined with correction for gender and age

как и в нашем исследовании. В представленной ранее работе у здоровых лиц со средним возрастом 75,8 года амплитуда в срединном лобном отведении была $6,5 \pm 5,5$ мкВ, в срединном центральном – $4,0 \pm 2,8$ мкВ ($M \pm \sigma$) [22]. По другим данным, у лиц со средним возрастом 62,7 года амплитуды составляли $5,2 \pm 1,9$ мкВ ($M \pm \sigma$) [25]. Некоторые авторы связывают снижение амплитуд ВП Р300 при старении не с возрастом, а с более низким уровнем образования и половыми различиями [26], что не нашло подтверждения в данных нашего исследования.

Таким образом, средние значения амплитуд ВП Р300, а также их диапазоны не всегда имеют статистически значимую зависимость от возраста у лиц пожилого возраста. В исследовании С.Ф. Кюглер и соавт. [7] также указывалось на незначительное возрастное снижение амплитуд ВП Р300 при старении. По-видимому, изменение восприятия слуховой информации вследствие нарастающего нейросенсорного дефицита при распознавании звуков может обусловить компенсаторную активацию различных корковых зон для сохранения процесса распознавания сенсорной информации, что может внести вклад в расширение диапазона нормы амплитуды

ВП Р300, характерное для здорового старения. Можно констатировать, что в нашем исследовании амплитуда ВП Р300 представлена широким диапазоном значений – как в сторону низких, так и в сторону достаточно высоких амплитуд, особенно на верхних перцентилях (Р75–Р95 – до 18–22 мкВ).

Удлинение латентности ВП Р300 у лиц с сохраненными когнитивными функциями по данным нейропсихологического тестирования можно рассматривать с позиции снижения когнитивного резерва. Понятие когнитивного резерва включает способность головного мозга оптимизировать или максимально увеличивать свою производительность за счёт дифференцированного набора нейрональных связей, позволяющего находить альтернативные когнитивные стратегии при принятии решения [27, 28]. Следовательно, оптимальное время принятия решения при распознавании значимого сенсорного стимула, отражённое в латентности слухового ВП Р300, может отражать процесс эффективной настройки нейрональной сети головного мозга в процессе принятия решения.

На основе опыта предыдущих исследователей и с учётом собственных полученных результатов у лиц

60–69 лет значения латентностей ВП Р300 выше Р75 (у лиц 60–69 лет – более 400 мс, у лиц 70–74 лет – более 443 мс) можно рассматривать с позиции снижения когнитивного резерва и прогностически неблагоприятного критерия риска развития когнитивных нарушений у пожилых людей, проживающих в определенном климатогеографическом регионе (г. Архангельск). Для последующего анализа причин значительной представленности удлинённой латентности ВП Р300 (в перцентиллях, Р75 и выше) необходимы динамические наблюдения, а также более углублённое изучение когнитивных функций, данных нейровизуализации морфофункциональных изменений головного мозга, чтобы дифференцировать группы с «нормальным» старением и «патологическим» старением с риском развития различных патофизиологических вариантов деменции (сосудистого, нейродегенеративного характера) [29].

Также важно дальнейшее изучение роли эндокринно-метаболических факторов, прямо или опосредованно обуславливающих изменение скорости нейрональной активности мозга при принятии решения: например, состояния тиреоидной системы, параметров обмена веществ (углеводного, жирового, белкового). Эти эндокринно-метаболические факторы могут повлиять как на формирование диапазонов нормы параметров ВП Р300, так и на эффективность когнитивных функций у жителей региона Арктической зоны РФ, в первую очередь функции памяти [30].

Исходя из того, что с возрастом значения условной нормы латентности ВП Р300 увеличиваются, сохранение латентности ВП Р300 в пределах возрастной нормы или даже на уровне предыдущего возрастного десятилетия можно рассматривать как электронейрофизиологическое отражение сохранности когнитивного резерва для пожилого человека, основы его когнитивного долголетия.

Амплитуду ВП Р300 ниже значения Р25 также перспективно рассматривать в контексте снижения когнитивного резерва. Однако её минимальные изменения в возрастном аспекте дают основание полагать, что при здоровом старении амплитуда ВП Р300 может не претерпевать значимых изменений. Выраженное снижение амплитуды ВП Р300 при этом будет более ассоциировано не с физиологическими, а с патологическими сосудистыми, метаболическими изменениями функций головного мозга, прежде всего связанными с риском развития нейродегенерации [13].

Ограничение представленного исследования может быть связано с недостаточностью анализа возможных половых различий, возрастных изменений изучаемых показателей с учётом когнитивных нарушений по данным нейропсихологического тестирования, технической сложностью оценки у всех участников популяционного исследования морфофункциональных изменений головного мозга методами нейровизуализации. Такой анализ был бы более корректным при сравнительном анализе с включением более молодых возрастных групп (до 60 лет), что планирует-

ся на следующем этапе исследования. Таким образом, последующее развитие тематики исследования планируется в разрезе анализа роли социально-демографических, поведенческих факторов, когнитивного снижения (по данным расширенного нейропсихологического исследования) и выраженности депрессии, оказывающих наибольшее влияние на возрастные диапазоны значений параметров ВП Р300 у пожилых лиц, а также в сравнении с лицами предыдущей возрастной группы (средний возраст).

Вероятным ограничением исследования также может быть включение в анализируемую группу 84 (21 %) участников, у которых вероятна преастения, и 5 (1,3 %) участников с вероятной старческой астенией, набравших, соответственно, 3–4 и 5–7 баллов по тесту «Возраст не помеха». Согласно требованиям данного опросника, необходимо было проверить когнитивные функции у лиц, имеющих 3 балла и более, с помощью опросника Мини-Ког [14, 15], что не выполнялось. Однако полученные результаты по шкале МоСА, которая более информативна, чем скрининговый тест Мини-Ког [16, 17], продемонстрировали нормальные показатели по данным шкалы МоСА, что послужило основанием считать вероятную преастению и астению у данных лиц обусловленными снижением физических функций, а не наличием когнитивного снижения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые представлены нормативные значения параметров когнитивных слуховых вызванных потенциалов Р300 у жителей Европейского Севера России в возрасте 60–74 лет в коридоре от 5-го до 95-го перцентилля. В группе 60–69 лет диапазон значений латентностей ВП Р300 на уровне «средней» нормы (Р25–Р75) составил 343–401 мс, а в группе 70–74 лет – 359–443 мс. Возрастные различия амплитуд ВП Р300 были минимальными, диапазон в среднем в общей выборке составил 4–13 мкВ (Р25–Р75). Латентность выше 400 мс (60–65 лет) или выше 443 мс (70–74 года) у лиц с сохранением трудоспособности и/или социальных функций и нормальными показателями по шкале МоСА и отсутствием депрессии (по данным шкалы депрессии Бека) предложено рассматривать с позиции снижения когнитивного резерва и прогностически неблагоприятного критерия риска развития когнитивных нарушений у пожилых людей, проживающих на Европейском Севере России.

Финансирование

Исследования проведены при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-15-20017 «Биомаркеры индивидуальной жизнеспособности у жителей Европейского Севера России».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Давидян О.В., Масная М.В., Силутина М.В., Титарева Л.В., Коршун Е.И. Возрастная жизнеспособность при выходе на пенсию. *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики*. 2020; (3): 481-491. [Davidyan OV, Masnaya MV, Silyutina MV, Titareva LV, Korshun EI. Resilience in retired people. *Current Problems of Health Care and Medical Statistics*. 2020; (3): 481-491. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2312-2935-2020-00088
2. Гнездицкий В.В., Корепина О.С., Чацкая А.В., Ключкова О.И. Память, когнитивность и эндогенные вызванные потенциалы: оценка нарушения когнитивных функций и объема оперативной памяти без психологического тестирования. *Успехи физиологических наук*. 2017; 48(1): 3-23. [Gnezditskiy VV, Korepina OS, Chatskaya AV, Klochkova OI. Memory, cognition and the endogenous evoked potentials of the brain: The estimation of the disturbance of cognitive functions and capacity of working memory without the psychological testing. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2017; 48(1): 3-23. (In Russ.)].
3. Helfrich RF, Knight RT. Cognitive neurophysiology: Event-related potentials. *Handb Clin Neurol*. 2019; 160: 543-558. doi: 10.1016/B978-0-444-64032-1.00036-9
4. Pavarini SCI, Brigola AG, Luchesi BM, Souza ÉN, Rossetti ES, Fraga FJ, et al. On the use of the P300 as a tool for cognitive processing assessment in healthy aging: A review. *Dement Neuropsychol*. 2018; 12(1): 1-11. doi: 10.1590/1980-57642018dn12-010001
5. Ljungquist B, Berg S, Steen B. Prediction of survival in 70-year olds. *Arch Gerontol Geriatr*. 1995; 20(3): 295-307. doi: 10.1016/0167-4943(95)00629-y
6. Гнездицкий В.В. *Вызванные потенциалы мозга в клинической практике*. Таганрог: ТГПУ; 1997. [Gnezditskiy VV. *Evoked brain potentials in clinical practice*. Taganrog; 1997. (In Russ.)].
7. Kügler CF, Petter J, Platt D. Age-related dynamics of cognitive brain functions in humans: An electrophysiological approach. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1996; 51(1): B3-B16. doi: 10.1093/gerona/51a.1.b3
8. Попов В.В., Новикова И.А., Трохова М.В., Литвяков А.М., Кудинова А.В. Ранняя диагностика и профилактика возраст-ассоциированных нарушений у лиц пожилого и старческого возраста, проживающих на Европейском Севере России. *Профилактическая медицина*. 2019; 22(3): 73-78. [Popov VV, Novikova IA, Trokhova MV, Litvyakova ML, Kudinova AV. Early diagnosis and prevention of age-related disorders in elderly and senile people living in the European North of Russia. *Russian Journal of Preventive Medicine*. 2019; 22(3): 73-78. (In Russ.)]. doi: 10.17116/profmed20192203173
9. Яхно Н.Н., Преображенская И.С., Захаров В.В., Степкина Д.А., Локшина А.Б., Мхитарян Э.А., и др. Распространенность когнитивных нарушений при неврологических заболеваниях (анализ работы специализированного амбулаторного приема). *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2012; 4(2): 30-34. [Yakhno NN, Preobrazhenskaya IS, Zakharov VV, Stepkina DA, Lokshina AB, Mkhitarayan EA, et al. Prevalence of cognitive impairments in neurological diseases: Analysis of the activities of a specialized outpatient reception office. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2012; 4(2): 30-35. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2012-378
10. Кэрэуш Я.В., Дерябина И.Н., Депутат И.С., Джос Ю.С. Возрастные особенности когнитивных вызванных потенциалов и характеристика поведенческого реагирования у женщин 60–74 лет. *Успехи геронтологии*. 2018; 31(5): 751-759. [Kereush YaV, Deryabina IN, Deputat IS, Dzhos YuS. Characteristic of the behavioral response and cognitive evoked potentials at 60–74 aged women. *Advances in Gerontology*. 2018; 31(5): 751-759. (In Russ.)].
11. Cook S, Malyutina S, Kudryavtsev A, Averina M, Bobrova N, Boytsov S, et al. Know your heart: Rationale, design and conduct of a cross-sectional study of cardiovascular structure, function and risk factors in 4500 men and women aged 35–69 years from two Russian cities, 2015–18. *Wellcome Open Res*. 2018; (3): 67. doi: 10.12688/wellcomeopenres.14619.3
12. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc*. 2005; 53(4): 695-699. doi: 10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x
13. Zgaljardic DJ. Beck Depression Inventory. In: Kreutzer JS, DeLuca J, Caplan B (eds). *Encyclopedia of clinical neuropsychology*. New York: Springer; 2011. doi: 10.1007/978-0-387-79948-3_1973
14. Опросник «Возраст не помеха» для скрининга синдрома старческой астении. *Старческая астения: Клинические рекомендации Общероссийской общественной организации «Российская ассоциация геронтологов и гериатров» (одобрены Минздравом России)*. М.; 2020. [Questionnaire "Age is not a barrier" for screening senile asthenia syndrome. *Senile asthenia: Clinical recommendations of the All-Russian public organization «Russian Association of Gerontologists and Geriatricians» (approved by the Ministry of Health of Russia)*. Moscow; 2020. (In Russ.)]. URL: https://sudact.ru/law/klinicheskie-rekomendatsii-starcheskaia-asteniia-utv-minzdravom-rossii_1/prilozhenie-g/prilozhenie-g1/ [дата доступа: 23.03.2024].
15. Ткачева О.Н., Рунихина Н.К., Остапенко В.С., Шарашкина Н.В., Мхитарян Э.А., Онучина Ю.С., и др. Валидация опросника для скрининга синдрома старческой астении в амбулаторной практике. *Успехи геронтологии*. 2017; 30(2): 236-242. [Tkacheva ON, Runikhina NK, Ostapenko VS, Sharashkina NV, Mkhitarayan EA, Onuchina US, et al. Validation of the questionnaire for screening frailty. *Advances in Gerontology*. 2017; 30(2): 236-242. (In Russ.)].
16. Borson S, Scanlan JM, Chen P, Ganguli M. The Mini-Cog as a screen for dementia: Validation in a population-based sample. *J Am Geriatr Soc*. 2003; 51(10): 1451-1454. doi: 10.1046/j.1532-5415.2003.51465.x
17. Муравецкая М.Н., Зуйкова А.А., Бабкин А.П., Посметьева О.С., Ханина Е.А., Фоменко Ю.Ю. Мини-Ког и Монреальская шкала оценки когнитивных нарушений (MoCA-тест) в ранней диагностике ментальных нарушений у пациентов пожилого и старческого возраста с хроническими неинфекционными заболеваниями (ХНИЗ) на амбулаторно-поликлиническом этапе. *Системный анализ и управление в биомедицинских системах*. 2023; 4(22): 160-166. [Muravitskaya MN, Zuykova AA, Babkin AP, Posmetyeva OS, Khanina EA, Fomenko YuYu. Mini-Cog and Montreal Cognitive Impairment scale (MoCA-test) in the early diagnosis of mental impairment in elderly and senile patients with chronic noninfectious diseases (CNID) at the outpatient stage. *System Analysis and Management in Biomedical Systems*. 2023; 4(22): 160-166. (In Russ.)]. doi: 10.36622/VSTU.2023.22.4.024
18. Mobascher A, Brinkmeyer J, Warbrick T, Wels C, Wagner M, Gründer G, et al. The P300 event-related potential and smoking –

A population-based case-control study. *Int J Psychophysiol.* 2010; 77(2): 166-75. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2010.06.002

19. Hedges D, Bennett DP. Cigarette smoking and P300 amplitude in adults: A systematic review. *Nicotine Tob Res.* 2014; 16(9): 1157-1166. doi: 10.1093/ntr/ntu083

20. Potgurski DS, Ribeiro GE, Silva DPCD. Occurrence of changes in the auditory evoked potentials of smokers: Systematic review of the literature. *Codas.* 2023; 35(4): e20210273. doi: 10.1590/2317-1782/20232021273pt

21. Kügler CF, Taghavi A, Platt D. The event-related P300 potential analysis of cognitive human brain aging: A review. *Gerontology.* 1993; 39(5): 280-303. doi: 10.1159/000213544

22. Lee M-S, Lee S-H, Moon E-O, Moon Y-J, Kim S, Kim S-H, et al. Neuropsychological correlates of the P300 in patients with Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2013; 40: 62-69. doi: 10.1016/j.pnpb.2012.08.009

23. Tokuda H, Kontani M, Kawashima H, Akimoto K, Kusumoto A, Kiso Y, et al. Arachidonic acid-enriched triacylglycerol improves cognitive function in elderly with low serum levels of arachidonic acid. *J Oleo Sci.* 2014; 63(3): 219-27. doi: 10.5650/jos.ess13195

24. Гарин Д.П., Повереннова И.Е. Изменения акустических когнитивных вызванных потенциалов (P300) при хронической ишемии мозга. *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2008; 2(20): 86-90. [Garin DP, Poverennova IE. Acoustic cognitive caused potentials (P300) changes in chronic ischemia of brain. *Saratov Journal of Medical Scientific Research.* 2008; 2(20): 86-90. (In Russ.)].

25. Zhang X, Ni X, Chen P. Study about the effects of different fitness sports on cognitive function and emotion of the aged. *Cell Biochem Biophys.* 2014; 70: 1591-1596. doi: 10.1007/s12013-014-0100-8

26. Pergher V, Tournoy J, Schoenmakers B, Van Hulle MM. P300, gray matter volume and individual characteristics correlates in healthy elderly. *Front Aging Neurosci.* 2019; 3(11): 104. doi: 10.3389/fnagi.2019.00104

27. Stern Y. What is cognitive reserve? Theory and research. Application of the reserve concept. *J Int Neuropsychol Soc.* 2002; 8(3): 448-460.

28. Коберская Н.Н., Табеева Г.Р. Современная концепция когнитивного резерва. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2019; 11(1): 96-10. [Koberskaya NN, Tabeeva GR. The modern concept of cognitive reserve. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2019; 11(1): 96-102. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2019-1-96-102

29. Левин О.С., Чимагомедова А.Ш. Концепция переходного когнитивного синдрома в структуре когнитивных нарушений у пожилых лиц: подходы к диагностике и лечению. *Современная терапия в психиатрии и неврологии.* 2022; 1-2: 25-33. [Levin OS, Chimagomedova ASH. The concept of transitional cognitive syndrome in the structure of cognitive disorders in the elderly: approaches to diagnosis and treatment. *Modern Therapy in Psychiatry and Neurology.* 2022; 1-2: 25-33. (In Russ.)].

30. Poskotinova L, Kontsevaya A, Kudryavtsev A. The association between kidney function biomarkers and delayed memory impairments among older adults in the European North of Russia. *Brain Sci.* 2023; 13(12): 1664. doi: 10.3390/brainsci13121664

Сведения об авторах

Поскотнинова Лилия Владимировна – доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, доцент, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией биоритмологии Института физиологии природных адаптаций, ФГБУН Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН; профессор кафедры семейной медицины и внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: liliya200572@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7537-0837>

Кривонозова Елена Вячеславовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биоритмологии Института физиологии природных адаптаций, ФГБУН Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН; старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: elena200280@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2323-5246>

Кривонозова Ольга Вячеславовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биоритмологии Института физиологии природных адаптаций, ФГБУН Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН; научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ja.olga1@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7267-8836>

Кудрявцев Александр Валерьевич – кандидат медицинских наук, PhD, заведующий международным центром научных компетенций Центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: alex.v.kudryavtsev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8902-8947>

Information about the authors

Liliya V. Poskotinova – Dr. Sc. (Biol.), Cand. Sc. (Med.), Docent, Chief Research Officer, Head of the Laboratory of Biorhythmology, Institute of Environmental Physiology, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Professor at the Department of Family Medicine and Internal Diseases, Northern State Medical University, e-mail: liliya200572@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7537-0837>

Elena V. Krivonogova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Biorhythmology, Institute of Environmental Physiology, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Senior Research Officer at the Central Research Laboratory, Northern State Medical University, e-mail: elena200280@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2323-5246>

Olga V. Krivonogova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Biorhythmology, Institute of Environmental Physiology, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Research Officer at the Central Research Laboratory, Northern State Medical University, e-mail: ja.olga1@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7267-8836>

Alexander V. Kudryavtsev – Cand. Sc. (Med.), PhD, Head of the International Research Competence Centre of the Central Research Laboratory, Northern State Medical University, e-mail: alex.v.kudryavtsev@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8902-8947>

ПРЕДИКТОРЫ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЯ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ ЧЕРЕЗ 6 МЕСЯЦЕВ ПОСЛЕ КАРОТИДНОЙ ЭНДАРТЕРАКТОМИИ

Калинин Р.Е.,
Пшенников А.С.,
Сучков И.А.,
Зорин Р.А.,
Соляник Н.А.,
Буршинов А.О.,
Леонов Г.А.,
Жаднов В.А.,
Афенов М.Р.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный
медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»
Минздрава России (390026, г. Рязань,
ул. Высоковольтная, 9, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Соляник Никита Андреевич,
e-mail: solianik.nikita@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Атеросклеротическое поражение сонных артерий является одной из актуальных проблем в связи с высоким риском развития ишемического инсульта и когнитивных нарушений. Динамика клинических нарушений у пациентов с каротидными стенозами определяется комплексом нейрофизиологических, ангиологических, тканевых и молекулярно-биологических реакций, характеристики которых могут выступать в роли предикторов течения патологии.

Цель работы. Определение нейрофизиологических параметров и предикторов когнитивной дисфункции у пациентов, перенёсших каротидную эндартерэктомию.

Материалы и методы. В исследование было включено 59 человек с атеросклеротическим поражением сонных артерий. Все включённые пациенты подвергались каротидной эндартерэктомии. У пациентов в различные сроки (до операции, через 6 месяцев после вмешательства) производилась оценка степени стеноза внутренней сонной артерии, регистрация электроэнцефалограммы (ЭЭГ), когнитивных вызванных потенциалов P300, вариабельности сердечного ритма, а также оценка когнитивного статуса по шкалам FAB (Frontal Assessment Battery), MoCA (Montreal Cognitive Assessment) Test. Пациенты были разделены на группы на основе динамики когнитивных тестов методом кластерного анализа (k-средних) с идентификацией элементов, входящих в кластеры: кластер 1 – с «сохранным» профилем когнитивного статуса; кластер 2 – с умеренными когнитивными нарушениями.

Результаты. В кластере 1 определяется более высокая мощность бета-колебаний в лобных отведениях, амплитуда компонента P3 потенциала P300, а также большая вариабельность R-R интервалов по суммарному показателю и высокочастотной мощности. Нами была предложена модель, позволяющая классифицировать пациентов в группы по динамике балльной оценки когнитивных функций. Согласно полученным данным, наиболее значимыми предикторами динамики когнитивного статуса являлись исходные характеристики ЭЭГ и когнитивного вызванного потенциала P300.

Выводы. Выявлены клиничко-нейрофизиологические корреляты когнитивной дисфункции: ассоциация с большей сохранностью активирующих влияний на ЭЭГ, процессов опознания и принятия решения в ассоциативных зонах коры, меньшей выраженностью активности стресс-реализующих механизмов. Показатели спектрального анализа ЭЭГ и характеристики когнитивного вызванного потенциала P300 являются предикторами динамики когнитивного статуса.

Ключевые слова: атеросклероз сонных артерий, когнитивный потенциал P300, каротидная эндартерэктомия, когнитивные функции, искусственные нейронные сети, кластерный анализ

Для цитирования: Калинин Р.Е., Пшенников А.С., Сучков И.А., Зорин Р.А., Соляник Н.А., Буршинов А.О., Леонов Г.А., Жаднов В.А., Афенов М.Р. Предикторы динамики изменения когнитивных функций у пациентов через 6 месяцев после каротидной эндартерэктомии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 144-152. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.14

Статья поступила: 04.06.2023

Статья принята: 23.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

PREDICTORS OF THE DYNAMICS OF CHANGES IN COGNITIVE FUNCTIONS IN PATIENTS 6 MONTHS AFTER CAROTID ENDARTERECTOMY

Kalinin R.E.,
Pshennikov A.S.,
Suchkov I.A.,
Zorin R.A.,
Solyanik N.A.,
Burshinov A.O.,
Leonov G.A.,
Zhadnov V.A.,
Afenov M.R.

Ryazan State Medical University
(Vysokovoltynaya str. 9, Ryazan 390026,
Russian Federation)

Corresponding author:
Nikita A. Solianik,
e-mail: solianik.nikita@gmail.com

ABSTRACT

Background. Carotid atherosclerosis is one of the urgent problems due to the high risk of developing ischemic stroke and cognitive impairment. The dynamics of clinical disorders in patients with carotid stenosis is determined by a complex of neurophysiological, angiological, tissue and biomolecular reactions, the characteristics of which can act as predictors of the course of the pathology.

The aim of the work. To determine the neurophysiological parameters and predictors of cognitive dysfunction in patients who underwent carotid endarterectomy.

Materials and methods. The study included 59 people with carotid atherosclerotic disease. All included patients underwent carotid endarterectomy. We assessed the degree of stenosis of the internal carotid artery and cognitive status using the FAB (Frontal Assessment Battery) scale and MoCA (Montreal Cognitive Assessment) Test and recorded electroencephalogram (EEG), P300 cognitive evoked potentials and heart rate variability in patients at various terms (before surgery, 6 months after the surgery). Patients were divided into groups based on the dynamics of cognitive tests using cluster analysis (k-means) with identification of elements included in the clusters: patients of cluster 1 had a "preserved" profile of cognitive status; patients of cluster 2 – moderate cognitive dysfunction.

Results. Patients of cluster 1 had a higher power of beta oscillations in the frontal lead, a higher amplitude of the P3 component of the P300 potential, and a greater variability of R-R intervals in terms of the total indicator and high-frequency power. We proposed a model that allows us to classify patients into groups according to the dynamics of cognitive function scores. According to the data obtained, the most significant predictors of the dynamics of cognitive status were the initial characteristics of the EEG and the P300 cognitive evoked potential.

Conclusions. We determined the clinical and neurophysiological correlates of cognitive dysfunction: an association with greater preservation of activating effects on the EEG, processes of recognition and decision-making in the associative zones of the cortex, and less pronounced activity of stress-implementing mechanisms. Indicators of EEG spectral analysis and characteristics of the P300 cognitive evoked potential are predictors of the cognitive status dynamics.

Key words: carotid atherosclerosis, P300 cognitive potential, carotid endarterectomy, cognitive functions, artificial neural networks, cluster analysis

For citation: Kalinin R.E., Pshennikov A.S., Suchkov I.A., Zorin R.A., Solyanik N.A., Burshinov A.O., Leonov G.A., Zhadnov V.A., Afenov M.R. Predictors of the dynamics of changes in cognitive functions in patients 6 months after carotid endarterectomy. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 144-152. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.14

Received: 04.06.2023
Accepted: 23.05.2024
Published: 15.07.2024

ВВЕДЕНИЕ

Атеросклеротическое поражение сонных артерий является одной из актуальных проблем как неврологии, так и сосудистой хирургии в связи с высоким риском развития ишемического инсульта и когнитивных нарушений у асимптомных пациентов [1–3].

Динамика клинических нарушений у пациентов с каротидными стенозами определяется комплексом нейрофизиологических, ангиологических, тканевых и молекулярно-биологических патологических и компенсаторно-приспособительных реакций, характеристики которых выступают в роли предикторов течения цереброваскулярной патологии [4–6].

Важной клинической характеристикой пациентов с гемодинамически значимыми стенозами сонных артерий являются когнитивные нарушения [7, 8], ассоциированные с перфузионными ограничениями головного мозга, вторичными изменениями трофики ассоциативных корковых зон [9, 10].

Одним из объективных коррелятов когнитивных нарушений являются эндогенные вызванные потенциалы (потенциалы, связанные с событиями) – Р300, отражающие психофизиологические процессы опознания стимула и принятия решения в отношении него [11]. Также имеются данные о связи нейродинамических когнитивных нарушений с деятельностью эрготропных и трофотропных механизмов вегетативного обеспечения поведения [12]. Ультразвуковые и клиничко-лабораторные характеристики у данной группы пациентов в равной степени могут быть рассмотрены как переменные, влияющие на когнитивный статус [13, 14].

В связи с этим актуальным вопросом является исследование роли данных показателей в качестве коррелятов динамики когнитивного статуса у пациентов с каротидными стенозами.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение нейрофизиологических параметров и предикторов когнитивной дисфункции у пациентов, перенёсших каротидную эндалтерэктомию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 59 больных в период с 2021 по 2022 г. Пациентов, включённых в исследование, объединяли как «симптомных» (группа 1; $n = 33$), имевших острые нарушения кровообращения головного мозга в анамнезе, и как «асимптомных» (группа 2; $n = 26$), не имевших острых нарушений кровообращения головного мозга в анамнезе, по данным магнитно-резонансной томографии головного мозга. Всем включённым пациентам проводилась каротидная эндалтерэктомия согласно клиническим рекомендациям [15]. Методика операции (классическая или эверсионная) выбиралась исходя из предпочтений оперирующего хирурга, протяжённости атеросклеротической бляшки на внутреннюю и общую сонные артерии, а также уровня расположения каротидной бифуркации. При проведении классической методики использовалась заплатка из дакрона. По типу операции группы были сопоставимы. Все оперативные вмешательства были выполнены с помощью тотальной комбинированной анестезии. Искусственную вентиляцию лёгких проводили дыхательным аппаратом Dräger Primus (Dräger, Германия) в режиме IPPV в условиях нормовентиляции ($\text{PaCO}_2 = 35\text{--}45$ мм рт. ст.) с контролем параметров вентиляции. Общие данные больных представлены в таблице 1; обе группы пациентов были сопоставимы по возрасту и наличию сопутствующей патологии, а также по методике вмешательства.

ТАБЛИЦА 1
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

Показатели	Группа 1 ($n = 33$)	Группа 2 ($n = 26$)	p
Возраст (лет)	$66,7 \pm 8,2$	$68,2 \pm 7,1$	–
Пол	мужчины – 21 (63,6 %) женщины – 12 (36,4 %)	мужчины – 17 (65,3 %) женщины – 9 (34,7 %)	–
Сторона поражения ВСА	слева – 19 справа – 14	слева – 17 справа – 9	0,288 0,234
Гипертоническая болезнь	30 (90,9 %)	23 (88,4 %)	0,424
Ишемическая болезнь сердца	10 (30,3 %)	12 (46,1 %)	0,123
Постинфарктный кардиосклероз	3 (9 %)	4 (15,3 %)	0,302
Сахарный диабет 2-го типа	8 (24,2 %)	4 (15,3 %)	0,155
Методика выполнения КЭАЭ	классическая – 15 (45,4 %) эверсионная – 18 (54,6 %)	классическая – 12 (46,1 %) эверсионная – 14 (53,9 %)	0,519 0,457
Временное внутримышечное шунтирование	7 (21,2 %)	5 (19,2 %)	0,378
Время пережатия ВСА интраоперационно (с)	1567 [1390; 1780]	1597 [1335; 1723]	0,759

Примечание. ВСА – внутренняя сонная артерия; КЭАЭ – каротидная эндалтерэктомия.

TABLE 1
GENERAL CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS

Критериями включения являлись наличие у пациентов: стеноза внутренней сонной артерии по данным экспертного ультразвукового исследования брахиоцефальных артерий (УЗИ БЦА) 70–99 % по NASCET (North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial) при отсутствии эпизодов перенесенной транзиторной ишемической атаки (ТИА) или острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК); стеноза внутренней сонной артерии по данным экспертного УЗИ БЦА от 50 до 60 % по NASCET с учетом морфологической нестабильности атеросклеротической бляшки (изъязвление, кровоизлияние в бляшку, флотация интимы, пристеночный тромб) с учётом неврологической симптоматики – ТИА или инсульт; стеноза внутренней сонной артерии по данным экспертного УЗИ БЦА более 60 % по NASCET при наличии эпизодов перенесенной ТИА или ОНМК [16]. Пациенты с контралатеральным стенозом внутренней сонной не включались в исследование. Критериями невключения являлись: контралатеральный стеноз внутренней сонной артерии; нарушение слуха, препятствующее проведению тестирования; отказ пациента от участия в исследовании; системное заболевание (заболевание почек, печени, желудочно-кишечное, гематологическое, иммунологическое заболевание и т. д.); дегенеративные заболевания нервной системы (болезнь Альцгеймера, хорей Гентингтона, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз, лобно-височная дегенерация).

Критериями исключения в период наблюдения были: смерть; любые сердечно-сосудистые события; отказ от дальнейшего проведения исследования.

Пациенты получали стандартную дезагрегантную (монотерапия аспирином 100 мг либо в сочетании с клопидогрелом 75 мг) и гиполипидемическую (ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермент А редуктазы в дозе, согласно уровню липопротеинов низкой плотности) терапию, не принимали препараты, влияющие на когнитивные функции (центральные ингибиторы ацетилхолинэстеразы или акатинола мемантин и т. д.).

У пациентов в различные сроки (до операции (за 1–5 дней до вмешательства) – визит 1; через 6 месяцев после вмешательства – визит 2) производилась оценка степени стеноза внутренней сонной артерии по данным УЗИ; в некоторых случаях в качестве метода подтверждения использовалась компьютерная томография с ангиографией и/или цифровая субтракционная ангиография. Осуществлялась регистрация электроэнцефалограммы (ЭЭГ), когнитивных вызванных потенциалов (Р300), вариабельности сердечного ритма (BCRP), а также оценка когнитивного статуса по шкале «Батарея лобной дисфункции» (FAB, Frontal Assessment Battery) и Монреальской шкале оценки когнитивных функций (MoCA Test, Monreal Cognitive Assessment).

Ультразвуковое исследование выполняли на аппарате GE Vivid S5 (GE HealthCare, США) линейным датчиком с частотой 12 МГц; магнитно-резонансную томографию – на аппарате MAGNETOM Symphony 1,5 Тесла (Siemens, Германия).

Регистрация ЭЭГ проводилась при помощи 19-канального цифрового электроэнцефалографа «Нейро-спектр-3» и соответствующего программного обеспечения «Нейрон-спектр» (ООО «Нейрософт», Россия) [17]. Монтаж электродов проводился по схеме «10–20 %» (Fp1, Fp2, F7, F3, F4, F8, T3, C3, C4, T4, T5, P3, P4, T6, O1, O2, Fz, Cz, Pz) с референтными электродами на ушах A1 и A2. Частота квантования аналогового-цифрового преобразователя составляла 200 Гц, фильтр высоких частот (постоянная времени) – 0,5 Гц (0,32 с), фильтр низких частот – 75 Гц. Средняя эпоха анализа составила 20,48 с (4096 отсчетов). Регистрация ЭЭГ проводилась в фоновом состоянии. Перед проведением математического анализа ЭЭГ проводилось выделение и исключение из анализа артефактов, а также выделение эпилептиформной активности как визуально, так и путём программной детекции спайков и острых волн. Для анализа использовались фрагменты записи без артефактов. Анализ ЭЭГ проводился методами спектрального анализа на основании быстрого преобразования Фурье с выделением следующих частотных диапазонов: дельта (0,5–3,9 Гц), тета (4,0–7,9 Гц), альфа (8–13 Гц), бета-1 (14–19,9 Гц), бета-2 (20–35 Гц), гамма (36–100 Гц). При спектральном анализе исследовались следующие показатели: полная мощность; средняя мощность; средняя амплитуда и средняя частота альфа-колебаний, бета1- и бета2-колебаний, тета- и дельта-колебаний. Регистрация когнитивного вызванного потенциала Р300 проводилась для оценки деятельности сенсорных систем. Исследование слуховых вызванных потенциалов (ВП) проводилось путём регистрации длиннолатентных слуховых ВП, отражающих в большей степени функцию таламокортикального отдела слухового анализатора. Для стимуляции при помощи наушников бинаурально использовались щелчки длительностью 50 мс, наполнением 1000 Гц, частотой 1–1,5 Гц со случайным компонентом (для исключения феномена привыкания на периодичность); усиление составило 5–20 мкВ/мм, эпоха анализа – 500 мс, число суммации (усреднений) – 100. Когнитивный вызванный потенциал Р300 регистрировали в парадигме odd-ball при предъявлении звуковых стимулов и активной реакции пациента на значимый (девиантный) стимул (нажатие кнопки) при помощи программно-аппаратного комплекса «Нейрон-Спектр.ДВП» (ООО «Нейрософт», Россия) [17]. Регистрация электрокардиограммы (ЭКГ) проводилась при помощи прибора «ВНС-Микро» и программы «Поли-спектр.NET» (ООО «Нейрософт», Россия). Оценку механизмов вегетативной регуляции проводили методом регистрации и анализа вариабельности сердечного ритма при помощи программно-аппаратного комплекса «Поли-Спектр.NET» (ООО «Нейрософт», Россия) [18]. Оценку проводили в положении сидя в 1-м стандартном отведении ЭКГ; далее были проведены статистический и спектральный анализы динамических рядов интервалов R-R.

Статистическая обработка данных осуществлялась при помощи пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Описательная статистика включала медиану (Me), нижний и верхний квартили (LQ; UQ). Сравнение количественных данных осуществлялось при помощи статистического критерия Манна – Уитни (U; представлен

нормированный показатель – Z); для качественных данных применились таблицы сопряжения 2 × 2, критерий хи-квадрат. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$. Для выделения подгрупп пациентов использовался метод кластерного анализа (k-средних) с идентификацией элементов, входящих в кластеры. Задача классификации пациентов на группы с известными клиническими характеристиками решалась на основе технологии машинного обучения (искусственных нейронных сетей) с использованием в качестве входных параметров изучаемых нейрофизиологических параметров. Производительность искусственной нейронной сети оценивалась на обучающей, контрольной, тестовой выборке. Применялся программный пакет Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США).

Всеми пациентами было подписано информированное согласие; исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России (протокол № 3 от 11.10.2021).

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

Для решения задачи выделения предикторов динамики когнитивного статуса пациентов нами была реали-

зована формализованная процедура определения однородных групп пациентов на основе динамики когнитивных тестов методом кластерного анализа (кластеризация методом k-средних).

В таблице 2 отражены результаты кластерного анализа на основе изменений показателей FAB, MoCA Test на визите 1 (до операции) и через 6 месяцев после операции.

Как следует из таблицы 2, в кластере 1 определяется более сохранный когнитивный статус по сравнению с кластером 2 по выделенным показателям, в связи с чем кластер 1 обозначен как группа с сохранным профилем когнитивного статуса, кластер 2 – как группа с умеренными когнитивными нарушениями (по показателю MoCA Test).

Принципиально важным фактом является отсутствие статистически значимых различий по наличию фактора перенесённого ишемического инсульта в анамнезе в группах (в кластере 1: 55 % с перенесённым инсультом, 45 % без перенесённого инсульта; в кластере 2 – 52 % и 48 % соответственно; $\chi^2 = 0,06$; $p = 0,83$).

В таблице 3 представлены нейрофизиологические показатели в кластерах.

Определяется статистически значимо более высокая мощность бета-колебаний в лобных отведениях в кластере 1; а также более высокая амплитуда компонента P300 потенциала P300 в данном кластере. При исследовании ва-

ТАБЛИЦА 2
ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ

Показатели	Кластер 1 (n = 33)	Кластер 2 (n = 26)	Статистические показатели	
	Me (LQ; UQ)	Me (LQ; UQ)	U (Z)	p
FAB, визит 1	17 (17; 18)	16 (14; 16)	70 (3,6)	0,001
FAB, визит 2	18 (17; 18)	16 (16; 17)	62 (3,8)	0,001
MoCA Test, визит 1	26 (25; 28)	23 (22; 24)	43 (4,3)	0,001
MoCA test, визит 2	27 (26; 29)	25 (24; 26)	33 (4,6)	0,001

TABLE 2
DYNAMICS OF INDICES OF COGNITIVE FUNCTIONS

ТАБЛИЦА 3
НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ВЫДЕЛЕННЫХ КЛАСТЕРАХ

Показатели	Кластер 1	Кластер 2	Статистические показатели	
	Me (LQ; UQ)	Me (LQ; UQ)	U (Z)	p
Мощность бета-колебаний ЭЭГ в отведении F3, мкВ × мс	5 (4; 6)	4 (3; 5)	48 (2,01)	0,048
Амплитуда потенциала P300 в отведении P3 после операции, мкВ	6,9 (2,9; 7,4)	2,8 (0,9; 6,4)	14,5 (2,25)	0,024
Амплитуда потенциала P300 в отведении Cz после операции, мкВ	6,4 (5,8; 8,0)	2,4 (0,8; 5,4)	9 (2,73)	0,007
СКО ВСР, мс	29 (16; 44)	17 (10; 25)	45 (2,12)	0,034
ВЧ ВСР, мс	177 (36; 328)	26 (17; 120)	48 (1,9)	0,047

Примечание. СКО ВСР – вариативность R-R интервалов по суммарному показателю, ВЧ ВСР – высокочастотная мощность.

риабельности сердечного ритма в кластере 1 выявляет-ся большая вариабельность R-R интервалов по суммар-ному показателю и высокочастотная мощность.

В таблице 4 представлены корреляции нейрофизио-логических показателей и уровня балльной оценки ког-нитивных функций в кластерах.

Как следует из таблицы, определяются статистически значимые корреляции между амплитудой потенциала P300 и уровнем балльной оценки когнитивных функций на визи-те 1 (для групп 1 и 2) и на визите 2 (через 6 месяцев).

Нами была предложена модель, основанная на техно-логии искусственных нейронных сетей (ИНС), позволяю-щая классифицировать пациентов в группы по динамике балльной оценки когнитивных функций на основе выше-описанных нейрофизиологических показателей. Модель с оптимальными характеристиками представляла собой многослойный персептрон с 29 входными нейронами, 7 нейронами промежуточного слоя и 2 выходными ней-ронами (MLP 29-7-2). Модель продемонстрировала 100%-ю производительность обучения, 78%-ю производитель-ность тестовой выборки (алгоритм обучения BFGS 7).

В тестовой выборке меньшее количество верных реш-ений было выявлено в кластере 2 (70 % верных отве-тов; в кластере 1 – 100 %); то есть более сложной зада-

чей была классификация испытуемых в кластер 2. Пло-щадь под ROC-кривой составила 0,950 (хорошее каче-ство модели) (рис. 1).

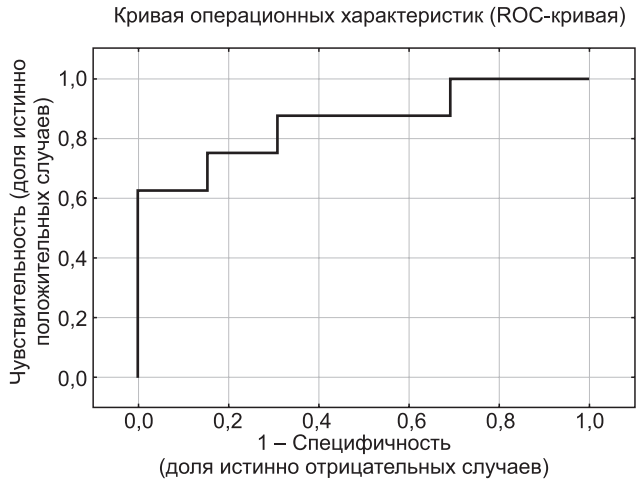


РИС. 1.
ROC-кривая модели классификации в указанные кластеры
FIG. 1.
ROC curve of the classification model into the studied clusters

ТАБЛИЦА 4
КОРРЕЛЯЦИИ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ В КЛАСТЕРАХ

Группы показателей	Кластер 1		Кластер 2	
	корреляция	<i>p</i>	корреляция	<i>p</i>
FAB (визит 1), амплитуда P200 КВП в отведении Fz	0,494	0,044	–	–
MoCA Test (визит 1), амплитуда P300 КВП в отведении Cz	–	–	0,632	0,029
MoCA Test (визит 2), амплитуда P300 КВП в отведении Cz	–	–	0,539	0,039

Примечание. КВП – когнитивный вызванный потенциал.

ТАБЛИЦА 5
РАНЖИРОВАННЫЕ В ПОРЯДКЕ УБЫВАНИЯ
НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ,
ИСПОЛЗУЕМЫЕ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧИ
КЛАССИФИКАЦИИ

Группы показателей	Характеристики	
	Ранг*	Чувствительность
Мощность альфа-колебаний ЭЭГ в отведении О1, мкВ × мс	1	3,0
НЧ ВСР	2	2,5
Амплитуда P2N2 P300 в отведении Fz	3	2,5
Латентность P3 P300 в отведении Fz	4	2,0
Частота бета-колебаний ЭЭГ в отведении F3	5	2,0
Мощность альфа-колебаний ЭЭГ в отведении О2, мкВ × мс	6	2,0
Частота тета-колебаний ЭЭГ в отведении F3, кол/с	7	2,0

Примечание. * – представлены первые 7 показателей с наибольшим уровнем чувствительности; НЧ ВСР – высокочастотная мощность.

В таблице 5 представлены ранжированные (в порядке убывания значимости) нейрофизиологические показатели, используемые для решения задачи классификации.

Как следует из таблицы 5, наиболее значимыми предикторами динамики когнитивного статуса у пациентов, перенесших каротидную эндартерэктомию, являлись характеристики ЭЭГ и когнитивного вызванного потенциала P300.

ОБСУЖДЕНИЕ

Отсутствие статистически значимых нейрофизиологических различий по фактору перенесённого инсульта у пациентов с каротидным стенозом указывает на необходимость поиска других предикторов динамики когнитивного статуса, что соответствует данным литературы [19, 20]. В данном сообщении представлены преимущественно нейрофизиологические корреляты и предикторы динамики когнитивных функций; в то же время несомненна роль факторов, ассоциированных с клиническим статусом [19], молекулярно-биологическими и нейромедиаторными механизмами [21, 22].

Выявлено, что сохраненный когнитивный статус (класс 1) ассоциирован с косвенными признаками большей активации головного мозга (по данным бета1-колебаний ЭЭГ), большей амплитудой когнитивного вызванного потенциала P300, а также с меньшей выраженностью симпатических влияний (меньшей активностью стресс-реализующих систем). При этом статистически значимыми коррелятами более высокой балльной оценки когнитивных функций первого визита и визита после операции являлись показатели, отражающие сохранность механизмов опознания стимула и принятия решения в отношении него, что также соответствует данным литературы [11].

Технологии машинного обучения широко применяются в решении задач как клинической неврологии, так и клинической ангиологии [23]. Применение нейрофизиологических показателей в качестве предикторов позволило создать модель классификации испытуемых в группы на основе технологии ИНС. Модель являлась более чувствительной к выделению группы с менее выраженными когнитивными нарушениями. Наиболее значимыми предикторами динамики когнитивного статуса оказались характеристики спектрального анализа ЭЭГ и показатели когнитивного вызванного потенциала P300.

ВЫВОДЫ

У пациентов с атеросклеротическим поражением сонных артерий, которым проводилась каротидная эндартерэктомию, выявлено наличие клинко-нейрофизиологических коррелятов: ассоциация сохраненных когнитивных функций с более выраженной активацией корковых структур, деятельностью ассоциативных зон коры, меньшей выраженностью активности стресс-реализующих механизмов. Показатели спектрального анализа ЭЭГ и характеристики когнитивного вызванно-

го потенциала P300 при опознании и принятии решения по отношению к сенсорному стимулу могут быть использованы в качестве дополнительных предикторов динамики когнитивного статуса у пациентов с каротидным стенозом при применении технологий машинного обучения. При этом фактор перенесённого инсульта не оказывает статистически значимого влияния на когнитивный статус пациентов.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках Гранта Президента РФ № МД-922.2022.3.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chang RW, Tucker LY, Rothenberg KA, Lancaster E, Faruqi RM, Kuang HC, et al. Incidence of ischemic stroke in patients with asymptomatic severe carotid stenosis without surgical intervention. *JAMA*. 2022; 327(20): 1974-1982. doi: 10.1001/jama.2022.4835
2. Кавешников В.С., Серебрякова В.Н., Трубочева И.А., Шальнова С.А. Выраженность каротидного атеросклероза у взрослого неорганизованного населения. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2019; 15(1): 84-89. [Kaveshnikov VS, Serebryakova VN, Trubacheva IA, Shalnova SA. Carotid atherosclerosis severity in unorganized adult population. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2019; 15(1): 84-89. (In Russ.)]. doi: 10.20996/1819-6446-2019-15-1-84-89
3. Казанцев А.Н., Черных К.П., Заркуа Н.Э., Абдуллаев А.Д., Повторейко А.В., Багдавадзе Г.Ш., и др. Эверсионная каротидная эндартерэктомию с транспозицией внутренней сонной артерии по А.Н. Казанцеву. Госпитальные и отдаленные результаты. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2021; 29(1): 73-88. [Kazantsev AN, Chernykh KP, Zarkua NE, Abdullaev AD, Povtoreiko AV, Bagdavadze GS, et al. Eversion carotid endarterectomy with transposition of the internal carotid artery according to A.N. Kazantsev. Hospital and long-term results. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2021; 29(1): 73-88. (In Russ.)]. doi: 10.23888/PAVLOVJ202129173-88
4. Пышкина Л.И., Абиева А.Р., Ясаманова А.Н., Дарвиш Н.А., Камчатнов П.Р., Кабанов А.А., и др. Течение цереброваскулярной патологии у больных со стенозирующим поражением сонных артерий. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2018; 118: 8-13. [Pyshkina LI, Abieva AR, Isamanova AN, Darvish NA, Kamchatnov PR, Kabanov AA, et al. Dynamic of cerebrovascular disorders in patients with carotid stenosis. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2018; 118(9-2): 8-13. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro20181180928
5. Матюшкин А.В., Мустафин А.Х. Результаты каротидной эндартерэктомии в лечении пациентов, перенесших ишемический инсульт. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2021; 3: 50-56. [Matyushkin AV, Mustafin AKh. Results of carotid endarterectomy in patients after previous stroke. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2021; (3): 50-56. (In Russ.)]. doi: 10.17116/hirurgia202103150

6. Meershoek AJA, de Waard DD, Trappenburg J, Zeebregts CJ, Bulbulia R, Kappelle LJ, et al.; Delphi consensus experts panel. Clinical response to procedural stroke following carotid endarterectomy: A Delphi Consensus Study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2021; 62(3): 350-357. doi: 10.1016/j.ejvs.2021.05.033
7. Хасанова Д.Р., Житкова Ю.В., Гаспарян А.А. Значение атеросклеротического стенозирующего поражения брахиофациальных артерий в формировании когнитивных нарушений. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* 2015; 7(1): 43-48. [Khasanova DR, Zhitkova YV, Gasparyan AA. Importance of atherosclerotic stenotic lesion of the brachiocephalic arteries in the development of cognitive impairments. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2015; 7(1): 43-48. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2015-1-43-48
8. Sridharan ND, Asaadi S, Thirumala PD, Avgerinos ED. A systematic review of cognitive function after carotid endarterectomy in asymptomatic patients. *J Vasc Surg.* 2022; 75(6): 2074-2085. doi: 10.1016/j.jvs.2021.12.059
9. Ge Y, Li Q, Nie Y, Gao J, Luo K, Fang X, et al. Dexmedetomidine improves cognition after carotid endarterectomy by inhibiting cerebral inflammation and enhancing brain-derived neurotrophic factor expression. *J Int Med Res.* 2019; 47(6): 2471-2482. doi: 10.1177/0300060519843738
10. Иванова Л.Г., Мкртчян В.Р., Хайкин В.Д., Гудкова А.А. Кудухова К.И., Дружкова Т.А. Роль нейротрофического фактора мозга (BDNF) в развитии когнитивных нарушений сосудистого генеза. *Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии.* 2020; 12: 67-78. [Ivanova LG, Mkrtchyan VR, Khaikin VD, Gudkova AA, Kudukhova KI, Druzhkova TA. The role of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the development of vascular cognitive impairment. *Bulletin of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery.* 2020; 12: 67-78. (In Russ.)]. doi: 10.33920/med-01-2012-07
11. Nahas NE, Zaki A, Zakaria M, Naser AAE, Bassiony AE, Abdeldayem E, et al. Cognitive impairment in asymptomatic cerebral arterial stenosis: A P300 study. *Neurol Sci.* 2023; 44(2): 601-609. doi: 10.1007/s10072-022-06442-9
12. Sridharan ND, Asaadi S, Thirumala PD, Avgerinos ED. A systematic review of cognitive function after carotid endarterectomy in asymptomatic patients. *J Vasc Surg.* 2022; 75(6): 2074-2085. doi: 10.1016/j.jvs.2021.12.059
13. Whooley JL, David BC, Woo HN, Hoh BL, Raftery KB, Hussain Siddiqui A, et al. Carotid Revascularization and its effect on cognitive function: A prospective nonrandomized multicenter clinical study. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2020; 29(5): 104702. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104702
14. Nakamizo A, Amano T, Matsuo S, Kuwashiro T, Yasaka M, Okada Y. Common carotid flow velocity is associated with cognitive function after carotid endarterectomy. *J Clin Neurosci.* 2020; 76: 53-57. doi: 10.1016/j.jocn.2020.04.050
15. Абугов С.А., Алесян Б.Г., Аракелян В.С., Белов Ю.В., Белоярцев Д.Ф., Вачев А.Н., и др. *Закупорка и стеноз сонной артерии: клинические рекомендации.* М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2016. [Abugov SA, Alekseyan BG, Arakelyan VS, Belov YuV, Beloyartsev DF, Vachev AN, et al. *Blockage and stenosis of the carotid artery: Clinical recommendations.* Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2016. (In Russ.)].
16. Ferguson GG, Eliasziw M, Barr HW, Clagett GP, Barnes RW, Wallace MC, et al. The North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial: Surgical results in 1415 patients. *Stroke.* 1999; 30(9): 1751-1758. doi: 10.1161/01.str.30.9.1751
17. Сысоев Ю.И., Приходько В.А., Титович И.А., Карев В.Е., Оковитый С.В. Изменения соматосенсорных вызванных потенциалов у крыс, перенёсших обратимую церебральную ишемию. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(4): 190-200. [Sysoev Yul, Prikhodko VA, Titovich IA, Karev VE, Okovityy SV. Changes in somatosensory evoked potentials in rats following transient cerebral ischemia. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(4): 190-200. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.4.22
18. Мухаметов Б.Г. Обзор и анализ программного обеспечения для расшифровки ЭКГ. *Наука, техника и образование.* 2017; 6(36): 70-71. [Mukhametov BG. Review and analysis of ECG decoding software. *Science, Technology and Education.* 2017; 6(36): 70-71. (In Russ.)].
19. Aceto P, Lai C, De Crescenzo F, Crea MA, Di Franco V, Pellicano GR, et al. Cognitive decline after carotid endarterectomy: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Anaesthesiol.* 2020; 37(11): 1066-1074. doi: 10.1097/EJA.0000000000001130
20. Бабаян Г.Б., Зорин Р.А., Пшенников А.С., Сучков И.А., Юдин В.А., Жаднов В.А., и др. Предикторы неврологического дефицита при гемодинамически значимых стенозах сонных и позвоночных артерий. *Наука молодых (Eruditio Juvenium).* 2019; 7(4): 533-540. [Babayan GB, Zorin RA, Pshennikov AS, Suchkov IA, Yudin VA, Zhadnov VA, et al. Predictors of neurological deficits in patients with hemodynamically significant stenosis of carotid and vertebral arteries. *Science of the Young (Eruditio Juvenium).* 2019; 7(4): 533-540. (In Russ.)]. doi: 10.23888/HMJ201974533-540
21. Калинин Р.Е., Пшенников А.С., Зорин Р.А., Сучков И.А., Соляник Н.А. Биохимические показатели церебрального повреждения при операциях на сонных артериях (обзор литературы). *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2022; 28(1): 148-153. [Kalinin RE, Pshennikov AS, Zorin RA, Suchkov IA, Solyanik NA. Biochemical indicators of cerebral damage during operations on the carotid arteries (literature review). *Angiology and Vascular Surgery.* 2022; 28(1): 148-153. (In Russ.)].
22. Zuniga MC, Tran TB, Baughman BD, Raghuraman G, Hitchner E, Rosen A, et al. A prospective evaluation of systemic biomarkers and cognitive function associated with carotid revascularization. *Ann Surg.* 2016; 264: 659-665. doi: 10.1097/SLA.0000000000001853
23. Qiu J, Tan G, Lin Y, Guan J, Dai Z, Wang F, et al. Automated detection of intracranial artery stenosis and occlusion in magnetic resonance angiography: A preliminary study based on deep learning. *Magn Reson Imaging.* 2022; 94: 105-111. doi: 10.1016/j.mri.2022.09.006

Сведения об авторах

Калинин Роман Евгеньевич – доктор медицинских наук, профессор, ректор, заведующий кафедрой сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: kalinin-re@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0817-9573>

Пшенников Александр Сергеевич – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: pshennikov1610@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1687-332X>

Сучков Игорь Александрович – доктор медицинских наук, профессор, проректор по научной работе и инновационному развитию, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: suchkov_med@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1292-5452>

Зорин Роман Александрович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: zorin.ra30091980@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4310-8786>

Соляник Никита Андреевич – аспирант кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: solianik.nikita@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4667-3513>

Буршинов Александр Олегович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры неврологии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: burshinov_65@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6951-0290>

Леонов Геннадий Александрович – доктор медицинских наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: Leo_nav59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5780-1675>

Жаднов Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: Zhadnovva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5973-1196>

Афенов Михаил Романович – студент 6-го курса, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: afienov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4123-9408>

Information about the authors

Roman E. Kalinin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Rector, Head of the Department of Cardiovascular and Endovascular Surgery and Radiation Diagnostics, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: kalinin-re@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0817-9573>

Alexander S. Pshennikov – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Cardiovascular and Endovascular Surgery and Radiation Diagnostics, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: pshennikov1610@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1687-332X>

Igor A. Suchkov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Vice-Rector for Research and Innovations, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: suchkov_med@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1292-5452>

Roman A. Zorin – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Neurology and Neurosurgery, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: zorin.ra30091980@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4310-8786>

Nikita A. Solianik – Postgraduate at the Department of Cardiovascular and Endovascular Surgery and Radiation Diagnostics, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: solianik.nikita@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4667-3513>

Alexander O. Burshinov – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Neurology and Neurosurgery, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: burshinov_65@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6951-0290>

Gennady A. Leonov – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Neurology and Neurosurgery, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: Leo_nav59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5780-1675>

Vladimir A. Zhadnov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Neurology and Neurosurgery, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: Zhadnovva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5973-1196>

Mikhail R. Afenov – 6th year Student, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: afienov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4123-9408>

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ, ПАТОГЕНЕЗЕ, ФАКТОРАХ РИСКА И ИСХОДАХ ЕЁ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Тибекина Л.М.¹,
Аль-Сахли У.А.^{1,2},
Флуд В.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет»
(199034, г. Санкт-Петербург,
Университетская набережная, 7-9,
Россия)

² СПб ГБУЗ «Елизаветинская
больница» (195257, г. Санкт-Петербург,
ул. Вавиловых, 14, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Тибекина Людмила Михайловна,
e-mail: lmtibekina@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Несмотря на большой выбор противоэpileптических препаратов (ПЭП), треть пациентов остаются устойчивыми к действию современных ПЭП. Фармакорезистентная эпилепсия (ФРЭ) характеризуется невозможностью контроля над приступами у больного при применении по крайней мере двух адекватных схем ПЭП в эффективной суточной дозе в качестве монотерапии или в комбинации. При этом механизмами, ответственными за резистентность к фармакопрепаратам, в основном являются либо повышенное выведение ПЭП переносчиками из эпилептогенной ткани (гипотеза мультилекарственных транспортеров), либо снижение чувствительности рецепторов к лекарству в эпилептогенной ткани головного мозга. Предполагается наличие и других, но недостаточно изученных механизмов. С риском развития ФРЭ у пациентов с диагностированной эпилепсией связан ряд факторов, включая генетические, ятрогенные, пороки развития головного мозга и другие. Больные с ФРЭ имеют более высокую вероятность развития психопатологических расстройств (депрессия, тревога, психозы), доля которых значительно выше, чем в общей популяции. У них в 10 раз повышается риск летального исхода вследствие травм, снижения когнитивных функций и внезапной смерти (SUDEP, sudden unexpected death in epilepsy). Приоритетным методом лечения ФРЭ является хирургическое. Раннее выявление ФРЭ имеет решающее значение для установления потенциальных альтернатив лечения и определения того, является ли пациент кандидатом на хирургическое вмешательство. Анализ данных клинических, инструментальных методов исследования оперированных больных ФРЭ в раннем и отдалённом послеоперационном периоде позволит выявить факторы неблагоприятного исхода и повысить эффективность лечения данной категории больных.

Целью исследования явилось изучение и обобщение данных литературы по патогенезу, факторам риска фармакоустойчивости к ПЭП больных эпилепсией с обоснованием необходимости своевременного выявления фармакорезистентности и направления пациентов с ФРЭ в специализированные центры для возможного оперативного лечения.

Ключевые слова: фармакорезистентная эпилепсия, патогенез, хирургическое лечение фармакорезистентной эпилепсии, исходы хирургического лечения, факторы риска

Статья поступила: 05.07.2023

Статья принята: 27.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Тибекина Л.М., Аль-Сахли У.А., Флуд В.В. Современные представления о фармакорезистентной эпилепсии, патогенезе, факторах риска и исходах её хирургического лечения. *Acta biomedica scientifica*. 2024;9(3): 153-163. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.15

DRUG-RESISTANT EPILEPSY: CURRENT CONCEPTS, PATHOGENESIS, RISK FACTORS, OUTCOMES OF SURGICAL TREATMENT

Tibekina L.M.¹,
Al-Sahli O.A.^{1,2},
Flud V.V.¹

¹ Saint-Petersburg State University
(Universitetskaya embankment 7-9,
Saint-Petersburg 199034,
Russian Federation)

² Elizavetinskaya Hospital
(Vavilovskiy str. 14, Saint-Petersburg 195257,
Russian Federation)

Corresponding author:
Lyudmila M. Tibekina,
e-mail: lmtibeina@mail.ru

ABSTRACT

Despite the wide choice of antiepileptic drugs (AEDs), a third of patients remain resistant to the effects of modern AEDs. Drug-resistant epilepsy (DRE) is characterized by the inability to control seizures in a patient when using at least two adequate AED regimens at an effective daily dose as monotherapy or in combination. In this case, the mechanisms responsible for drug resistance are mainly either increased excretion of AEDs by transporters from epileptogenic tissue (the multidrug transporter hypothesis) or a decrease in the sensitivity of drug receptors in epileptogenic brain tissue. It is assumed that there are other mechanisms, but they remain understudied. A number of factors are associated with the risk of DRE developing in patients with diagnosed epilepsy, including genetic, iatrogenic, brain malformations, and others. Patients with DRE have a higher probability of developing psychopathological disorders (depression, anxiety, psychosis), the proportion of which is significantly higher than in the general population. They have a 10-fold increased risk of death due to injury, cognitive decline, and sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP). The priority treatment method for DRE is surgery. Early identification of DRE is critical for identifying potential treatment alternatives and determining whether a patient is a surgical candidate. Analysis of data from clinical and instrumental research of operated patients with DRE in the early and late postoperative period will allow us to identify factors of unfavorable outcome and to increase the effectiveness of treatment for this category of patients.

The aim was to study and to summarize literature data on the pathogenesis and risk factors of drug resistance to antiepileptic drugs in patients with epilepsy, justifying the need for timely identification of drug resistance and referral of patients with drug-resistant epilepsy to specialized centers for possible surgical treatment.

Key words: drug-resistant epilepsy, pathogenesis, surgical treatment of drug-resistant epilepsy, outcomes of surgical treatment, risk factors

Received: 05.07.2023
Accepted: 27.05.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Tibekina L.M., Al-Sahli O.A., Flud V.V. Drug-resistant epilepsy: Current concepts, pathogenesis, risk factors, outcomes of surgical treatment. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 153-163. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.15

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Эпилепсия является одним из наиболее распространенных хронических инвалидизирующих неврологических заболеваний, от которого страдают более 70 млн человек во всём мире [1, 2]. Пациенты с эпилепсией имеют в 3,1 раза больше физических, умственных или социальных ограничений по сравнению с пациентами без эпилепсии вследствие когнитивных, психопатологических и других коморбидных заболеваний [3]. Несмотря на доступность более чем 20 современных противоэpileптических препаратов (ПЭП) для симптоматического лечения эпилепсии, около 30–40 % пациентов с эпилепсией остаются резистентными к фармакотерапии [1, 2, 4].

Для фармакорезистентной эпилепсии (ФРЭ) характерна невозможность достижения прекращения приступов при применении двух «адекватных» схем ПЭП в виде монотерапии или в комбинации [5]. Она считается мультифакториальным феноменом, имеющим в своей основе многочисленные генетические и приобретённые механизмы.

Среди генетических причин ФРЭ указывается повышенная скорость метаболизма ПЭП у лиц, гомозиготных или гетерозиготных по быстрому аллелю генов, биотрансформирующихся в печени [6]; снижение или отсутствие чувствительности рецепторов нейронов коры к ПЭП. Одним из приобретённых механизмов можно считать иницирование приступами эпилептогенеза с изменением нервной ткани посредством нейропластичности [7].

В последние годы развитие нейронаук, нейровизуализации и применение математических моделей на основе теории графов в клинической и фундаментальной неврологии позволило рассматривать эпилепсию как болезнь нейронных сетей [8]. У пациентов с эпилепсией выявлены нарушения структурного и функционального коннектомов, то есть совокупности структурных и функциональных сетей в нервной системе. В сетях выделяют узлы и связи между узлами (рёбра), в которых отмечаются изменения.

Узлы, как правило, соответствуют различным областям височной доли и экстратемпоральным структурам [9].

Медицинские и социальные последствия ФРЭ значительны для физического и психического здоровья пациента. Социально-экономические и психологические ограничения, которые снижают качество их жизни, повышают риск смертности [10]. У них, по данным многочисленных исследований, наблюдается более высокий уровень когнитивного дефицита, эмоциональных расстройств, психических заболеваний, имеются трудности или неспособность выполнять определённые социальные роли [11].

Качество жизни (КЖ) пациентов с эпилепсией имеет довольно низкий уровень. На это оказывают влияние наличие коморбидных расстройств со стороны психики и поведения, когнитивные нарушения, невозможность своевременно получить консультативную помощь профильного специалиста, высокая стоимость современных ПЭП. Наличие эпилептических приступов, личностные

особенности больных вызывают настороженное отношение к ним окружающих и стигматизацию таких пациентов в обществе.

Пациентам с фокальным началом приступов, принимающим два или более противосудорожных препарата в течение минимум 2 лет, или пациентам с выраженными побочными эффектами от приёма противосудорожных препаратов и в случае, если приступы влияют или ограничивают повседневную жизнь и её качество, показано хирургическое лечение [1, 12]. Удаление эпилептогенного очага пациентам с ФРЭ позволяет достичь полного контроля над приступами в среднем у 59–80 % пациентов [13–15], а также значительно улучшить их КЖ [16, 17].

Пациенты с эпилепсией, которым показано хирургическое лечение, нуждаются в оценке рисков отдалённых результатов операции, а также в оценке нейропсихологического статуса и уровня КЖ. Однако в настоящее время недостаточно перспективных долгосрочных исследований по эффективности и безопасности различных методов оперативного лечения больных с ФРЭ. Для оценки эффективности оперативного лечения важно определение прогностических факторов благоприятного исхода. Хирургическое лечение больных с ФРЭ в целом даёт хорошие результаты, однако объёмы и методы оперативного вмешательства, риски неблагоприятных исходов, состояние психоэмоциональной и когнитивной сферы, особенно в отдалённом послеоперационном периоде, остаются недостаточно изученными.

ПАТОГЕНЕЗ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

В последние годы было выявлено несколько предполагаемых механизмов, лежащих в основе лекарственной устойчивости при эпилепсии. На основании экспериментальных и клинических исследований были выдвинуты две основные нейробиологические теории: 1) снижение чувствительности к лекарству-мишени в эпилептогенной ткани головного мозга (гипотеза мишени); 2) удаление ПЭП из эпилептогенной ткани за счёт избыточной экспрессии переносчиков многих лекарств (гипотеза мультилекарственных транспортёров). Однако ни одна из них не объясняет полностью нейробиологическую основу фармакорезистентности [2, 18].

В соответствии с **гипотезой мишени**, фармакорезистентность рассматривается как результат отсутствия или потери чувствительности рецепторов ионных каналов и нейротрансмиттерных рецепторов к ПЭП [2, 19]. Предполагается, что для обеспечения противоэпилептического эффекта лекарство должно оказывать влияние на молекулы-мишени в головном мозге. Это прежде всего вольтаж-зависимые ионные каналы, рецепторы нейротрансмиттеров и транспортёры или метаболические ферменты, участвующие в высвобождении, поглощении и метаболизме нейротрансмиттеров [20].

В работе Т.А. Сажинной и соавт. (2019) отмечалось наличие локальных изменений структуры в области эпилептического очага и снижение активности рецепто-

ров к гамма-аминомасляной кислоте (ГАМК). Показано, что патологические процессы, затрагивающие глутамат- и ГАМК-ергические системы у больных с ФРЭ, сопровождаются изменением содержания апоптотических белков. Это могло быть одной из причин гибели нейронов [21]. Однако наличие значительного количества пациентов с резистентностью одновременно к нескольким ПЭП с различными механизмами действия не исключает и других механизмов резистентности.

Гипотеза мультилекарственных транспортёров. Известно, что липофильные вещества, к которым относятся ПЭП, транспортируются через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) с помощью протеинов, в частности Р-гликопротеина (PGP, P-glycoprotein) и семейства белков, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью (MRP, multidrug resistance-associated protein) – протеинов, находящихся в мембране эндотелия капилляров [2, 18, 22]. Они способны перемещать обратно в кровяное русло избыток липофильных веществ, в том числе ПЭП, которые проникли путём диффузии за пределы ГЭБ. Показано также, что мультилекарственные транспортёры могут контролировать перемещение ПЭП из экстрацеллюлярных пространств мозга в эндотелиальные клетки с последующим выводом их в кровь [2, 23]. Управляет процессом перемещения веществ через ГЭБ специальная генетически детерминированная система. Эта система ограничивает прохождение через ГЭБ ионизированных гидрофильных веществ и крупных молекул.

Считается, что PGP и MRP в ГЭБ действуют как активный защитный механизм, ограничивающий проникновение липофильных веществ в мозг [24]. Большое разнообразие соединений, в том числе многие липофильные препараты, являются субстратами либо для PGP, либо для MRP, либо для обоих. Р-гликопротеин выделяется тканями с секреторной активностью (тонкой кишкой, печенью, почками) и на уровне кровь – ткань (ГЭБ, плацента, гематотестикулярный барьер), что определяет концентрацию препарата в организме, его выведение и концентрацию в восприимчивых тканях, таких как мозг [25]. Большинство ПЭП (фенобарбитал, окскарбазепин, ламотриджин, габапентин, топирамат и др.) являются субстратом для Р-гликопротеина [19].

Таким образом, повышенная экспрессия таких транспортеров в эпилептогенной ткани, вероятно, снижает количество лекарственного средства, достигающего эпилептических нейронов, что может быть вероятным объяснением фармакорезистентности.

Последние достижения в нейробиологии, особенно в области коннектомики (**гипотеза нейронных сетей**), позволяют детально оценить организацию, динамику и функции сети на индивидуальном уровне. Данные можно оценивать с использованием принципиальных форм сетевого анализа, основанных на теории графов, которые могут раскрыть паттерны организации, склонные к аномальной динамике и эпилептогенезу [26]. Одиночный патологический фокус вовлекает в эпилептогенез другие, отдалённые участки головного мозга, формируя эпилептическую систему. Подход с позиций коннектомики позволяет проводить оценку персонализированных мер

сетевой организации и выяснить вариабельность клинических исходов [26]. Гипотеза нейронных сетей требует дальнейших исследований для определения их структурно-функциональной организации при ФРЭ, а также изменений в процессе течения заболевания и на фоне лечения (медикаментозное и хирургическое).

Необходимо подчеркнуть значение приобретённых механизмов фармакорезистентности, в частности сами эпилептические приступы могут запускать киндлинг-механизм. Киндлинг (раскачка) представляет собой феномен, когда повторяющаяся субконвульсивная стимуляция определённых областей мозга приводит к прогрессирующему развитию судорожной активности [27]. Исходя из этого и недостаточно полной информации о фармакорезистентности с точки зрения клеточных и молекулярных факторов была сформулирована **гипотеза внутренней тяжести фармакорезистентности к ПЭП**. В соответствии с ней фармакорезистентность является неотъемлемым свойством эпилепсии, связанным с тяжестью заболевания [2, 28]. Согласно данной гипотезе, фармакорезистентность представляет собой результат воздействия нейробиологических факторов, обуславливающих тот или иной уровень тяжести заболевания в целом, то есть фенотипическую вариабельность данной формы эпилепсии [8, 29]. Следовательно, лекарственная устойчивость в этой ситуации может быть следствием факторов, лежащих в основе эпилепсии и тяжёлого её течения.

Помимо этого, несомненно, существуют и другие механизмы фармакорезистентности, которые необходимо идентифицировать и детально изучать.

ФАКТОРЫ РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У БОЛЬНЫХ ЭПИЛЕПСИЕЙ

Выявление пациентов с ФРЭ и своевременное их направление на специализированное лечение часто задерживается. Такие пациенты больше подвержены высокому риску заболеваемости и смертности. Определение факторов риска ФРЭ и изменение подхода к лечению конкретного пациента позволяет избежать использования неэффективных ПЭП, побочных эффектов от лекарственной терапии и усугубления течения заболевания.

В клинической практике допускаются некоторые терапевтические ошибки, в результате которых не достигается контроль над приступами или даже ухудшается течение заболевания. Следовательно, с большой вероятностью эти ошибки неправильно указывают на наличие у пациентов ФРЭ. К таким ошибкам чаще относятся неправильная оценка типа приступов; наличие у больного состояния, имитирующего эпилепсию (психогенные неэпилептические приступы, обмороки, транзиторные ишемические атаки, метаболические нарушения, различные нарушения двигательной сферы, особенно экстрапиримидной системы, расстройства сна) и/или их сочетание с эпилепсией [5].

При лечении больных эпилепсией также, как и при лечении других заболеваний, могут иметь место ятроген-

ные или носорогенные факторы, снижающие или нивелирующие эффект проводимой терапии. Ятрогенные факторы связаны с врачебной деятельностью (неадекватная доза и/или неправильно выбранный препарат (или препараты), нерегулярность лечения больного, отмена препарата с диагностическими целями и др.). Носорогенные факторы связаны с поведением самого пациента [30]. К ним можно отнести несоблюдение больным правил приёма лекарства (кратности, дозировки) или прекращение его приёма и др.

Существуют факторы, провоцирующие приступы и, соответственно, увеличивающие риск развития ФРЭ. В связи с этим больной должен быть информирован о неблагоприятных влияниях на состояние здоровья стрессовых ситуаций, депривации сна, алкоголя, гипертермии и т. д. Спровоцировать приступы могут оперативные вмешательства, метаболические расстройства и гормональные нарушения, менструация, беременность, роды и др. [31]. Подобные провоцирующие факторы могут быть определены при первоначальном сборе анамнеза у пациента.

По мнению зарубежных исследователей, факторами риска развития ФРЭ могут быть ранний дебют заболевания и длительное его течение, частые приступы (особенно фокального типа). В анамнезе у этих пациентов нередко бывают указания на фебрильные судороги, возможно, эпилептический статус. Следует учитывать также полиморфность эпилептических приступов, неврологический дефицит или умственную отсталость на момент постановки диагноза. Относительно фармакорезистентности должно настораживать отсутствие ответа на первый ПЭП (при правильном его выборе), аномальная электроэнцефалограмма (ЭЭГ) и наличие интериктальной эпилептиформной активности [1, 32, 33].

Генетические факторы, вероятно, играют важную роль в возникновении многих эпилептических состояний – от классических идиопатических (генетических) генерализованных эпилепсий до эпилептических энцефалопатий, фокальной эпилепсии и ФРЭ. В последние годы многочисленные исследования показали, что генетическая изменчивость связана с лекарственной устойчивостью эпилепсии, включая гены потенциал-зависимых натриевых и калиевых каналов, а также гены метаболизма эндогенных и ксенобиотических веществ [34].

Эпилепсия является частым проявлением опухолей головного мозга. Тип опухоли головного мозга и её локализация, безусловно, будут определяющими факторами риска развития эпилепсии. Опухоли головного мозга, подверженные наибольшему риску судорожных припадков, – это медленно растущие первичные опухоли (глиомы низкой степени дифференцировки), опухоли с кровоизлиянием и множественные метастазы. Судороги, являющиеся симптомами опухоли головного мозга, трудно поддаются лечению. По мнению S. Dupont (2008), эволюция опухоли, модификации опухолевой и околоопухолевой ткани и связанные с ними методы лечения обычно ассоциируются с лекарственной устойчивостью при назначении ПЭП [35].

Пороки развития коры головного мозга (ПРКГМ) считаются одной из значимых причин эпилепсии и нарушений развития ребёнка. ПРКГМ представляют собой макроскопические или микроскопические аномалии коры головного мозга, возникающие вследствие нарушения этапов формирования кортикальной пластинки. В большинстве случаев они генетически детерминированы (имеются аномалии в генах, которые участвуют в пролиферации нейронов, миграции и слоении коры во время эмбриогенеза) [36]. Причиной возникновения ПРКГМ могут быть внутриутробные факторы, связанные с инфекцией, гипоксией, интоксикацией [5].

Ряд заболеваний (туберозный склероз, очаговая кортикальная дисплазия, гемимегалэнцефалия, лиссэнцефалия, подкорковая ламинарная гетеротопия, и др.) сопровождаются развитием ФРЭ [5, 37].

Как показывает практика, при височной эпилепсии наиболее частой гистопатологической находкой при оперативных вмешательствах, в случаях фармакорезистентности является мезиальный височный склероз с гибелью нейронов гиппокампа и смежных структур. Подобные изменения часто встречаются в амигдале, энторинальной коре, темпорополярных отделах коры и височной доле. У пациентов с ФРЭ, требующей хирургического вмешательства, наиболее частым гистологическим диагнозом у взрослых является склероз гиппокампа [38]. Выявлено, что кортикальные дисплазии, атипичные фебрильные судороги, опухоли головного мозга, черепно-мозговые травмы, церебральные мальформации имеют достаточно высокий риск поражения гиппокампальной области [39]. Все эти факторы приводят к снижению числа нейронов и гипервозбудимости непоражённой нервной ткани.

ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ С ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ

Основной причиной когнитивных, эмоциональных и поведенческих расстройств, которые обычно возникают у пациентов с ФРЭ, является судорожная активность [40].

Среди коморбидных расстройств, сопровождающих эпилепсию, особое место занимает депрессия, на долю которой приходится 4–12 % в период ремиссии и 20–55 % и более при ФРЭ. Депрессия чаще развивается у пациентов со структурной фокальной эпилепсией с частыми (более одного раза в месяц) приступами и принимающими 2–3 ПЭП [41, 42].

Учитывая межполушарную функциональную асимметрию мозга, можно предполагать о значении латерализации очага в возникновении депрессивных расстройств. В проведённых исследованиях по изучению зависимости риска развития депрессии от латерализации эпилептогенного фокуса были получены неоднозначные результаты. Однако большинство учёных считают, что депрессия более характерна для пациентов с левополушарной фокальной эпилепсией [43]. Это может быть объяснено тем, что больные с левосторонним очагом более критично относятся к своему состоянию,

а для пациентов с правосторонним полушарным повреждением характерно преуменьшение или отрицание негативных сторон своего поведения. A. Grabowska-Grzyb и соавт. (2006) установили, что из 203 больных ФРЭ депрессия наблюдается у 49,5 %. Было также показано, что депрессия и эпилепсия могут быть обусловлены одними и теми же причинами [44].

Подтверждена двусторонняя связь эпилепсии и депрессии, а также эпилепсии и суицидальности [45]. При этом депрессия может выступать независимым фактором риска развития первого неспровоцированного эпилептического приступа [46]. Следует отметить, что депрессивные расстройства при эпилепсии имеют свои особенности, отличаясь от депрессии при других неврологических заболеваниях и от первичной депрессии [47]. Депрессивные расстройства принято классифицировать по временной связи с эпилептическими приступами на: 1) преиктальную депрессию; 2) иктальную депрессию; 3) постиктальную депрессию. Преиктальная депрессия возникает за несколько часов, реже – суток, до начала приступа и характеризуется дисфорией, раздражительностью и тревожностью. Иктальная депрессия прослеживается обычно на фоне простых фокальных приступов. Они непродолжительные, стереотипные, ассоциированы с появлением чувства вины, ангедонией и суицидальными мыслями. Постиктальная депрессия длится несколько часов или дней после приступа, характеризуется повышенной восприимчивостью к фрустрирующим факторам, ангедонией, чувством беспомощности, вины, раздражительностью, ощущением несостоятельности. Возможны приступы плача, иногда суицидальные мысли и тенденции к суициду. В анамнезе у этих пациентов могут быть указания на большую депрессию или биполярное расстройство [47].

Тревожные расстройства у больных эпилепсией встречаются в 10–25 % случаев, по данным других авторов – в 50 % и более [48, 49].

Между клиническими проявлениями тревожного расстройства и эпилептическими припадками возможны причинно-следственные и временные взаимоотношения. Так, тревога, появление страхов могут предшествовать возникновению приступа, и нередко эти симптомы входят в структуру простых фокальных (чаще всего височных) и комплексных фокальных приступов с автоматизмами [50].

Поведенческие нарушения у пациентов с эпилепсией встречаются также чаще, чем в общей популяции. При ФРЭ они могут диагностироваться как самостоятельные расстройства или ассоциироваться с аффективными нарушениями (рекуррентными и биполярными депрессиями, дистимиями), как гиперкинетическое расстройство [50].

Причинно-следственные отношения изучены недостаточно, так как бывает сложно получить объективные сведения о наличии и типологии поведенческих нарушений на протяжении всей жизни больного эпилепсией.

Таким образом, изучение нарушений психоэмоционального статуса при ФРЭ остаётся актуальной проблемой современной неврологии и психиатрии. Возникновение психоэмоциональных расстройств является неотъемлемой составляющей течения ФРЭ и отражается

на общем состоянии пациента и его КЖ на разных стадиях развития заболевания.

У больных эпилепсией достаточно часто встречаются когнитивные нарушения, среди которых доминируют нарушения памяти, внимания и брадифрения в межприступном периоде. В патогенезе когнитивных нарушений важную роль играют органические повреждения структур мозга, нейрональная дисфункция, межприступная эпилептическая активность, повторные припадки, а также приём определённых ПЭП [51].

Судорожные приступы вызывают прогрессирующие клеточные и метаболические изменения, коррелирующие с гиппокампальной потерей нейронов, неонейрогенезом и синаптической реорганизацией, а также с повышенной восприимчивостью к вызванным и спонтанным припадкам. Возникают поведенческие и когнитивные нарушения, которые ухудшаются в зависимости от кумулятивного количества приступов [52]. Проблемы с памятью более выражены при фокальных эпилепсиях по сравнению с генерализованными формами эпилепсии, особенно страдает кратковременная память. Нарушения памяти коррелируют с длительным течением неконтролируемой эпилепсии [53].

ИСХОДЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНОЙ ЭПИЛЕПСИИ

Приоритетным методом лечения ФРЭ является хирургическое лечение. В настоящее время накапливаются данные об отдалённых результатах оперативного лечения пациентов с ФРЭ после различных видов хирургических вмешательств [54]. Однако единой точки зрения на эффективность разных методов лечения, факторы риска благоприятного и неблагоприятного исходов оперативного лечения нет. Хирургическому лечению эпилепсии обычно подвергаются молодые люди, которые нуждаются в оценке рисков и отдалённых результатов операции. К прогностическим факторам хорошего исхода оперативного лечения эпилепсии относят наличие структурных изменений головного мозга по данным нейровизуализации (мезиальный височный склероз, объёмный процесс), отсутствие фокальных кортикальных дисплазий и других корковых врождённых пороков развития. Кроме того, необходимо учитывать «согласованность» результатов нейровизуализации и электроэнцефалографического мониторинга, а также должен быть достаточный объём хирургической резекции эпилептогенного очага [12, 13, 55].

Традиционным хирургическим доступом считается передневисочная лобэктомия. Передняя височная лобэктомия с амигдалогиппокамэктомией (АМГЛЭ) включает резекцию медиального комплекса, который состоит из амигдалы, гиппокампа и парагиппокампальной извилины. Дополнительно резекции подвергается не вовлечённый в патологический процесс неокортекс. Во многих исследованиях было доказано, что АМГЛЭ превосходит по контролю над приступами длительную медикаментозную терапию у пациентов с ФРЭ [56, 57]. В настоящее время используют и другие хирургические техники.

К таким техникам относят стереотаксическую радиохирургию, лазерную интерстициальную термическую терапию под контролем магнитно-резонансной томографии (MgLiTT, MRI-guided laser interstitial thermal therapy), радиочастотную термокоагуляцию под навигацией стерео-ЭЭГ (SEEG-guided RFTC, stereoelectroencephalography-guided radiofrequency thermocoagulation) [58]. В некоторых случаях хирургическое лечение ФРЭ невозможно. Ограничения связаны с наличием множества эпилептогенных очагов, невозможностью локализации очага или опасного для любого хирургического вмешательства расположения патологического субстрата (близость функционально значимых зон). Для таких пациентов используются методики нейростимуляции, включающие вагусную стимуляцию (vagus nerve stimulation), глубокую мозговую стимуляцию (deep brain stimulation), гибкую чувствительную стимуляцию (responsive neurostimulation) [58, 59].

Центральная эпилептогенная роль мезиальных височных структур при височной эпилепсии была продемонстрирована на животных моделях височной эпилепсии, а также при структурной церебральной патологии под контролем электрофизиологических и нейровизуализационных исследований. Таким образом, более целенаправленные мезиальные височные резекции, не затрагивающие височный неокортекс, – селективная амигдалогиппокампэктомия (САГЭ), – рассматривались как возможное средство обеспечения эквивалентного контроля приступов с меньшими нейропсихологическими последствиями [60, 61].

По данным крупного исследования (проспективное и ретроспективное), включающего 745 и 766 человек соответственно, перенёсших САГЭ и АМГЛЭ, доля исхода IA по J. Engel в общей группе составила 68 %. Для САГЭ этот показатель равнялся 66 %, для АМГЛЭ – 71 %. Метаанализ продемонстрировал статистически значимое снижение шансов на отсутствие приступов у пациентов, перенёсших САГЭ, по сравнению с пациентами, перенёсшими АМГЛЭ [62]. Согласно данным другого исследования, контроль над приступами при САГЭ был достигнут в 78,2 %, при АМГЛЭ – в 85,7 % случаев [63]. Ещё одно исследование указывает на хорошие результаты контроля над приступами и исход IA по J. Engel у больных ФРЭ: при АМГЛЭ – 72 %, при САГЭ – 71 % [64]. В другом метаанализе не было выявлено статистически значимых различий по исходам между АМГЛЭ и САГЭ [65].

По результатам проведённого нами исследования было выявлено, что у пациентов, перенёсших АМГЛЭ, наблюдался благоприятный исход по контролю над приступами. Исходы хирургического лечения были изучены у 31 пациента через 6 мес. после операции, у 21 пациента – через 1 год, у 2 пациентов – через 2 года. Доля пациентов с выраженным улучшением (I и II классы исходов по J. Engel) составила 87,1 %, 76,2 % и 50 %, соответственно периоду наблюдения [66]. Как правило, после операции пациенты остаются на уменьшенной дозе ПЭП, что снижает ожидаемый эффект операции и требует дальнейшего наблюдения за состоянием соматических и психических функций пациента с коррекцией или отменой фармакотерапии [59].

В середине прошлого столетия эффективность хирургического лечения эпилепсии оценивалась в основном по таким показателям, как полная или частичная ремиссия, снижение частоты приступов, степень изменений данных инструментальных методов исследования. В последние годы результаты хирургического лечения эпилепсии оцениваются не только по снижению частоты и/или прекращению эпилептических приступов, но и по улучшению КЖ, нейропсихологического статуса и когнитивной сферы оперированных больных.

Нейропсихологическая оценка функций определённых областей головного мозга, подлежащих резекции, и возможностей психического резерва пациента позволяет прогнозировать послеоперационное когнитивное расстройство. Успешная операция может остановить снижение умственных способностей из-за резистентного течения эпилепсии и изменить эту негативную тенденцию за счёт «высвобождения» функций, которые были вторично затронуты до операции [67]. Однако операция несёт в себе риск дополнительных нарушений, которые совместно с коморбидными расстройствами могут ускорить снижение когнитивных функций, особенно в пожилом возрасте. С нейропсихологической точки зрения важное значение имеет раннее выявление фармако-резистентности наряду с ранним и полным контролем приступов с максимальным сохранением функциональных тканей при хирургическом лечении [67]. Во многих работах демонстрируется превосходство САГЭ в сохранении нейрокогнитивных функций [68, 69].

В исследовании W. Chengxiong и соавт. (2018) сообщено о равных результатах по исходам J. Engel при САГЭ и АМГЛЭ, но при этом при АМГЛЭ отмечались худшие результаты по нейрокогнитивным нарушениям [70]. В крупном исследовании H. Clusmann сообщалось о лучших результатах после САГЭ в отношении внимания, вербальной памяти и общей нейропсихологической работоспособности [71]. U. Gleissner и соавт. (2002) сообщили о первых результатах через 3 месяца, а затем через год у 140 пациентов, перенёсших САГЭ. Они отметили, что более избирательная процедура может иметь важные когнитивные последствия. Через 3 месяца почти у половины пациентов с левосторонней САГЭ наблюдалась значительная потеря вербальной памяти; функциональные ухудшения были менее выражены при правосторонних операциях. Из 115 человек, которых обследовали в течение одного года, существенного восстановления вербальной памяти по сравнению с более ранним периодом времени не наблюдалось [72].

Проблема КЖ пациентов с ФРЭ связана не только с клиническими проявлениями болезни, но и с необходимостью постоянного приёма лекарств, с личностной реакцией на неё, со сложностями интеграции в социум и их стигматизацией. В медицинской литературе имеется более 80 опросников для оценки КЖ при эпилепсии. При этом во многих из них оценивается влияние эпилепсии в целом или отдельных её симптомов на жизнь пациента. Примером наиболее распространённого специального опросника для пациентов с эпилепсией является опросник Quality Of Life In Epilepsy Patients (QOLIE), пред-

ставленный в различных по объёму вариантах для взрослых (QOLIE-89, QOLIE-31 и QOLIE-10) [73–75].

По результатам систематического обзора A. Saadi и соавт. (2016), включающего данные более 7000 пациентов с эпилепсией, средняя оценка КЖ по опроснику QOLIE-31 составила 59,8 балла при максимальном значении 100 баллов. При этом в странах с высоким уровнем дохода этот показатель был значительно выше [75]. В других исследованиях с использованием различных опросников КЖ пациентов с эпилепсией показали положительное влияние хирургического лечения эпилепсии на этот показатель [76, 77]. По данным исследования V. Ives-Deliperi, J.T. Butler (2017) также отмечается существенное улучшение показателей КЖ по шкале QOLIE-31 у пациентов с ФРЭ после хирургического лечения через 6 и 12 месяцев по сравнению с пациентами, находящимися на медикаментозной терапии [77].

ВЫВОДЫ

Понимание механизмов, лежащих в основе резистентности к ПЭП, может помочь в разработке более эффективных терапевтических вариантов для пациентов с ФРЭ. Разработка ингибитора для Р-гликопротеина – важная задача фармакотерапии резистентных эпилепсий. Идентификация генов, влияющих на риск развития ФРЭ, имеет большое значение как для исследовательских, так и для клинических целей. Открытие новых генов и их эффектов может расширить наши знания о процессах, лежащих в основе предрасположенности к ФРЭ, что потенциально приведёт к открытию новых методов лечения.

Выявление пациентов с ФРЭ и своевременное оказание им специализированной помощи часто задерживается. Эти пациенты больше подвержены высокому риску коморбидных заболеваний и смертности. Однако выявление факторов риска ФРЭ и изменение подхода к лечению конкретного пациента позволяет избежать использования неэффективных ПЭП и побочных эффектов от них, усугубления течения заболевания и т.д.

Хирургическое лечение данной категории больных показывает хорошие результаты, однако объёмы и методы оперативного вмешательства, риски неблагоприятных исходов, состояние психоэмоциональной и когнитивной сферы, особенно в отдалённом послеоперационном периоде, остаются недостаточно изученными.

Оценка КЖ при ФРЭ необходима, как и другие показатели, для определения эффективности проводимого лечения и реабилитации пациентов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kalilani L, Sun X, Pelgrims B, Noack-Rink M, Villanueva V. The epidemiology of drug-resistant epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsia*. 2018; 59: 2179–2193. doi: 10.1111/eip.14596
2. Löscher W, Potschka H, Sisodiya SM, Vezzani A. Drug resistance in epilepsy: Clinical impact, potential mechanisms, and new innovative treatment options. *Pharmacol Rev*. 2020; 72: 606–638. doi: 10.1124/PR.120.019539
3. Terman SW, Hill CE, Burke JF. Disability in people with epilepsy: A nationally representative cross-sectional study. *Epilepsy Behav*. 2020; 112: 107429. doi: 10.1016/J.YEBEH.2020.107429
4. Айвазян С.О. Предхирургическое обследование детей с фармакорезистентной фокальной эпилепсией. М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО; 2017. [Ayvazyan SO. Presurgical examination of children with drug-resistant focal epilepsy. Moscow: Russian Medical Academy of Continuous Professional Education; 2017. (In Russ.)].
5. Котов А.С., Фирсов К.В., Санду Е.А. Фармакорезистентная эпилепсия. Клиническая лекция. *Русский медицинский журнал*. 2021; (6): 33–39. [Kotov AS, Firsov KV, Sandu EA. Pharmacoresistant epilepsy. Clinical lecture. *RMJ*. 2021; (6): 33–39. (In Russ.)].
6. Насырова Р.Ф., Сивакова Н.А., Липатова Л.В., Иващенко Д.В., Сосина К.А., Дроков А.П., и др. Биологические маркеры эффективности и безопасности противосудорожных препаратов: фармакогенетика и фармакокинетика. *Сибирское медицинское обозрение*. 2017; (1): 17–25. [Nasyrova RF, Sivakova NA, Lipatova LV, Ivashchenko DV, Sosina KA, Drovkov AP, et al. Biological markers of the antiepileptic drugs efficacy and safety: Pharmacogenetics and pharmacokinetics. *Siberian Medical Review*. 2017; (1): 17–25. (In Russ.)]. doi: 10.20333/2500136-2017-1-17-25
7. Рудакова И.Г., Белова Ю.А., Котов А.С. Фармакорезистентная эпилепсия поддается лечению. *Вестник эпилептологии*. 2013; (1): 3–7. [Rudakova IG, Belova YuA, Kotov AS. Drug resistant epilepsy is treatable. *Bulletin of Epileptology*. 2013; (1): 3–7. (In Russ.)].
8. Tavakol S, Royer J, Lowe AJ, Bonilha L, Tracy JL, Jackson GD, et al. Neuroimaging and connectomics of drug-resistant epilepsy at multiple scales: From focal lesions to macroscale networks. *Epilepsia*. 2019; 60: 593–604. doi: 10.1111/EPI.14688
9. Bernhardt BC, Bonilha L, Gross DW. Network analysis for a network disorder: The emerging role of graph theory in the study of epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2015; 50: 162–170. doi: 10.1016/J.YEBEH.2015.06.005
10. Denton A, Thorpe L, Carter A, Angarita-Fonseca A, Waterhouse K, Hernandez Ronquillo L. Definitions and risk factors for drug-resistant epilepsy in an adult cohort. *Front Neurol*. 2021; 12: 1–9. doi: 10.3389/FNEUR.2021.777888
11. Camfield CS, Camfield PR. Juvenile myoclonic epilepsy 25 years after seizure onset: A population-based study. *Neurology*. 2009; 73: 1041–1045. doi: 10.1212/WNL.0B013E3181B9C86F
12. Lamberink HJ, Otte WM, Blümcke I, Braun KPJ, Aichholzer M, Amorim I, et al. Seizure outcome and use of antiepileptic drugs after epilepsy surgery according to histopathological diagnosis: A retrospective multicentre cohort study. *Lancet Neurol*. 2020; 19: 748–757. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30220-9
13. Арешкина И.Г., Сапронова М.Р., Шнайдер Н.А., Народова Е.А., Дмитренко Д.В. Исходы хирургического лечения эпилепсии. *Доктор.Ру*. 2020; 19(4): 29–34. [Arashkina IG, Sapronova MR, Schnaider NA, Narodova EA, Dmitrenko DV Outcomes of epilepsy surgery. *Doctor.Ru*. 2020; 19(4): 29–34. (In Russ.)]. doi: 10.31550/1727-2378-2020-19-4-29-34
14. Крылов В.В., Гехт А.Б., Трифонов И.С., Лебедева А.В., Каймовский И.Л., Синкин М.В., и др. Результаты хирургиче-

ского лечения пациентов с фармакорезистентными формами эпилепсии. *Нейрохирургия*. 2017; (1): 15-22. [Krylov VV, Gekht AB, Trifonov IS, Lebedeva AV, Kaimovskii IL, Sinkin MV, et al. The surgical treatment outcomes in patients suffered from various types of pharmacoresistant epilepsy. *Russian Journal of Neurosurgery*. 2017; (1): 15-22. (In Russ.)].

15. Witt JA, Krutenko T, Gädeke M, Surges R, Elger CE, Helmstaedter C. Accuracy of expert predictions of seizure freedom after epilepsy surgery. *Seizure*. 2019; 70: 59-62. doi: 10.1016/j.seizure.2019.06.030

16. Лебедева А.В., Меликян Э.Г., Степаненко А.Ю., Хомутов В.Е., Гехт А.Б. Динамика качества жизни у пациентов с фармакорезистентной эпилепсией при хирургических методах лечения. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2011; (6): 67-70. [Lebedeva AV, Melikyan EG, Stepanenko AY, Khomutov VE, Guekht AB. Quality of life dynamics in pharmacoresistant epilepsy patients after epilepsy surgery. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. 2011; (6): 67-70. (In Russ.)]

17. Крылов В.В., Гехт А.Б., Трифонов И.С., Лебедева А.В., Каймовский И.Л., Синкин М.В., и др. Исходы хирургического лечения пациентов с фармакорезистентными формами эпилепсии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016; 116(9-2): 13-18. [Krylov VV, Guekht AB, Trifonov IS, Lebedeva AV, Kaimovskii IL, Sinkin MV, et al. Outcomes of surgical treatment of patients with pharmacoresistant epilepsy. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2016; 116(9-2): 13-18. (In Russ.)]. doi: 10.17116/JNEURO20161169213-18

18. Tang F, Hartz AMS, Bauer B. Drug-resistant epilepsy: Multiple hypotheses, few answers. *Front Neurol*. 2017; 8: 1-19. doi: 10.3389/FNEUR.2017.00301/BIBTEX

19. Литовченко Т.А. Резистентные эпилепсии: причины и методы лечения. *НейроNEWS: Психоневрология и нейропсихиатрия*. 2010; 6. [Litovchenko TA. Resistant epilepsies: Causes and treatments. *NeuroNEWS: Psychoneurology and Neuropsychiatry*. 2010; 6. (In Russ.)].

20. Rogawski MA, Löscher W, Rho JM. Mechanisms of action of antiseizure drugs and the ketogenic diet. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016; 6: 1-28. doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A022780

21. Сажина Т.А., Ситовская Д.А., Забродская Ю.М., Бажанова Е.Д. Функциональный дисбаланс глутамат- и ГАМКергической нейрональных систем в патогенезе очаговой фармакорезистентной эпилепсии у человека. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 168(10): 519-522. [Sazhina TA, Sitovskaya DA, Zabrodskaya YuM, Bazhanova ED. Functional imbalance of glutamatergic and GABAergic neuronal systems in the pathogenesis of focal pharmacoresistant epilepsy in humans. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019; 168(10): 519-522. (In Russ.)].

22. Якушева Е.Н., Титов Д.С. Структура и функционирование белка множественной лекарственной устойчивости. *Биохимия*. 2018; 83: 1148-1172. [Yakusheva EN, Titov DS. Structure and function of the multidrug resistance protein 1. *Biochemistry (Moscow)*. 2018; 83: 1148-1172. (In Russ.)]. doi: 10.1134/S0320972518080043

23. Rogawski MA, Löscher W. The neurobiology of antiepileptic drugs. *Nature Reviews Neuroscience*. 2004; 5(7): 553-564. doi: 10.1038/nrn1430

24. König J, Müller F, Fromm MF. Transporters and drug-drug interactions: Important determinants of drug disposition and effects. *Pharmacol Rev*. 2013; 65: 944-966. doi: 10.1124/PR.113.007518

25. Langeh U, Chawla P, Gupta G, Das, Singh S. A novel approach to refractory epilepsy by targeting PGP peripherally and centrally: Therapeutic targets and future perspectives. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2020; 19: 741-749. doi: 10.2174/1871527319999200819093109

26. Gleichgerricht E, Kocher M, Bonilha L. Connectomics and graph theory analyses: Novel insights into network abnormalities in epilepsy. *Epilepsia*. 2015; 56: 1660-1668. doi: 10.1111/EPI.13133

27. Годухин О.В. Клеточно-молекулярные механизмы киндлинга. *Успехи физиологических наук*. 2005; 36: 41-54. [Godukhin OV. Cellular and molecular mechanisms of kindling. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2005; 36: 41-54. (In Russ.)].

28. Rogawski MA, Johnson MR. Intrinsic severity as a determinant of antiepileptic drug refractoriness. *Epilepsy Curr*. 2008; 8: 127-130. doi: 10.1111/J.1535-7511.2008.00272.X

29. Rogawski MA. The intrinsic severity hypothesis of pharmacoresistance to antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 2013; 54(Suppl 2): 33-40. doi: 10.1111/EPI.12182

30. Котов А.С., Фирсов К.В. *Фармакорезистентная эпилепсия (руководство для врачей)*. М.: Медицинское информационное агентство; 2022. [Kotov AS, Firsov KV. *Pharmacoresistant epilepsy (guidelines for physicians)*. Moscow: Medical Information Agency; 2022. (In Russ.)].

31. Котов А.С. Эпилепсия у злоупотребляющих алкоголем и наркотиками. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015; 2015: 85-88. [Kotov AS. Epilepsy in alcohol and drug abusers. *Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2015; 2015: 85-88. (In Russ.)]. doi: 10.17116/JNEURO201511510185-88

32. Roy PL, Ronquillo LH, Ladino LD, Tellez-Zenteno JF. Risk factors associated with drug resistant focal epilepsy in adults: A case control study. *Seizure*. 2019; 73: 46-50. doi: 10.1016/J.SEIZURE.2019.10.020

33. Chen Z, Brodie MJ, Liew D, Kwan P. Treatment outcomes in patients with newly diagnosed epilepsy treated with established and new antiepileptic drugs: A 30-year longitudinal cohort study. *JAMA Neurol*. 2018; 75: 279-286. doi: 10.1001/JAMANEUROL.2017.3949

34. Boschiero MN, Camporeze B, dos Santos JS, da Costa LB, Bonafé GA, de Queiroz LS, et al. The single nucleotide variant n.60G>C in the microRNA-146a associated with susceptibility to drug-resistant epilepsy. *Epilepsy Res*. 2020; 162: 1-8. doi: 10.1016/J.EPLEPSYRES.2020.106305

35. Dupont S. Épilepsie et tumeurs cérébrales. *Rev Neurol (Paris)*. 2008; 164: 517-522. doi: 10.1016/J.NEUROL.2008.03.016

36. Andrade DM. Genetic basis in epilepsies caused by malformations of cortical development and in those with structurally normal brain. *Hum Genet*. 2009; 126: 173-193. doi: 10.1007/S00439-009-0702-1

37. Thompson SA, Kalamangalam GP, Tandon N. Intracranial evaluation and laser ablation for epilepsy with periventricular nodular heterotopia. *Seizure*. 2016; 41: 211-216. doi: 10.1016/J.SEIZURE.2016.06.019

38. Blumcke I, Spreafico R, Haaker G, Coras R, Kobow K, Bien CG, et al. Histopathological findings in brain tissue obtained during epilepsy surgery. *New Engl J Med*. 2017; 377: 1648-1656. doi: 10.1056/NEJMOA1703784/SUPPL_FILE/NEJMOA1703784_DISCLOSURES.PDF

39. Patterson KP, Baram TZ, Shinnar S. Origins of temporal lobe epilepsy: Febrile seizures and febrile status epilepticus. *Neurotherapeutics*. 2014; 11: 242-250. doi: 10.1007/S13311-014-0263-4

40. Laxer KD, Trinka E, Hirsch LJ, Cendes F, Langfitt J, Delanty N, et al. The consequences of refractory epilepsy and its treatment. *Epilepsy Behav.* 2014; 37: 59-70. doi: 10.1016/J.YEBEH.2014.05.031
41. Kimiskidis VK, Triantafyllou NI, Kararizou E, Gatzonis SS, Fountoulakis KN, Siatouni A, et al. Depression and anxiety in epilepsy: The association with demographic and seizure-related variables. *Ann Gen Psychiatry.* 2007; 6(28): 1-8. doi: 10.1186/1744-859X-6-28
42. Yevstyhnieiev VV, Kysten OV, Lipatova LV, Sakovych RA, Kapustyna TV. Temporal epilepsy: Morphological substantiation of psychoemotional disorders. *International Neurological Journal.* 2016; (2): 13-18.
43. Lambert MV, Robertson MM. Depression in epilepsy: Etiology, phenomenology, and treatment. *Epilepsia.* 1999; 40(Suppl 10): s21-s47. doi: 10.1111/J.1528-1157.1999.TB00884.X
44. Grabowska-Grzyb A, Nagańska E, Wolańczyk T. Hypersexuality in two patients with epilepsy treated with lamotrigine. *Epilepsy Behav.* 2006; 8: 663-665. doi: 10.1016/J.YEBEH.2006.01.005
45. Elliott JO, Lu B, Shneker B, Charyton C, Layne Moore J. Comorbidity, health screening, and quality of life among persons with a history of epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2009; 14: 125-129. doi: 10.1016/J.YEBEH.2008.10.013
46. Меликян Э.Г., Гехт А.Б. Влияние коморбидных расстройств на качество жизни больных эпилепсией. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2011; 111: 91-97. [Melikian EG, Gekht AB. Effect of comorbidity on quality of life of patients with epilepsy. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2011; 111(1): 91-97. (In Russ.)].
47. Воробьева О.В., Скрипкин А.Ю. Депрессия у пациентов, страдающих эпилепсией (особенности феноменологии и подходы к лечению). *Лечебное дело.* 2010: 96-104. [Vorobeva OV, Skripkin AYU. Depression in patients with epilepsy (phenomenology features and approaches to treatment). *Lechebnoe delo.* 2010: 96-104. (In Russ.)].
48. Zhong R, Li Z, Chen Q, Zhang H, Zhang X, Lin W. Effects of insomnia and levels of depression and anxiety symptoms on quality of life in people with epilepsy. *BMC Psychiatry.* 2022; 22: 1-6. doi: 10.1186/s12888-022-04154-0
49. Rauh R, Schulze-Bonhage A, Metternich B. Assessment of anxiety in patients with epilepsy: A literature review. *Front Neurol.* 2022; 13: 836321. doi: 10.3389/fneur.2022.836321
50. Марценковский И.А., Марценковская И.И. Расстройства психики и поведения при эпилепсиях: клиническая типология и терапевтические стратегии. *НейроNews: Психоневрология и нейропсихиатрия.* 2015; 5: 21-33. [Martsenkovsky IA, Martsenkovskaya II. Mental and behavioral disorders in epilepsy: Clinical typology and therapeutic strategies. *NeuroNews: Psychoneurology and Neuropsychiatry.* 2015; 5: 21-33. (In Russ.)].
51. Пизова Н.В. Эпилепсия и когнитивные нарушения: какой антиконвульсант выбрать? *Медицинский совет.* 2019; (9): 32-38. [Pizova NV. Epilepsy and cognitive impairment. How to choose an anticonvulsant drug? *Medical Council.* 2019; (9): 32-38. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2019-9-32-38
52. Holopainen IE. Seizures in the developing brain: Cellular and molecular mechanisms of neuronal damage, neurogenesis and cellular reorganization. *Neurochem Int.* 2008; 52: 935-947. doi: 10.1016/j.neuint.2007.10.021
53. Novak A, Vizjak K, Rakusa M. Cognitive impairment in people with epilepsy. *J Clin Med.* 2022; 11: 267-280. doi: 10.3390/JCM11010267
54. Петросян Д.В., Копачев Д.Н., Шаркова С.М., Кремнева Е.И., Драгой О.В., Михайлова Е.Н., и др. Результаты хирургического лечения пациентов с фармакорезистентной структурной височной эпилепсией. *Нервные болезни.* 2021; (4): 42-47. [Petrosyan DV, Kopachev DN, Sharkova SM, Kremneva EI, Dragoi OV, Mikhailova EN, et al. Results of surgical treatment of patients with drug-resistant structural temporal lobe epilepsy. *Nervous Diseases.* 2021; (4): 42-47. (In Russ.)]. doi: 10.24412/2226-0757-2021-12375
55. Edelvik A, Rydenhag B, Olsson I, Flink R, Kumlien E, Källén K, et al. Long-term outcomes of epilepsy surgery in Sweden: A national prospective and longitudinal study. *Neurology.* 2013; 81: 1244-1251. doi: 10.1212/WNL.0B013E3182A6CA7B
56. Engel J, McDermott MP, Wiebe S, Langfitt JT, Stern JM, Dewar S, et al. Early surgical therapy for drug-resistant temporal lobe epilepsy: A randomized trial. *JAMA.* 2012; 307: 922-930. doi: 10.1001/JAMA.2012.220
57. Rathore C, Jeyaraj MK, Dash GK, Wattamwar P, Baheti N, Sarma SP, et al. Outcome after seizure recurrence on antiepileptic drug withdrawal following temporal lobectomy. *Neurology.* 2018; 91: e208-216. doi: 10.1212/WNL.0000000000005820
58. Субботина О.П., Тибеккина Л.М., Тонян С.Н. Клинико-диагностические особенности и эффективность хирургического лечения мезиальной височной эпилепсии. *Вестник хирургии имени И.И. Грекова.* 2022; 181: 91-99. [Subbotina OP, Tibekina LM, Tonyan SN. Clinical diagnostic features and surgical outcomes of mesial temporal lobe epilepsy. *Grekov's Bulletin of Surgery.* 2022; 181(3): 91-99. (In Russ.)]. doi: 10.24884/0042-4625-2022-181-3-91-99
59. Charyyeva G, Tibekina LM, Subbotina OP. Pharmacoresistance in epilepsy and ways for overcoming it (literature review). *Vestnik of Saint Petersburg University. Medicine.* 2020; 15: 184-197. doi: 10.21638/spbu11.2020.303
60. Hemb M, Palmini A, Paglioli E, Paglioli EB, Da Costa J, Azambuja N, et al. An 18-year follow-up of seizure outcome after surgery for temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013; 84: 800-805. doi: 10.1136/JNNP-2012-304038
61. Yue J, Zhang CQ, Hou Z, Yang H. Subtemporal selective amygdalohippocampectomy in patients with mesial temporal lobe epilepsy: Systematic review of seizure and neuropsychological outcomes. *Epilepsy Behav.* 2020; 112: 1-6. doi: 10.1016/J.YEBEH.2020.107435
62. Hu WH, Zhang C, Zhang K, Meng FG, Chen N, Zhang JG. Selective amygdalohippocampectomy versus anterior temporal lobectomy in the management of mesial temporal lobe epilepsy: A meta-analysis of comparative studies. *J Neurosurg.* 2013; 119: 1089-1097. doi: 10.3171/2013.8.JNS121854
63. Wendling AS, Hirsch E, Wisniewski I, Davanture C, Ofer I, Zentner J, et al. Selective amygdalohippocampectomy versus standard temporal lobectomy in patients with mesial temporal lobe epilepsy and unilateral hippocampal sclerosis. *Epilepsy Res.* 2013; 104: 94-104. doi: 10.1016/J.EPLEPSYRES.2012.09.007
64. Paglioli E, Palmini A, Portuguese M, Paglioli E, Azambuja N, Da Costa JC, et al. Seizure and memory outcome following temporal lobe surgery: Selective compared with nonselective approaches for hippocampal sclerosis. *J Neurosurg.* 2006; 104: 70-78. doi: 10.3171/JNS.2006.104.1.70
65. Jain P, Tomlinson G, Snead C, Sander B, Widjaja E. Systematic review and network meta-analysis of resective surgery

for mesial temporal lobe epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018; 89: 1138-1144. doi: 10.1136/JNNP-2017-317783

66. Аль-Сахли У.А., Тибеккина Л.М., Спиричева Е.В., Самсонов Д.В. Исходы разных методов хирургического лечения пациентов с фармакорезистентной эпилепсией. *Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье: Материалы XXVI Международной медико-биологической конференции молодых исследователей*. 2023: 593-594. [Al-Sahli OA, Tibekina LM, Spiricheva EV, Samsonov DV. Outcomes of different methods of surgical treatment of patients with drug-resistant epilepsy. *Fundamental Science and Clinical Medicine – Human and His Health: Proceedings of the XXVI International Medical-Biological Conference of Young Researchers*. 2023: 593-594. (In Russ.)]. doi: 10.32415/scientia_978-5-6049390-4-8

67. Helmstaedter C. Neuropsychological aspects of epilepsy surgery. *Epilepsy Behav*. 2004; 5: 45-55. doi: 10.1016/J.YEBEH.2003.11.006

68. Helmstaedter C, Richter S, Röske S, Oltmanns F, Schramm J, Lehmann TN. Differential effects of temporal pole resection with amygdalohippocampectomy versus selective amygdalohippocampectomy on material-specific memory in patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2008; 49: 88-97. doi: 10.1111/J.1528-1167.2007.01386.X

69. Krámská L, Šroubek J, Česák T, Vojtěch Z. One-year neuropsychological outcome after temporal lobe epilepsy surgery in large Czech sample: Search for factors contributing to memory decline. *Surg Neurol Int*. 2022; 13(248): 1-10. doi: 10.25259/SNI_335_2022

70. Chengxiong W, Dingyang L, Zhiquan Y, Zhuanyi Y. Clinical outcomes after medial temporal lobe epilepsy surgery: Anterior temporal lobectomy versus selective amygdalohippocampectomy. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2018; 43: 638-645. doi: 10.11817/J.ISSN.1672-7347.2018.06.010

71. Clusmann H, Schramm J, Kral T, Helmstaedter C, Oster-tun B, Fimmers R, et al. Prognostic factors and outcome after dif-

ferent types of resection for temporal lobe epilepsy. *J Neurosurg*. 2002; 97: 1131-1141. doi: 10.3171/JNS.2002.97.5.1131

72. Gleissner U, Helmstaedter C, Schramm J, Elger CE. Memory outcome after selective amygdalohippocampectomy: A study in 140 patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2002; 43: 87-95. doi: 10.1046/J.1528-1157.2002.24101.X

73. Евстигнеев В.В., Бельская Г.Н., Кистень О.В., Пономарева И.В., Лузанова Е.И. Качество жизни и восстановительная терапия с использованием ритмической транскраниальной магнитной стимуляции у пациентов с резистентной эпилепсией. *Международный неврологический журнал*. 2017; 90(4): 85-92. [Evstigneev VV, Belskaya GN, Kisten OV, Ponomareva IV, Luzanova EI. Quality of life and restorative treatment using repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with intractable epilepsy. *International Neurological Journal*. 2017; 90(4): 85-92. (In Russ.)]. doi: 10.22141/2224-0713.4.90.2017.107267

74. Меликян Э.Г., Мильчакова Л.Е., Лебедева А.В., Бондарева И.Б., Гехт А.Б. Возрастные аспекты исследования качества жизни больных эпилепсией. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012; 112: 78-82. [Melikian EG, Milchakova LE, Lebedeva AV, Bondareva IB, Guekht AB. Age aspects of quality of life research in patients with epilepsy. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2012; 112(6-2): 78-82. (In Russ.)].

75. Saadi A, Patenaude B, Mateen FJ. Quality of life in epilepsy-31 inventory (QOLIE-31) scores: A global comparison. *Epilepsy Behav*. 2016; 65: 13-17. doi: 10.1016/J.YEBEH.2016.09.032

76. Edelvik A, Taft C, Ekstedt G, Malmgren K. Health-related quality of life and emotional well-being after epilepsy surgery: A prospective, controlled, long-term follow-up. *Epilepsia*. 2017; 58: 1706-1715. doi: 10.1111/EPI.13874

77. Ives-Deliperi V, Butler JT. Quality of life one year after epilepsy surgery. *Epilepsy Behav*. 2017; 75: 213-217. doi: 10.1016/J.YEBEH.2017.08.014

Сведения об авторах

Тибеккина Людмила Михайловна – доктор медицинских наук, профессор кафедры нейрохирургии и неврологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», e-mail: lmtibekina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8347-4425>

Аль-Сахли Усама Абдулвахаб Мохаммед – клинический аспирант кафедры нейрохирургии и неврологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»; врач-невролог, СПб ГБУЗ «Елизаветинская больница», e-mail: ysama2020@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8988-1240>

Флуд Виктор Васильевич – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры нейрохирургии и неврологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», e-mail: fludvictor@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9441-0155>

Information about the authors

Lyudmila M. Tibekina – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Neurosurgery and Neurology, Saint Petersburg State University, Russian Federation, e-mail: lmtibekina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8347-4425>

Osamah Abdulwahab Mohammed Al-Sahli – Postgraduate at the Department of Neurosurgery and Neurology, Saint Petersburg State University; Neurologist, Elizavetinskaya Hospital, e-mail: ysama2020@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8988-1240>

Viktor V. Flud – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Neurology and Neurosurgery, Saint Petersburg State University, e-mail: fludvictor@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9441-0155>

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО МЕТОДА ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РЕГМАТОГЕННОЙ ОТСЛОЙКИ СЕТЧАТКИ

Зайка В.А.¹,
Юрьева Т.Н.^{1, 2, 3},
Данзандоржиева Д.Б.¹

¹ Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ
«МНТК «Микрохирургия глаза»
имени академика С.Н. Фёдорова»
Минздрава России (664033, г. Иркутск,
ул. Лермонтова, 337, Россия)

² Иркутская государственная
медицинская академия последипломного
образования – филиал ФГБОУ ДПО
«Российская медицинская академия
непрерывного профессионального
образования» Минздрава России
(664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100,
Россия)

³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный
медицинский университет» Минздрава
России (664003, г. Иркутск, ул. Красного
Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Данзандоржиева Долгор
Беликтеевна,
e-mail: prosto.dolgor97@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Вопрос о структурной и функциональной эффективности эписклеральных и эндовитреальных методов лечения регматогенной отслойки сетчатки остаётся открытым до сих пор.

Цель исследования. Оценить клиническую эффективность хирургического лечения регматогенной отслойки сетчатки с помощью эписклеральных и эндовитреальных методов.

Материал и методы. Проведены анализ электронной базы данных и детальная оценка лечения 285 пациентов с регматогенной отслойкой сетчатки за 2005–2022 гг. Сравнительный анализ проведён в двух группах: первая – после эписклеральной хирургии ($n = 155$); вторая – после эндовитреальных вмешательств ($n = 130$). Исходное состояние, объём хирургического вмешательства были сопоставимы.

Результаты. С 2005 по 2009 гг. в 65,9 % случаев преобладало эписклеральное пломбирование, с 2009 по 2021 г. – задняя закрытая витреэктомия (в 64,8–88,7 %). Частота первичного прилегания сетчатки составила 74,2 % и 71,5 %. Число рецидивов после витреоретинальной хирургии несколько превышало значения первой группы — 28,4 % против 25,7 %, и в 20 % случаев первый рецидив возник ещё до аспирации силикона в результате субсиликоновой пролиферации. Общее количество хирургических вмешательств на человека с учётом обязательной аспирации силикона в первой группе составило 1,3, во второй – 2,25 за весь период наблюдения. Острота зрения больных 1-й группы превышала значения группы сравнения в 2 раза – $0,21 \pm 0,02$ и $0,1 \pm 0,03$ соответственно ($p < 0,05$).

Заключение. Эписклеральные методики лечения регматогенной отслойки сетчатки характеризуются лучшим анатомо-реконструктивным и функциональным эффектом при меньшем количестве повторных операций.

Ключевые слова: регматогенная отслойка сетчатки, круговое эписклеральное пломбирование, задняя закрытая витреэктомия, тампонада силиконовым маслом

Статья поступила: 31.01.2024
Статья принята: 03.06.2024
Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Зайка В.А., Юрьева Т.Н., Данзандоржиева Д.Б. Выбор оптимального метода хирургического лечения регматогенной отслойки сетчатки. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 164-170. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.16

CHOOSING THE OPTIMAL METHOD FOR SURGICAL TREATMENT OF RHEGMATOGENOUS RETINAL DETACHMENT

Zaika V.A.¹,
Iureva T.N.^{1, 2, 3},
Danzandorzhieva D.B.¹

¹ Irkutsk Branch of the S. Fyodorov
Eye Microsurgery Federal State Institution
(Lermontova str. 337, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

² Irkutsk State Medical Academy
of Postgraduate Education –
Branch Campus of the Russian Medical
Academy of Continuing Professional
Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049,
Russian Federation)

³ Irkutsk State Medical University
(Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003,
Russian Federation)

Corresponding author:

Dolgor B. Danzandorzhieva,

e-mail: prosto.dolgor97@gmail.com

ABSTRACT

The problem of the structural and functional effectiveness of episcleral and endovitreal treatment methods of rhegmatogenous retinal detachment remains open to this day.

The aim of the study. To assess the clinical effectiveness of surgical treatment of rhegmatogenous retinal detachment using episcleral and endovitreal methods.

Material and methods. An analysis of the electronic database and a detailed assessment of the treatment of 285 patients with rhegmatogenous retinal detachment for 2005–2022 were carried out. A comparative analysis was made in two groups: group 1 – patients after episcleral surgery (n = 155); group 2 – patients after endovitreal surgery (n = 130). The initial condition and the extent of surgery were comparable. **Results.** From 2005 to 2009 in 65.9 % of cases, episcleral buckling predominated; from 2009 to 2021 – posterior closed vitrectomy (in 64.8–88.7 % of cases). The incidence of primary retinal reattachment was 74.2 % and 71.5 %. The number of relapses after vitreoretinal surgery slightly exceeded the values in the group 1 – 28.4 % versus 25.7 %, and in 20% of cases the first relapse occurred before silicone aspiration as a result of subsilicone proliferation. The total number of surgical interventions per person, taking into account mandatory silicone aspiration, in the group 1 was 1.3, in the group 2 – 2.25 for the entire observation period. The visual acuity of patients in group 1 was 2 times higher than that of the comparison group – 0.21 ± 0.02 and 0.1 ± 0.03 , respectively ($p < 0.05$).

Conclusion. Episcleral treatment methods of rhegmatogenous retinal detachment are characterized by better anatomical, reconstructive and functional effects with fewer re-operations.

Key words: rhegmatogenous retinal detachment, circular episcleral buckling, posterior closed vitrectomy, silicone oil tamponade

Received: 31.01.2024

Accepted: 03.06.2024

Published: 15.07.2024

For citation: Zaika V.A., Iureva T.N., Danzandorzhieva D.B. Choosing the optimal method for surgical treatment of rhegmatogenous retinal detachment. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 164-170. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.16

Хирургическое лечение отслойки сетчатки берет своё начало в 1929 г., когда J. Gonin впервые предложил блокировать ретинальный дефект путём дренирования субретинальной жидкости и коагуляции склеры с помощью термокаутера в проекции локализации разрыва [1, 2]. Метод предложенный E. Custodis в 1953 г. заключался в локальном пломбировании разрыва сетчатки поливиоловой пломбой и накладывании ряда коагулятов на вал вдавления. Автор предполагал, что после того, как разрыв сетчатки будет заблокирован, пигментный эпителий адсорбирует субретинальную жидкость и сетчатка приляжет. C. Scherpens в 1953 г. и H. Arruga в 1958 г. увеличили склеро-ретинальный барьер до круговой пломбы, на которой проводилась обширная диатермокоагуляция [1, 3, 4].

Эволюция хирургии отслойки сетчатки связана с применением операций, сопровождающихся тампонадой разрыва путём введения внутрь глаза воздуха после диатермокоагуляции и дренирования субретинальной жидкости. Этот метод был предложен в 1938 г. B. Rosengren. В 1972 г. R. Machemer разработал безопасный способ удаления стекловидного тела через небольшие разрезы в плоской части цилиарного тела; данный метод получил название «витрэктомия» и открыл новую эру в лечении заболеваний сетчатки и стекловидного тела [5, 6].

С тех пор в хирургическом лечении отслойки сетчатки активно применяются как эписклеральные, так и эндовитреальные методы лечения. Споры об их эффективности не утихают и по сегодняшний день. Если во второй половине прошлого века чаще использовались эписклеральные методы, то в настоящее время преимущество отдаётся эндовитреальной хирургии [5]. Основными причинами изменения соотношения этих методов лечения, когда число эндовитреальных вмешательств значительно превышает количество эписклеральных операций, являются: техническая сложность и условный «травматизм» эписклеральной хирургии, трудности освоения и недостаточная визуализация изменений сетчатки с помощью бинокулярной офтальмоскопии и применения нейтрализующих линз. В свою очередь совершенствование технологии и широкая доступность микроинвазивной витрэктомии привели к значительному сокращению времени выполнения этой операции.

Несмотря на то, что многие авторы показывают схожий процент первичного прилегания сетчатки при использовании эписклеральных и эндовитреальных подходов, вопрос о функциональной эффективности, длительности реабилитационных мероприятий и экономических затратах при хирургическом лечении регматогенной отслойки сетчатки различными методами остаётся открытым до сих пор [7–13]. Всё это и определило актуальность данного исследования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить клиническую эффективность хирургического лечения регматогенной отслойки сетчатки с помощью эписклеральных и эндовитреальных методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование включало два этапа. На первом этапе проведён анализ электронной базы данных Иркутского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России с целью оценки количества эписклеральных и витреоретинальных вмешательств, выполненных пациентам с регматогенной отслойкой сетчатки с 2005 по 2022 г. Поиск производился по следующим ключевым словам: «отслойка сетчатки», «круговое эписклеральное вдавление», «витрэктомия», «тампонада силиконовым маслом».

На втором этапе проведён анализ результатов лечения 285 пациентов по данным медицинской документации. Основными критериями включения в исследование были: наличие регматогенной отслойки сетчатки с вовлечением макулярной зоны; пролиферативная витреоретинопатия (ПВР) в стадии от В до С1; длительность существования отслойки сетчатки от 2 недель до 2 месяцев. Аксиальная длина глаза от 22 до 25 мм, экстремально высокий и низкий передне-задний размер глаза являлись критериями исключения.

В зависимости от метода хирургического лечения были сформированы две группы. Первая группа включала 155 пациентов после эписклеральной хирургии, из них 130 пациентам проведено круговое вдавление склеры с использованием силиконовой губки, а в 25 случаях круговое вдавление дополнено радиальной пломбой. Вторую группу составили 130 пациентов после эндовитреального вмешательства. Всем пациентам этой группы была проведена стандартная трёхпортовая задняя закрытая витрэктомия (ЗЗВ) 25G с эндолазеркоагуляцией разрыва сетчатки и силиконовой эндотампонадой с последующей аспирацией силикона в сроки от 3 до 6 месяцев. В исследование включены пациенты в возрасте от 23 до 67 лет; доля женщин составила 41,4 %, мужчин – 58,6 %. Длительность наблюдения – от 5 до 7 лет. Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Критериями оценки эффективности лечения являлись: первичное прилегание сетчатки; количество и сроки возникновения рецидивов отслойки сетчатки; динамика изменения остроты зрения после хирургического лечения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что в 2005 г. преимущественно применялось эписклеральное пломбирование, в 2008 г. количество эписклеральных и эндовитреальных вмешательств было равным. Начиная с 2009 г. полученный тренд свидетельствовал о преимущественном использовании ЗЗВ с тампонадой витреальной полости силиконовым маслом в лечении отслойки сетчатки. В 2021 г. этот вид хирургии использовался уже в подавляющем большинстве случаев – 88,7 %, эписклеральное пломбирование выполнялось лишь у 11,3 % пациентов (рис. 1).

ТАБЛИЦА 1
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ
И МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 1
CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS
AND TREATMENT METHODS

Показатели		1-я группа (n = 155)	2-я группа (n = 130)
Эписклеральный метод	Круговое вдавление склеры	130	–
	Круговое вдавление склеры с радиальной пломбой	25	–
ЗЗВ с эндолазеркоагуляцией	Тампонада силиконовым маслом Oxane 1300	–	68
	Тампонада силиконовым маслом Oxane 1300 + Densiron	–	62
Возраст		45,3 ± 0,07	44,2 ± 0,07
Пол	Женский	64	54
	Мужской	91	76
ПВР	В	134	117
	С1	21	13
ПЗО		23,7 ± 0,04	23,5 ± 0,04
Длительность существования отслойки сетчатки	2 недели	67	65
	4 недели	51	39
	6 недель	26	18
	8 недель	11	8

Примечание. ПЗО – передне-задняя ось глаза.

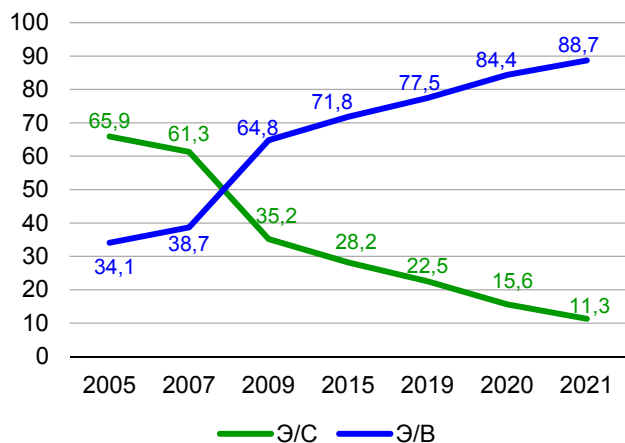


РИС. 1.

Динамика изменения количества эписклеральных и эндовитреальных вмешательств в хирургии отслойки сетчатки (%)

FIG. 1.

Dynamics of change in the number of episcleral and endovitreous interventions in retinal detachment surgery (%)

Важными, на наш взгляд, являются данные о сроках и частоте развития рецидивов при разных методах лечения отслойки сетчатки. Детальный анализ результатов лечения 285 пациентов по данным медицинской документации позволил установить, что первичное прилегание сетчатки у пациентов 1-й группы было достигнуто в 74,2 % случаев и оказалось сравнимым с количеством

успешно пролеченных больных 2-й группы – 71,5 %. Следовательно, первый рецидив отслойки сетчатки возник практически у каждого четвертого пациента в обеих группах – в 25,8 % и 28,5 % случаев соответственно. В большинстве случаев рецидивы возникли в первые 6 месяцев после хирургии, и их количество в обеих группах было сопоставимо – 17,4 % и 20 % соответственно. В сроки от 6 до 12 месяцев первый рецидив возникал в 2,5 % и 6,9 % случаев, в отдалённом послеоперационном периоде более 12 месяцев – в 5,8 % и 1,5 % случаев соответственно. Необходимо отметить, что у пациентов с эндовитреальными вмешательствами первый рецидив в 20 % случаев возник ещё до аспирации силикона и был обусловлен развитием субсиликоновой пролиферации.

Частота формирования второго и третьего рецидивов рассчитывалась относительно общего количества прооперированных пациентов в каждой группе. Сравнительный анализ повторных рецидивов отслойки сетчатки показал, что после эндовитреальных вмешательств они возникли в 11,5 % случаев, а после эписклеральной хирургии – лишь у 5,8 % пациентов. Такое распределение частоты рецидивов отслойки сетчатки, вероятнее всего, можно объяснить более медленным прогрессированием пролиферативной витреоретинопатии после эписклеральных вмешательств. Частота возникновения третьего рецидива отслойки сетчатки была практически одинаковой в двух группах и не превышала 3 % от общего числа оперированных пациентов (табл. 2).

ТАБЛИЦА 2
КОЛИЧЕСТВО И СРОКИ РЕЦИДИВОВ ОТСЛОЙКИ
СЕТЧАТКИ У ПАЦИЕНТОВ ДВУХ ГРУПП

Показатели	Срок возникновения рецидива отслойки сетчатки	1-я группа (n = 155)	2-я группа (n = 130)
% первичного прилегания сетчатки		115 (74,2 %)	93 (71,5 %)
1-й рецидив	До 6 месяцев	27 (17,4 %)	26 (20 %)
	6–12 месяцев	4 (2,5 %)	9 (6,9 %)
	Свыше 12 месяцев	9 (5,8 %)	2 (1,5 %)
2-й рецидив	До 6 месяцев	4 (2,6 %)	4 (3,1 %)
	6–12 месяцев	3 (1,9 %)	5 (3,8 %)
	Свыше 12 месяцев	2 (1,3 %)	6 (4,6 %)
3-й рецидив	До 6 месяцев	0 (0 %)	0 (0 %)
	6–12 месяцев	0 (0 %)	0 (0 %)
	Свыше 12 месяцев	4 (2,6 %)	4 (3 %)

TABLE 2
THE NUMBER AND TIMING OF RECURRENT RETINAL
DETACHMENT IN PATIENTS OF TWO GROUPS

С целью лечения рецидива отслойки сетчатки пациентам 1-й группы были дополнительно установлены радиальные пломбы, а пациентам 2-й группы проведена ревизия витреальной полости с ретампонадой силиконового масла. Важным критерием эффективности хирургического лечения отслойки сетчатки является не только получение анатомо-реконструктивного эффекта, но и возможность улучшить зрительные функции пациентов. Максимально скорректированная острота зрения пациентов обеих групп до операции варьировала от 0,01 до 0,09. После оперативного лечения острота зрения больных 1-й группы превышала значения пациентов группы сравнения в 2 раза, составив в среднем $0,21 \pm 0,02$ в сравнении с $0,1 \pm 0,03$ во 2-й группе ($p < 0,05$) (рис. 2).

Распределение пациентов в зависимости от полученной максимально скорректированной остроты зрения продемонстрировало, что после эписклеральной хирургии в 59,4 % случаев острота зрения составила от 0,05 до 0,3, в 16,1 % – 0,3 и выше. После эндовитреального вмешательства пациенты с соответствующей остротой зрения составили 46,2 % и 12,3 % соответственно (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время доступны различные методы лечения отслойки сетчатки. Выбор метода является индивидуальным и должен осуществляться с учётом исходного состояния пациента и риска возникновения повторной отслойки. Современные данные предоставляют некоторую информацию о преимуществах и недостатках различных методов.

W. Park и соавт. в 2023 г. опубликовали работу, посвящённую разработке критериев прогнозирования восстановления остроты зрения и развития рецидива отслойки сетчатки после удаления силиконового масла. Был проведён ретроспективный анализ лечения 1017 глаз пациентов с отслойкой сетчатки, которым была выполнена витрэктомия с силиконовой эндотампонадой [14]. В этом исследовании повторная отслойка сетчатки после удаления силикона возникла у 8,2 % пациентов. Несколько исследований показывают, что причиной развития рецидива после удаления силикона является пролиферативная витреоретинопатия. G.W. Abrams и соавт. в своём исследовании сообщили, что у 19 % пациентов возникла повторная отслойка сетчатки, у 14 % из них была ПВР [15]. Согласно исследованиям, чаще всего (69 %) ПВР возникает в течение первых 6 месяцев после проведённой витреоректомии

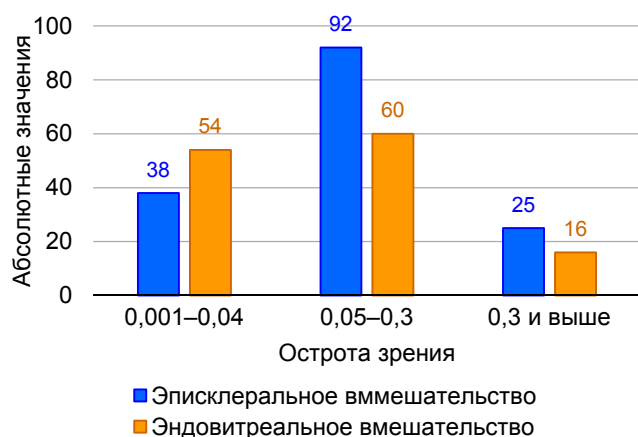


РИС. 2.

Распределение пациентов в зависимости от максимально скорректированной остроты зрения в раннем послеоперационном периоде

FIG. 2.

Distribution of patients depending on the maximum corrected visual acuity in the early postoperative period

и тампонады силиконовым маслом. Ретроспективный анализ показал, что риск развития рецидива ПБР больше у пациентов с ПБР стадии С и выше [15].

В 2021 г. опубликовано исследование, где М. Bunajem и соавт. проводили сравнение анатомических и функциональных результатов у пациентов после лечения регматогенной отслойки сетчатки двумя разными способами. Было исследовано 68 глаз после эписклерального пломбирования и 64 глаза в группе после проведения витрэктомии с силиконовой эндотампонадой. В глазах после проведенной витрэктомии вероятность развития повторной отслойки сетчатки, требующей повторной операции, была выше, чем у пациентов после эписклеральной хирургии. Функциональные результаты двух групп были сопоставимы [16].

В 2022 г. A.S. Dhoot и соавт. провели комплексный метаанализ лечения 15 947 глаз с регматогенной отслойкой сетчатки для сравнения эффективности задней закрытой витрэктомии с тампонадой силиконовым маслом с эписклеральным методом лечения [5]. По данным исследования, показатели первичного и повторного прилегания сетчатки были одинаковыми. Первичное прилегание при эписклеральной хирургии достигнуто в 86,5 % случаев, при витреоретальной – в 84,8 % ($p = 0,13$). Повторное прилегание достигнуто в 96,7 % и 97,7 % случаев соответственно ($p = 0,12$). Однако конечная острота зрения с максимальной коррекцией была статистически значимо лучше у пациентов после эписклерального пломбирования ($0,38 \pm 0,53$ против $0,33 \pm 0,53$ (20/48 против 20/43 по таблице Снеллена). Это согласуется с данными, полученными в нашем исследовании: при применении эписклеральных методик лечения пациенты получили более стабильный анатомический результат в течение многих лет наблюдения и остроту зрения в 2 раза выше, чем пациенты после эндовитреального лечения отслойки сетчатки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вектор развития хирургических вмешательств по поводу регматогенной отслойки сетчатки направлен в сторону совершенствования первичной витрэктомии и веществ, применяемых для тампонады витреальной полости. Однако эписклеральные методики, несмотря на кажущуюся инвазивность, характеризуются лучшим анатомо-реконструктивным (процент первичного прилегания) и функциональным эффектом (повышение остроты зрения) при меньшем количестве повторных операций. Поэтому выбор оптимального метода хирургического лечения отслойки сетчатки не должен исключать эписклеральные подходы, что позволит минимизировать количество послеоперационных рецидивов и получить хороший функциональный эффект.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Галимова А.Б. Эволюция подходов к хирургическому лечению регматогенной отслойки сетчатки. *Офтальмологические ведомости*. 2011; 4(3): 70-77. [Galimova AB. The evolution of surgical approaches to rhegmatogenous retinal detachment. *Ophthalmology Reports*. 2011; 4(3): 70-77. (In Russ.)].
2. Казайкин В.Н. Тампонада витреальной полости силиконовым маслом в комплексном лечении отслойки сетчатки: автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.08. М.; 2009. [Kazaikin VN. *Tamponade of the vitreal cavity with silicone oil in the complex treatment of retinal detachment*: Abstract of the Thesis of Dr. Sc. (Med.): 14.00.08. Moscow; 2009. (In Russ.)].
3. Краснов М.Л. *Руководство по глазной хирургии*; 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина; 1988. [Krasnov ML. *Guide to eye surgery*; 2nd edition, revised and enlarged. Moscow: Meditsina; 1988. (In Russ.)].
4. Madi HA, Keller J. Increasing frequency of hospital admissions for retinal detachment and vitreo-retinal surgery in England 2000–2018. *Eye (Lond)*. 2022; 36(8): 1610-1614. doi: 10.1038/s41433-021-01647-2
5. Dhoot AS, Popovic MM, Nichani PAH, Eshtiahi A, Mihalache A, Sayal AP, et al. Pars plana vitrectomy versus scleral buckle: A comprehensive meta-analysis of 15,947 eyes. *Surv Ophthalmol*. 2022; 67(4): 932-949. doi: 10.1016/j.survophthal.2021.12.005
6. Arya AV, Emerson JW, Engelbert M, Hagedorn CL, Adelman RA. Surgical management of pseudophakic retinal detachments: A meta-analysis. *Ophthalmology*. 2006; 113(10): 1724-1733. doi: 10.1016/j.ophtha.2006.05.044
7. Ahmadieh H, Moradian S, Faghihi H, Parvaresh MM, Ghanbari H, Mehryar M, et al. Anatomic and visual outcomes of scleral buckling versus primary vitrectomy in pseudophakic and aphakic retinal detachment: Six-month follow-up results of a single operation – Report no. 1. *Ophthalmology*. 2005; 112(8): 1421-1429. doi: 10.1016/j.ophtha.2005.02.018
8. Румянцева А.Ф. *Глазная хирургия*. Киев: Медиздат УССР; 1957. [Rumyantseva AF. *Eye surgery*. Kyiv: Medizdat of the Ukrainian SSR; 1957. (In Russ.)].
9. Стебнев В.С. Современные витреоретинальные технологии в хирургии осложненных форм первичной регматогенной отслойки сетчатой оболочки. Эффективность лечения. *Вестник ОГУ*. 2008; 12(2): 122-126. [Stebnev VS. Modern vitreoretinal technologies in surgery of complicated forms of primary rhegmatogenous retinal detachment. Treatment effectiveness. *Vestnik of the Orenburg State University*. 2008; 12(2): 122-126. (In Russ.)].
10. Шкворченко Д.О., Какунина С.А., Белоусов Е.В. Эндовитреальная хирургия отслойки сетчатки с применением воздушно-газовой тампонады. *Современные технологии лечения витреоретинальной патологии – 2011: Сборник тезисов научно-практической конференции*. М.; 2011: 190-193. [Shkvorchenko DO, Kakunina SA, Belousov EV. Endovitrealsurgery for retinal detachment using air-gas tamponade. *Modern Technologies for the Treatment of Vitreoretinal Pathology – 2011: Proceedings of the Research and Practical Conference*. Moscow; 2011: 190-193. (In Russ.)]
11. Cankurtaran V, Citirik M, Simsek M, Tekin K, Teke MY. Anatomical and functional outcomes of scleral buckling versus primary vitrectomy in pseudophakic retinal detachment. *Bosn J Basic Med Sci*. 2017; 17(1): 74-80. doi: 10.17305/bjbm.2017.1560

12. Felfeli T, Teja B, Miranda RN, Simbulan F, Sridhar J, Sander B, et al. Cost-utility of rhegmatogenous retinal detachment repair with pars plana vitrectomy, scleral buckle, and pneumatic retinopexy: A microsimulation model. *Am J Ophthalmol.* 2023; 255: 141-154. doi: 10.1016/j.ajo.2023.06.002
13. Hajari JN. Optimizing the treatment of rhegmatogenous retinal detachment. *Acta Ophthalmol.* 2016; 94(1): 1-12. doi: 10.1111/aos.12991
14. Park W, Kim M, Kim RY, Kim JY, Kwak JH, Park YG, et al. Long-term visual prognosis and characteristics of recurrent retinal detachment after silicone oil removal. *PLoS One.* 2023; 18(2): e0265162. doi: 10.1371/journal.pone.0265162
15. Abrams GW, Azen SP, McCuen BW 2nd, Flynn HW Jr, Lai MY, Ryan SJ. Vitrectomy with silicone oil or long-acting gas in eyes with severe proliferative vitreoretinopathy: Results of additional and long-term follow-up. Silicone Study report 11. *Arch Ophthalmol.* 1997; 115: 335-344. doi: 10.1001/archophth.1997.01100150337005
16. Bunajem M, Ahmad K, Al Zaidi N, Al Bloushi B, Al Zahrani Y. Scleral buckle versus pars plana vitrectomy in the management of primary chronic rhegmatogenous retinal detachment: A comparison of anatomical and visual outcomes. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2021; 28(2): 65-70. doi: 10.4103/meajo.MEAJO_441_20

Сведения об авторах

Зайка Владимир Александрович – кандидат медицинских наук, заведующий витреоретинальным отделением, врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: vaz.baikal@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9100-1751>

Юрьева Татьяна Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; профессор кафедры офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; профессор кафедры глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tnyurieva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0547-7521>

Данзандоржиева Долгор Беликтоевна – врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: prosto.dolgor97@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0007-4008-3276>

Information about the authors

Vladimir A. Zaika – Cand. Sc. (Med.), Head of Vitreoretinal Department, Ophthalmologist, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: vaz.baikal@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9100-1751>

Tatiana N. Iureva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for Science, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Professor at the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Professor at the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University, e-mail: tnyurieva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0547-7521>

Dolgor B. Danzandorzhieva – Ophthalmologist, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: prosto.dolgor97@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0007-4008-3276>

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ХРУСТАЛИКАХ ГЛАЗА ПРИ ПРОГРЕССИРОВАНИИ КАТАРАКТЫ

Чупров А.Д.^{1,2},
Нотова С.В.²,
Маршинская О.В.¹,
Казакова Т.В.¹

¹ Оренбургский филиал ФГАУ
«НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза»
имени академика С.Н. Фёдорова»
Минздрава России (460047, г. Оренбург,
ул. Салмышская, 17, Россия)

² ФГБОУ ВО «Оренбургский
государственный университет»
(460018, г. Оренбург, просп. Победы, 13,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Казакова Татьяна Витальевна,
e-mail: vaisvais13@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Катаракта является одной из основных причин снижения зрения в мире, в связи с чем учёными активно продолжают исследования по изучению механизмов развития данной офтальмопатологии.

Цель исследования. Изучить метаболические изменения в мутнеющем хрусталике на экспериментальной модели.

Материалы и методы. Работа была проведена на взрослых крысах-самцах линии Wistar ($n = 60$), которые были разделены на контрольную ($n = 30$) и опытную ($n = 30$) группы. Экспериментальная катаракта моделировалась путём ежедневного ультрафиолетового облучения ($\lambda = 300\text{--}350$ нм) в течение 6 месяцев по 20 минут. На 2-й, 4-й и 6-й месяцы исследования проводилось биомикроскопическое обследование переднего отдела глаза животных с помощью щелевой лампы для наблюдения за развитием катаракты; осуществлялся забор хрусталиков для определения содержания стеарил-коэнзим-А-десатуразы и мелатонина методом иммуноферментного анализа.

Результаты. На стадии начальной катаракты содержание фермента стеарил-коэнзим-А-десатуразы было статистически значимо ниже контрольных значений на 38 %; на стадии незрелой катаракты – на 30 %; на стадии зрелой катаракты – на 15,4 %. Выявлено, что на 6-й месяц исследования концентрация мелатонина в гомогенатах хрусталиков была ниже на 17 % при сравнении с контролем. Установлено наличие статистически значимой корреляционной зависимости между стеарил-коэнзим-А-десатуразой и мелатонином ($r = 0,32$).

Заключение. Мелатонин и стеарил-коэнзим-А-десатуразы играют важную роль в ряде биохимических процессов, обеспечивающих правильное функционирование зрительного анализатора. Изменение концентрации данных биологических молекул может играть ключевую роль в патогенезе катаракты и ряда других офтальмологических заболеваний.

Ключевые слова: стеарил-коэнзим-А-десатуразы, мелатонин, катаракта, жирные кислоты, хрусталик глаза

Статья поступила: 19.04.2023

Статья принята: 23.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Чупров А.Д., Нотова С.В., Маршинская О.В., Казакова Т.В. Метаболические изменения в хрусталиках глаза при прогрессировании катаракты. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 171–178. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.17

METABOLIC CHANGES IN THE EYE LENS IN THE PROGRESSION OF CATARACT

Chuprov A.D.^{1,2},
Notova S.V.²,
Marshinskaia O.V.¹,
Kazakova T.V.¹

¹ Orenburg branch of the S. Fyodorov
Eye Microsurgery Federal State Institution
(460047, Salmyskaya str. 17, Orenburg,
Russian Federation)

² Orenburg State University
(Pobedy ave. 13, Orenburg 460018,
Russian Federation)

Corresponding author:
Tatiana V. Kazakova,
e-mail: vaisvais13@mail.ru

ABSTRACT

Background. Cataract is one of the main causes of decreased visual acuity in the world, and therefore scientists are continuing researches on the mechanisms of development of this ophthalmic pathology.

The aim. To study metabolic changes in a cloudy lens using an experimental model. **Materials and methods.** The study was carried out on adult male Wistar rats ($n = 60$), which were divided into control ($n = 30$) and experimental ($n = 30$) groups. Experimental cataract were simulated by daily ultraviolet irradiation ($\lambda = 300\text{--}350\text{ nm}$) during 6 months for 20 minutes. At the months 2, 4 and 6 of the study, we carried out a biomicroscopic examination of the anterior eye of animals using a slit lamp to monitor the development of cataract. Lenses were collected to determine the content of stearyl-coenzyme-A desaturases and melatonin using enzyme immunoassay.

Results. At the stage of initial cataract, the content of the stearyl-coenzyme A desaturase was statistically significantly lower than the control values by 38 %; at the stage of immature cataract – by 30 %; at the stage of mature cataract – by 15.4 %. It was revealed that at the month 6 of the study, the concentration of melatonin in lens homogenates was 17% lower when compared with the control. A statistically significant correlation was established between stearyl-coenzyme A desaturase and melatonin ($r = 0.32$).

Conclusion. Melatonin and stearyl-coenzyme A desaturase play an important role in a number of biochemical processes that ensure the proper functioning of the visual analyzer. Changes in the concentration of these biological molecules can play a key role in the pathogenesis of cataract and a number of other ophthalmic diseases.

Key words: stearyl-coenzyme A desaturase, melatonin, cataract, fatty acids, eye lens

Received: 19.04.2023
Accepted: 23.05.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Chuprov A.D., Notova S.V., Marshinskaia O.V., Kazakova T.V. Metabolic changes in the eye lens in the progression of cataract. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 171-178. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.17

ВВЕДЕНИЕ

Катаракта является одним из самых распространённых офтальмологических заболеваний и одной из ведущих причин слепоты наряду с глаукомой и возрастной макулярной дегенерацией [1]. По данным Всемирной организации здравоохранения, на долю катаракты приходится 47 % от общего числа глазных заболеваний [2]. Именно поэтому понимание глубинных механизмов возрастозависимых изменений в структуре и функциях глазного аппарата стало критически важным для определения новых терапевтических целей и разработки мультимодальных стратегий здравоохранения, отвечающих потребностям населения.

Ряд многочисленных исследований, посвящённых причинам возникновения катаракты, показали, что катаракта является многофакторным заболеванием [3]. К числу основных причин развития данной патологии относят воздействие ультрафиолетового (УФ) излучения. Об этом свидетельствуют эпидемиологические исследования, установившие взаимосвязь средневолнового диапазона УФ-излучения (UVB, длина волны 290–315 нм), присутствующего в солнечном свете, с образованием помутнений в хрусталике [4]. Существует предположение, что в процесс развития заболевания вовлечены липиды хрусталика глаза, несмотря на их небольшое содержание (1 %). В частности, известно, что длительное воздействие солнечного света увеличивает риск возникновения катаракты за счёт перекисного окисления жирных кислот, входящих в состав клеточной мембраны хрусталиковых клеток [5].

Одним из активно изучаемых ферментов, участвующих в регуляции метаболизма жирных кислот, является мембраносвязанная стеарил-коэнзим-А-десатураза (SCD1, *stearoyl-coenzyme A desaturase-1*; EC 1.14.19.1). Данный фермент катализирует реакцию, в ходе которой происходит превращение насыщенных жирных кислот в мононенасыщенные. Как правило, реакции десатурации подвергаются стеариновая и пальмитиновая кислоты с образованием олеиновой и пальмитолеиновой соответственно [6]. Известно, что соотношение жирных кислот, в частности стеариновой, к олеиновой кислоте влияет на вязкость липидного бислоя мембраны клеток. По этой причине, SCD1 жизненно необходима для поддержания структурной целостности и текучести мембран. Зарубежными учёными было установлено, что изменение уровня десатураз в организме человека и животных связано с развитием офтальмологических патологий [7, 8].

Помимо этого, согласно современным литературным сведениям, в офтальмологии активно обсуждается роль мелатонина для нормальной и патологической деятельности зрительной системы [9, 10]. Мелатонин представляет собой гормон, который секретируется эпифизом в соответствии с циркадианным ритмом и регулирует хронобиологические процессы организма, включающие эндокринные и неэндокринные функции [11]. Другие функции мелатонина связаны с окислительно-восстановительным статусом клеток и тканей и вклю-

чают его антиоксидантные и противовоспалительные свойства [12]. Следует отметить, что мелатонин вырабатывается не только в эпифизе – его синтез обнаружен во многих органах и тканях. С помощью специфических антител к мелатонину было обнаружено его присутствие практически во всех биологических жидкостях, включая ликвор, слюну, желчь, околоплодные воды, грудное молоко и слёзную жидкость [11]. Мелатонин обнаружен и в структурах глазного яблока – цилиарном теле, хрусталике и сетчатке [13].

Рабочая гипотеза исследования базируется на предположении о том, что десатуразы и мелатонин участвуют в катарактогенезе. В связи с этим оценка уровней данных ферментов в гомогенатах хрусталиков является необходимым шагом в исследовании функционального состояния зрительного анализатора.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить метаболические изменения в мутнеющем хрусталике на экспериментальной модели.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были проведены в экспериментально-биологической клинике (виварий) ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН» и ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России. Эксперимент выполнен на модели крыс линии Wistar в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009), а также согласно рекомендациям «The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)». Дизайн эксперимента был одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН» (протокол № 4 от 05.02.2019).

Для проведения эксперимента было отобрано 60 крыс-самцов массой 180–200 г в возрасте 10 месяцев. Из отобранных животных методом пар-аналогов были сформированы две группы: контрольная ($n = 30$) и опытная ($n = 30$). Животным опытной группы моделировали возрастную катаракту путём ежедневного ультрафиолетового облучения с помощью ртутной газоразрядной лампы ДРЛ ($\lambda = 300\text{--}350$ нм). Время экспозиции составляло 20 минут в течение 6 месяцев.

Животных содержали на стандартном рационе (согласно ГОСТ Р 50258-92), со свободным доступом к воде и пище, при температуре 22 ± 1 °C и 12-часовом освещении.

На 2-й, 4-й и 6-й месяцы исследования проводилось биомикроскопическое обследование переднего отдела глаза животных с помощью щелевой лампы BQ 900 (Haag-Streit, Швейцария) с целью наблюдения за развитием катаракты; выделяли хрусталики, которые далее го-

могенизировали на льду в стерильном физиологическом растворе (в соотношении 1:20 – к 1 мл раствора добавляли 20 мг образца ткани) для определения содержания стеарил-коэнзим-А-десатуразы и мелатонина с помощью иммуноферментного анализа с использованием наборов Rat SCD (Stearoyl Coenzyme A Desaturase) Elisa Kit и Rat MT (Melatonin) Elisa Kit в соответствии с инструкцией.

Обработку полученных данных проводили при помощи методов вариационной статистики с использованием статистического пакета Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Проверку соответствия полученных данных нормальному закону распределения проводили при помощи критерия согласия Колмогорова. Гипотеза о принадлежности данных нормальному распределению отклонена во всех случаях с вероятностью 95 %, что обосновало применение непараметрических процедур обработки статистических совокупностей (U-критерий Манна – Уитни). Полученные данные представлены в виде медианы (Me) и 25-го и 75-го центилей (Q_{25} – Q_{75}). Взаимосвязи между параметрами оценивали при помощи метода ранговых корреляций Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно биомикроскопическому обследованию глазного яблока, в течение первого месяца ультрафио-

летового облучения у лабораторных животных не обнаруживалось клинических признаков развития катаракты. Только к концу 2-го месяца экспозиции ультрафиолетом у крыс развивалась начальная субкапсулярная катаракта, характеризовавшаяся неоднородностью хрусталиковых волокон. На 4-й месяц экспозиции, по данным анализа глаза с помощью щелевой лампы, признаки субкапсулярной катаракты стали более выраженными, и к 6-му месяцу облучения у животных наблюдались признаки зрелой катаракты – отмечалось помутнение хрусталика у экватора и в центре во всех слоях (рис. 1).

Анализ результатов иммуноферментного анализа показал, что у животных опытной группы содержание SCD1 в гомогенатах хрусталиков в течение всего эксперимента было статистически значимо ниже, чем в контроле (рис. 2).

При сравнении центильных значений было установлено, что Q_{75} опытной группы ниже Q_{25} контрольной группы на 38 % ($p \leq 0,05$) на стадии начальной катаракты (2-й месяц наблюдений), на 30 % ($p \leq 0,001$) – на стадии незрелой катаракты (4-й месяц), на 15,4 % ($p \leq 0,05$) – на стадии зрелой катаракты (6-й месяц). Следует отметить, что на 4-м месяце эксперимента диапазон концентраций фермента SCD1 был самым широким, при этом значение 25-го центиля было ниже аналогичного показателя на 2-м и 6-м месяцах наблюдений более чем в 2 раза.

У животных опытной группы содержание мелатонина в гомогенатах хрусталиков на протяжении всего

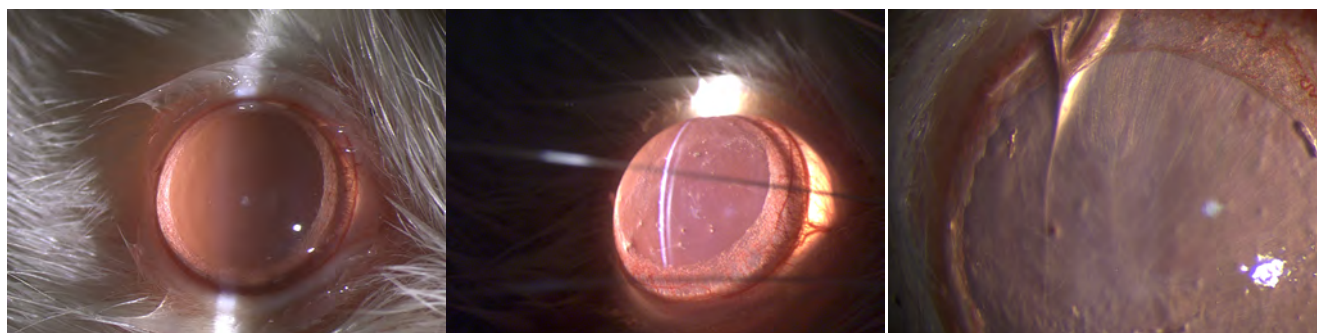
Контрольная группа



Наблюдение через 2 месяца эксперимента

Наблюдение через 4 месяца эксперимента

Наблюдение через 6 месяцев эксперимента



Опытная группа

РИС. 1.
Биомикроскопия хрусталика на этапах эксперимента

FIG. 1.
Biomicroscopy of the lens at the different stages of the experiment

эксперимента было стабильным, но несколько ниже, чем в контроле. Однако на фоне развития зрелой катаракты (6-й месяц) концентрация мелатонина в опытной группе статистически значимо снизилась относительно контрольных значений: значение медианы было ниже на 17 %; Q_{75} опытной группы был меньше Q_{25} контрольной группы на 5 % ($p \leq 0,05$) (рис. 3).

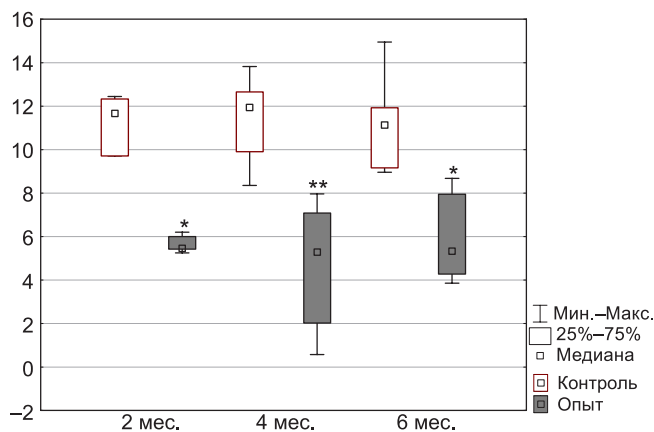


РИС. 2.
Содержание стеарил-коэнзим-А-десатуразы в гомогенатах хрусталиков: статистически значимая разница между опытной группой и контролем * – при $p \leq 0,05$, ** – при $p \leq 0,01$; данные представлены в виде Ме (Q_{25} – Q_{75})

FIG. 2.
Content of stearyl-coenzyme A desaturase in eye lens homogenates: statistically significant difference between the experimental group and the control * – at $p \leq 0,05$, ** – at $p \leq 0,01$; data are presented as Me (Q_{25} – Q_{75})

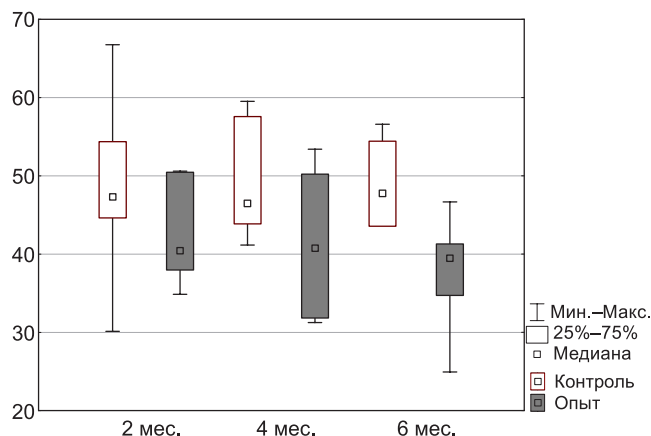


РИС. 3.
Содержание мелатонина в гомогенатах хрусталиков: * – статистически значимая разница между опытной группой и контролем ($p \leq 0,05$); данные представлены в виде Ме (Q_{25} – Q_{75})

FIG. 3.
Melatonin content in eye lens homogenates: * – statistically significant difference between the experimental group and the control at $p \leq 0,05$; data are presented as Me (Q_{25} – Q_{75})

Проведённый корреляционный анализ позволил установить наличие положительной умеренной ассо-

циации между мелатонином и SCD1 ($r = 0,32$; $p \leq 0,05$) в гомогенатах хрусталиков (рис. 4). Как видно из представленного графика, чем выше уровень мелатонина, тем выше уровень десатураз.

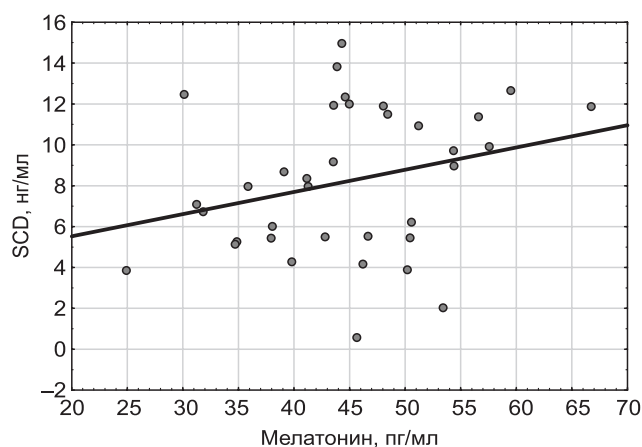


РИС. 4.
Корреляционная взаимосвязь между мелатонином и стеарил-коэнзим-А-десатуразой в гомогенатах хрусталиков

FIG. 4.
Correlation between melatonin and stearyl-coenzyme A desaturase in eye lens homogenates

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования было установлено, что через 2 месяца ультрафиолетового облучения происходило статистически значимое снижение уровня SCD1 в гомогенатах хрусталиков животных более чем на 30 %. Подобный факт может быть обусловлен защитно-компенсаторной реакцией организма, направленной на обеспечение правильного функционирования элементов системы в условиях, превышающих норму адаптации, за счёт реакции структур самой системы [14]. Как известно, в организме поддерживается физиологически благоприятная текучесть мембран путём изменения соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Ультрафиолетовое излучение способствует активации процессов окисления и кумуляции продуктов фотолиза. В первую очередь перекисному окислению подвергаются липиды, содержащие ненасыщенные жирные кислоты. Это связано с тем, что в их состав входит π-связь, которая является менее прочной по сравнению с σ-связью и легче разрывается при химических реакциях [15]. В результате этого идёт потеря фосфолипидов (фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины), в состав которых входят преимущественно ненасыщенные жирные кислоты. С целью придания устойчивости к окислению и поддержанию прозрачности мембран хрусталика происходит насыщение ацильных цепей фосфолипидов, увеличивается содержание липидов с остатками предельных жирных кислот [16, 17]. Подобные процессы обеспечивают относительную физическую и химическую стабильность

мембран, жёсткость и устойчивость к перекисидации. Это и обосновывает физиологическое компенсаторное снижение концентрации фермента SCD1, катализирующего биосинтез ненасыщенных жирных кислот. Следует отметить, что установленное повышение содержания SCD1 на 6-м месяце эксперимента по сравнению со 2-м и 4-м месяцами, возможно, свидетельствует об адаптационных процессах в ответ на стрессовый фактор, а также о высокой метаболической гибкости данного фермента. Вероятно, это связано с тем, что в процессе перекисного окисления текучесть мембран клеток снижается, но остаётся в определённом интервале благодаря действию десатураз. С другой стороны, можно предположить, что активность десатуразы в клетках хрусталика подвержена циклическим изменениям, позволяющим сохранить постоянный ионный состав в клетках и мембранный потенциал, тем самым препятствуя развитию катаракты [18, 19]. Тем не менее, результаты исследований китайских учёных показывают, что ингибирование SCD1 может быть вовлечено в катарактогенез посредством изменения липидного состава хрусталика [20]. В исследованиях, проведённых нами ранее, было показано, что на фоне развития катаракты повышается содержание насыщенной пальмитиновой кислоты и снижается уровень ненасыщенной линолевой кислоты [21]. Подобные изменения обеспечивают повышение «жёсткости» мембран, что способствует защите клеток от окислительного стресса. Однако наравне с этим изменяется соотношение предельных и непредельных жирных кислот, что приводит к нарушению текучести и структурной целостности клеточных мембран хрусталика и, как следствие, к развитию катаракты. Таким образом, хроническое воздействие неблагоприятных факторов внешней среды на организм, как правило, вызывает напряжение механизмов регуляции, следствием чего может явиться срыв компенсаторных реакций, приводящий к так называемому состоянию дистресса, на фоне которого происходит разбалансировка регуляторных систем организма и развития болезни. Предполагается, что нарушение липидного обмена и повреждение мембран клеток является ведущим звеном в процессе изменения оптических и физических свойств хрусталика.

Выявленное в ходе эксперимента снижение уровня мелатонина в исследуемых биообразцах вполне оправдано. Как известно, в физиологических концентрациях данный гормон защищает клетки от окислительного стресса, связывая гидроксильные радикалы, которые образуются при перекисном окислении липидов, а также стимулируя экспрессию генов антиоксидантов и ингибируя гены прооксидантных ферментов [22]. В ряде экспериментальных исследований было выявлено, что мелатонин способен подавлять развитие катаракты [23–25]. Например, в исследовании турецких учёных было установлено, что внутрибрюшинное введение мелатонина снижало проявления окислительного стресса и способствовало восстановлению оптических свойства хрусталика после УФ-облучения [26]. Таким образом, снижение концентрации данного гормона в гомогенатах хрусталиков обусловлено высокой продукцией активных

форм кислорода. Полученные результаты исследования свидетельствуют также о том, что антиоксидантная система не справляется с прогрессированием катаракты.

Весьма интересен факт наличия прямой корреляционной связи между содержанием мелатонина и SCD1 в хрусталиковых клетках. Возможно, данная ассоциация обусловлена тем, что мелатонин в данном случае выступает, как было описано ранее, в качестве сильного антиоксиданта, обладающего прямыми и косвенными противоокислительными свойствами [27]. Благодаря данным свойствам мелатонина, в хрусталиковых клетках снижается уровень активных форм кислорода, за счёт чего увеличивается концентрация фермента SCD1 и происходит нормализация соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, тем самым восстанавливая функциональную активность мембран. Таким образом, мы предполагаем, что чем выше уровень мелатонина, тем выше степень защиты клеток от окислительного стресса, а следовательно, и выше уровень ненасыщенных жирных кислот и десатураз. Интересно отметить, что в 1981 г. Д.Ф. Хорробин в журнале «Медицинские гипотезы» выделил мелатонин как один из факторов регуляции десатураз [28]. Так, в 2000-х гг. японские учёные показали, что введение мелатонина крысам с сахарным диабетом 2-го типа способствовало восстановлению активности одной из изоформ данного фермента – печёночной Δ -5-десатуразы, что в свою очередь приводило к нормализации соотношения жирных кислот в плазме крови и печени [29]. Помимо этого, существуют данные, что активность ферментов изоферментов Δ -5- и Δ -6-десатураз играет важную роль в экспрессии и регуляции самого мелатонина [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог проведённому исследованию, следует заключить, что фермент стеарил-коэнзим-А-десатураза и гормон мелатонин играют важную роль в ряде биохимических процессов, обеспечивающих правильное функционирование зрительного анализатора. В ходе исследования было отмечено, что на стадии начальной катаракты содержание стеарил-коэнзим-А-десатуразы статистически значимо ниже контрольных значений на 38 %, на стадии незрелой катаракты – на 30 %, на стадии зрелой катаракты – на 15,4 %. Выявлено, что при формировании зрелой катаракты концентрация мелатонина в гомогенатах хрусталиков статистически снижается на 17 % при сравнении с контролем. Установлено наличие статистически значимой корреляционной зависимости между стеарил-коэнзим-А-десатуразой и мелатонином ($r = 0,32$). Изменение концентрации данных биологических молекул может играть ключевую роль в патогенезе катаракты и ряда других офтальмологических заболеваний.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Королева И.А., Егоров Е.А. Возрастная катаракта: профилактика и лечение. *РМЖ. Клиническая офтальмология*. 2018; 4: 194-198. [Koroleva IA, Egorov EA. Age-related cataract: Prevention and treatment. *RMJ "Clinical ophthalmology"*. 2018; 4: 194-198. (In Russ.)]. doi: 10.21689/2311-7729-2018-18-4-194-198
2. Егоров В.В., Сорокин Е.Л., Смолякова Г.П., Коленко О.В. *Катаракта. Диагностические ошибки при направлении пациентов на хирургическое лечение*. Хабаровск: Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения; 2020. [Egorov VV, Sorokin EL, Smolyakova GP, Kolenko OV. *Cataract. Diagnostic errors when referring patients for surgical treatment*. Khabarovsk: Institute for Advanced Training of Healthcare Specialists; 2020. (In Russ.)].
3. Брагин Е.В. Обзор факторов риска развития старческой катаракты. *Анализ риска здоровью*. 2018; 1: 113-125. [Bragin EV. Risk factors which cause senile cataract evolution: Outline. *Health Risk Analysis*. 2018; 1: 113-125. (In Russ.)]. doi: 10.21668/health.risk/2018.1.13
4. Gibling FJ, Lin LR, Leverenz VR, Dang L. A class I (Senofilcon A) soft contact lens prevents UVB-induced ocular effects, including cataract, in the rabbit *in vivo*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52(6): 3667-3675. doi: 10.1167/iovs.10-6885
5. Borchman D. Lipid conformational order and the etiology of cataract and dry eye. *J Lipid Res*. 2021; 62: 100039. doi: 10.1194/jlr
6. Чупров А.Д., Ким С.М., Казакова Т.В. Участие Δ9-десатураз в регуляции обменных процессов. *Медицина*. 2021; 19(2): 1-17. [Chuprov AD, Kim SM, Kazakova TV. Δ9-desaturases in the regulation of metabolic processes. *Medicine*. 2021; 19(2): 1-17. (In Russ.)]. doi: 10.29234/2308-9113-2021-9-2-1-17
7. Inaba T, Tanaka Y, Tamaki S, Ito T, Ntambi JM, Tsubota K. Compensatory increases in tear volume and mucin levels associated with meibomian gland dysfunction caused by stearoyl-CoA desaturase-1 deficiency. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 3358. doi: 10.1038/s41598-018-21542-3
8. Iida T, Ubukata M, Mitani I, Nakagawa Y, Maeda K, Imai H, et al. Discovery of potent liver-selective stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD1) inhibitors, thiazole-4-acetic acid derivatives, for the treatment of diabetes, hepatic steatosis, and obesity. *Eur J Med Chem*. 2018; 158: 832-852. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.09.003
9. Ostrin LA. Ocular and systemic melatonin and the influence of light exposure. *Clin Exp Optom*. 2019; 102(2): 99-108. doi: 10.1111/cxo.12824
10. Blasiak J, Reiter RJ, Kaarniranta K. Melatonin in retinal physiology and pathology: The case of age-related macular degeneration. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 6819736. doi: 10.1155/2016/6819736
11. Acuña-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Díaz-Casado ME, Lima-Cabello E, López LC, et al. Extrapineal melatonin: Sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol Life Sci*. 2014; 271(16): 2997-3025. doi: 10.1007/s00018-014-1579-2
12. Lo Sardo F, Muti P, Blandino G, Strano S. Melatonin and hippo pathway: Is there existing cross-talk? *Int J Mol Sci*. 2017; 18(9): 1913. doi: 10.3390/ijms18091913
13. Blasiak J, Reiter RJ, Kaarniranta K. Melatonin in retinal physiology and pathology: The case of age-related macular degeneration. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 6819736. doi: 10.1155/2016/6819736
14. Кривошеков С.Г., Леутин В.П., Диверт В.Э., Диверт Г.М., Платонов Я.Г., Ковтун Л.Т. и др. Системные механизмы адаптации и компенсации. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2004; 2(212): 148-153. [Krivoshchekov SG, Leutin VP, Divert VE, Divert GM, Platonov YaG, Kovtun LT, et al. System mechanisms of adaptation and compensation. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2004; 2(212): 148-153. (In Russ.)].
15. Травень В.Ф. *Органическая химия*. М.: ИКЦ «Академкнига»; 2004. [Traven VF. *Organic chemistry*. Moscow: Akademkniga; 2004. (In Russ.)].
16. Borchman D. Lipid conformational order and the etiology of cataract and dry eye. *J Lipid Res*. 2021; 62: 100039. doi: 10.1194/jlr.TR120000874
17. Borchman D, Yappert MC. Lipids and the ocular lens. *J Lipid Res*. 2010; 51(9): 2473-2488. doi: 10.1194/jlr.R004119
18. Мирошниченко И.В., Треушников В.М., Чупров А.Д. О процессах в хрусталиках и механизмах их функционирования, препятствующих развитию катаракт. *Медицина*. 2019; 3: 1-36. [Miroshnichenko IV, Treushnikov VM, Chuprov AD. Processes in crystalline lens and mechanisms of their functioning, preventing cataract progression. *Medicine*. 2019; 3: 1-36. (In Russ.)]. doi: 10.29234/2308-9113-2019-7-3-1-36
19. Чупров А.Д., Треушников В.М., Нотова С.В., Ким С.М., Маршинская О.В., Казакова Т.В. Уровень стеарил-коэнзим-А-десатуразы в хрусталиках глаз крыс при прогрессировании катаракты. *Вопросы экспериментальной биологии и медицины*. 2020; 23(8): 48-51. [Chuprov AD, Treushnikov VM, Notova SV, Kim SM, Marshinskaya OV, Kazakova TV. The level of stearoyl-CoA-desaturase in the lenses of rat eyes in cataract progression. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2020; 23(8): 48-51. (In Russ.)]. doi: 10.29296/25877313-2020-08-07
20. Yabunaka A, Miyawaki I, Toyosawa K, Kunimatsu T, Kimura J, Funabashi H. Involvement of stearoyl-CoA desaturase in cataractogenesis – phenotypic analysis using SCD1-null mice. *J Toxicol Sci*. 2012; 38(2): 470. doi: 10.14869/toxpt.39.2.0.AP-204.0
21. Кудрявцева Ю.В., Чупров А.Д., Иванова И.П. Взаимосвязь липидов и белков хрусталика. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2010; 12: 120-123. [Kudryavtseva YuV, Chuprov AD, Ivanova IP. Relationship between lipids and lens proteins. *Bulletin Orenburg State University*. 2010; 12: 120-123. (In Russ.)].
22. Центерадзе С.Л., Полуэктов М.Г. Клинические аспекты применения препаратов мелатонина. *Медицинский совет*. 2021; 10: 80-84. [Tsenteradze SL, Poluektov MG. Therapeutic aspects of melatonin applications. *Medical Council*. 2021; (10): 80-84. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2021-10-80-84
23. Kiliç A, Selek S, Erel O, Aksoy N. Protective effects of melatonin on oxidative-antioxidative balance and cataract formation in rats. *Ann Ophthalmol (Skokie)*. 2008; 40(1): 22-27.
24. Huang H, Wang Z, Weng SJ, Sun XH, Yang XL. Neuro-modulatory role of melatonin in retinal information processing. *Prog Retin Eye Res*. 2013; 32: 64-87. doi: 10.1016/j.preteyeres.2012.07.003
25. Арушанян Э.Б., Ованесов К.Б. Значение мелатонина для физиологии и патологии глаза. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2016; 11(1): 126-133. [Arushanyan EB, Ovanesov KB. The role of melatonin for physiology and pathology

of an eye. Medical news of the North Caucasus. 2016; 11(1): 126-133. (In Russ.)). doi: 10.14300/mnnc.2016.11017

26. Bardak Y, Ozertürk Y, Özgüner F, Durmuş M, Delibaş N. Effect of melatonin against oxidative stress in ultraviolet-B exposed rat lens. *Curr Eye Res*. 2000; 20(3): 225-230.

27. Каладзе Н.Н., Соболева Е.М., Скоромная Н.Н. Итоги и перспективы изучения физиологических, патогенетических и фармакологических эффектов мелатонина. *Здоровье ребенка*. 2010; 2(23): 156-166. [Kaladze NN, Soboleva YeM, Skoromnaya NN. Results and perspectives of study of physiological, pathogenetic and pharmacological effects of melatonin. *Child's Health*. 2010; 2(23): 156-166. (In Russ.)].

28. Horrobin DF. Loss of delta-6-desaturase activity as a key factor in aging. *Med Hypotheses*. 1981; 7(9): 1211-1220. doi: 10.1016/0306-9877(81)90064-5

29. Nishida S, Segawa T, Murai I, Nakagawa S. Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of Delta-5 desaturase activity. *J Pineal Res*. 2002; 32(1): 26-33. doi: 10.1034/j.1600-079x.2002.10797.x

30. Das UN. A defect in the activity of Delta6 and Delta5 desaturases may be a factor predisposing to the development of insulin resistance syndrome. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005; 72(5): 343-350. doi: 10.1016/j.plefa.2005

Сведения об авторах

Чупров Александр Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, Оренбургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; заведующий кафедрой медико-биологической техники, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», e-mail: office@mail.ofmntk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7011-4220>

Нотова Светлана Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры биохимии и микробиологии, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», e-mail: snotova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6378-4522>

Маршинская Ольга Владимировна – старший научный сотрудник, Оренбургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: m.olja2013@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5611-5128>

Казакова Татьяна Витальевна – старший научный сотрудник, Оренбургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: vaisvais13@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3717-4533>

Information about the authors

Aleksandr D. Chuprov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Orenburg Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Head of the Department of Biomedical Engineering, Orenburg State University, e-mail: office@mail.ofmntk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7011-4220>

Svetlana V. Notova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor at the Department of Biochemistry and Microbiology, Orenburg State University, e-mail: snotova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6378-4522>

Olga V. Marshinskaya – Senior Research Officer, Orenburg branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: m.olja2013@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5611-5128>

Tatiana V. Kazakova – Senior Research Officer, Orenburg branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: vaisvais13@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3717-4533>

ПЕДИАТРИЯ PEDIATRICS

ПРИЧИНЫ РАЗВИТИЯ ВНУТРИЖЕЛУДОЧКОВЫХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ У ГЛУБОКО НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЁННЫХ И ОСОБЕННОСТИ ИХ РАННИХ ИСХОДОВ

Кочерова В.В.,
Попова Н.Г.,
Щербак В.А.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная
медицинская академия» Минздрава
России (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а,
Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кочерова Виктория Владимировна,
e-mail: micropediatr@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить предрасполагающие факторы развития и сроки реализации внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) у глубоко недоношенных новорождённых.

Материалы и методы. Ретроспективно проанализированы 32 истории болезни детей, рождённых на сроке гестации менее 32 недель. Дети были разделены на три группы: 1-я группа ($n = 13$) – дети, причиной смерти которых стало нетравматическое ВЖК; 2-я группа ($n = 12$) – выжившие младенцы с ВЖК; 3-я группа (сравнения; $n = 7$) – недоношенные дети, у которых не развились ВЖК. Оценивали факторы риска развития ВЖК, их тяжесть, основные показатели, предрасполагающие к летальному исходу у новорождённых этих групп.

Результаты. У детей 1-й группы получены статистически значимо низкие показатели массы тела – 670 [640–860] г ($p_{1-2} = 0,007$; $p_{1-3} = 0,012$), окружности головы – 23 [22–24] см ($p_{1-2} = 0,008$; $p_{1-3} = 0,049$), срока гестации – 24,5 [23,5–25,5] недели ($p_{1-2} = 0,002$; $p_{1-3} = 0,007$). Выявлены гендерные различия: в 1-й группе преобладали мальчики (92,3 %), во 2-й группе их доля составила 33,3 % ($p_{1-2} = 0,008$). Увеличивали риск ВЖК с летальным исходом курение матери – в $3,5 \pm 0,15$ раза, многоводие – в $3,3 \pm 0,37$ раза, хорио-амнионит – в $12,8 \pm 0,47$ раза, предлежание плаценты – в $3,2 \pm 0,15$ раза. У детей 1-й группы судороги развились в 1-е сутки жизни у 84,6 % (чаще, чем во 2-й группе; $p = 0,00001$), а шок в первые 3 часа жизни регистрировался у 46,1 % ($p_{1-2} = 0,034$), повышая риск летального исхода в $4,3 \pm 0,47$ раза. У детей 1-й группы по сравнению с детьми 2-й и 3-й групп была чаще выявлена лёгочная гипертензия (60,8 [50,1–69,2] мм рт. ст.; $p_{1-2} = 0,028$; $p_{1-3} = 0,047$).

Заключение. Наличие инфекционных заболеваний у матери, клиническое проявление судорог, лёгочной гипертензии, развитие полиорганной недостаточности и шока у глубоко недоношенных новорождённых увеличивают риск реализации ВЖК и частоту летальных исходов.

Ключевые слова: недоношенность, внутрижелудочковые кровоизлияния, факторы риска

Для цитирования: Кочерова В.В., Попова Н.Г., Щербак В.А. Причины развития внутрижелудочковых кровоизлияний у глубоко недоношенных новорождённых и особенности их ранних исходов. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 179-187. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.18

Статья поступила: 19.11.2023

Статья принята: 03.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

CAUSES OF INTRAVENTRICULAR HEMORRHAGES IN EXTREMELY PREMATURE NEWBORNS AND FEATURES OF THEIR EARLY OUTCOMES

Kocherova V.V.,
Popova N.G.,
Shcherbak V.A.

Chita State Medical Academy
(Gorkogo str. 39A, Chita 672000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Viktoria V. Kocherova,
e-mail: micropediatr@mail.ru

ABSTRACT

The aim. To study the predisposing factors for the development and timing of development of intraventricular hemorrhage (IVH) in extremely premature newborns.

Materials and methods. We carried out retrospective analysis of 32 case histories of children born at a gestational age of less than 32 weeks. The children were divided into three groups: group 1 ($n = 13$) – children death was caused by non-traumatic IVH; group 2 ($n = 12$) – surviving infants with IVH; group 3 (comparison group; $n = 7$) – premature infants without IVH. We assessed risk factors for the development of IVH, their severity, and main indicators predisposing to death in newborns of these groups.

Results. Children of the group 1 had statistically significantly low values of body weight – 670 [640–860] g ($p_{1-2} = 0.007$; $p_{1-3} = 0.012$), head circumference – 23 [22–24] cm ($p_{1-2} = 0.008$; $p_{1-3} = 0.049$), gestational age – 24.5 [23.5–25.5] weeks ($p_{1-2} = 0.002$; $p_{1-3} = 0.007$). Gender differences were revealed: in the group 1, there were 92.3 % of boys, in the group 2 – 33.3 % ($p_{1-2} = 0.008$). Maternal smoking increased the risk of fatal IVH by 3.5 ± 0.15 times, polyhydramnios – by 3.3 ± 0.37 times, chorioamnionitis – by 12.8 ± 0.47 times, placenta previa – by 3.2 ± 0.15 times. In newborns of the group 1, seizures developed on the day 1 of life in 84.6 % (more often than in group 2; $p = 0.00001$), and shock in the first 3 hours of life was recorded in 46.1 % of cases ($p_{1-2} = 0.034$), which increased the risk of death by 4.3 ± 0.47 times. In newborns of group 1, compared with newborns of groups 2 and 3, pulmonary hypertension was more often detected (60.8 [50.1–69.2] mm Hg; $p_{1-2} = 0.028$; $p_{1-3} = 0.047$).

Conclusion. Confirmed infectious diseases in the mother, clinical manifestation of convulsions, pulmonary hypertension, development of multiple organ failure and shock in extremely premature newborns increase the risk of intraventricular hemorrhage and the frequency of deaths.

Key words: prematurity, intraventricular hemorrhage, risk factors

Received: 19.11.2023
Accepted: 03.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Kocherova V.V., Popova N.G., Shcherbak V.A. Causes of intraventricular hemorrhages in extremely premature newborns and features of their early outcomes. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 179–187. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.18

Рождение детей раньше срока остаётся важной медицинской проблемой. Особую группу новорождённых, требующих применения современных медицинских технологий по выхаживанию, составляют младенцы со сроком гестации (СГ) менее 32 недель. У недоношенных детей с очень и экстремально низкой массой тела чаще всего реализуются жизнеугрожающие заболевания, одними из которых являются внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) гипоксического и геморрагического генеза [1–3].

По данным европейских исследователей, наибольшая частота ВЖК нетравматического генеза связана с самим фактом недоношенности, то есть с анатомо-физиологическими, морфологическими особенностями строения сосудистой стенки герминативного матрикса головного мозга, несовершенством ауторегуляции мозгового кровотока, состояния системы гемостаза преждевременно родившихся младенцев. Усугубляют вероятность реализации нетравматического ВЖК состояния, сопровождающиеся хронической внутриутробной гипоксией, асфиксией при рождении, развитием гипокоагуляции, в том числе первичные коагулопатии, генерализованные гнойно-септические и вирусные заболевания [4, 5]. Коагуляционные механизмы у детей, родившихся раньше срока, отличаются низким гемостатическим потенциалом, что отражено в исследованиях Р. Monagle и соавт. [6]. По мере нарастания гестационного возраста (ГВ) вероятность ВЖК снижается, что, безусловно, связано с нейрональной и миграционной регрессией герминативного матрикса. С этим и связана тектоника локализаций ВЖК разного ГВ. Наиболее важным независимым фактором риска ВЖК является ГВ. На 28–32-й неделе СГ герминативный матрикс дольше всего сохраняется на поверхности головки хвостатого ядра и в каудоталамической борозде, и именно в этой области формируются кровоизлияния у детей с таким ГВ [7].

Вышеуказанные факторы объясняют отрицательную связь между частотой реализации ВЖК и степенью их тяжести у глубоко недоношенных детей. ВЖК диагностируются у 20–30 % глубоко недоношенных новорождённых с ГВ менее 29 недель и повышают частоту летальных исходов [8–11]. В США среди причин неонатальной смертности доля ВЖК составляет 1,7 % [12, 13].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить предрасполагающие факторы развития и сроки реализации внутрижелудочковых кровоизлияний у глубоко недоношенных новорождённых.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в отделении реанимации новорождённых ГБУЗ «Забайкальский краевой перинатальный центр» (г. Чита). Ретроспективно за период

2020–2021 гг. у 32 недоношенных новорождённых с ГВ менее 32 недель оценены факторы риска со стороны матери и самого ребёнка, для чего использованы учётные формы: № 096/у-20 «Медицинская карта беременной, роженицы и родильницы, получающей медицинскую помощь в стационарных условиях», форма № 097у «История развития новорождённого». У матерей изучались показатели соматического здоровья, акушерско-гинекологический анамнез, особенности течения текущей беременности и родов.

Оценивались гестационные, антропометрические, половые особенности исследуемых новорождённых детей, изучались показатели шкалы Апгар, дыхательных нарушений, сердечно-сосудистой недостаточности, гемостазиологических (коагулограмма в первые часы после рождения), метаболических и электролитных отклонений (венозная и капиллярная кровь), использовались общеклинические методы лабораторной диагностики (кровь, моча), а также методы лечебных мероприятий с целью купирования выявленных отклонений. Исследование венозной крови на коагулограмму проведено на аппарате STA Compact Max (Stago, Франция), результаты сопоставлялись с референсными значениями, приведёнными в инструкции к данному прибору. С целью выявления причин гипокоагуляции проанализированы заболевания младенцев, сопровождающиеся влиянием на гемостаз, и развитием ВЖК.

Рентгенологические обследования проводились с целью верификации причин дыхательных нарушений, входили в стандарт обследования новорождённых с врождённой пневмонией или респираторным дистресс-синдромом. Исследование проводилось на аппаратуре, входящей в оснащение перинатального центра. Эхокардиография выполнялась всем новорождённым для оценки гемодинамических изменений, в том числе лёгочной гипертензии, определения объёма медикаментозной терапии, исключения пороков развития сердца и инфекционного поражения миокарда.

Диагноз ВЖК выставлялся после проведения нейросонографического (НСГ) обследования на аппарате ALOKA SSD 1700 (Hitachi, Япония) [14]. Степень тяжести кровоизлияния определялась согласно классификации М. Levene и соавт. [15, 16] и К.В. Ватолина и соавт. [17, 18]. Причина летального исхода подтверждалась результатами аутопсий по Д.А. Дускалиеву и соавт. [19].

Критериями включения явились: недоношенность на сроке менее 32 недель; развитие у детей нетравматического ВЖК разной степени выраженности.

Дети были разделены на группы:

1-я группа – недоношенные новорождённые с летальным исходом, причиной смерти которых послужили нетравматическое ВЖК и постгеморрагическая гидроцефалия ($n = 13$).

2-я группа – недоношенные младенцы с развитием ВЖК, которые выжили ($n = 12$).

Критерии включения в группу сравнения (3-я группа): недоношенность; СГ менее 32 недель; отсутствие ВЖК ($n = 7$).

Критерии не включения: недоношенность на сроке более 32 недель гестации; наличие врождённых пороков развития; летальные случаи, причиной которых были генерализованные инфекционные заболевания, аноксия ($n = 6$).

Статистическая обработка проводилась с помощью программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США), MS Excel 2010 (Microsoft Corp., США). Группы детей сравнивались на нормальность распределения методом Колмогорова – Смирнова. Ввиду ненормальности распределения в группах описание приведено в виде медианы (Me) и 25–75-го квантилей. Сравнение непараметрических показателей проведено с использованием критерия Фишера. Оценка факторов риска проводилась с помощью расчёта отношения шансов (ОШ) \pm стандартная ошибка (SE, standard error) [95%-й доверительный интервал (95% ДИ)]. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$. Для прогнозирования неблагоприятного исхода проведён расчёт модели логистической регрессии (логит-регрессии), в уравнение включались показатели со статистически значимым результирующим признаком [20].

В работе были соблюдены этические нормы; участники подписывали добровольное информированное согласие; работа получила одобрение этического комитета ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 128 от 14.11.2023).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика групп исследования представлена в таблице 1. При оценке антропометрических показателей младенцы с летальным исходом и диагностированным ВЖК имели самые низкие показатели массы и длины тела, окружности головы, груди и гестационные особенности в сравнении с новорождёнными 2-й и 3-й групп. Колебания массы в 1-й группе составили 490–990 г, во 2-й группе – 540–1400 г, в группе без ВЖК – 800–1300 г со статистически значимым различием ($p_{1-2} = 0,007$; $p_{1-3} = 0,012$). Длина тела младенцев имела размах от 28 до 37 см и соответствовала средним перцентильным показателям для пола и ГВ, но не имела статистически значимых различий в группах сравнения.

Рост младенцев имел диапазон от 28 до 37 см и соответствовал средним перцентильным показателям для пола и ГВ, но не имел статистически значимых различий в группах сравнения. Показатели окружности головы были статистически значимо ниже в 1-й группе и составляли от 21 до 27 см, во 2-й группе Me составила 24,2 см (от 22 до 28 см; $p_{1-2} = 0,008$), в 3-й группе Me = 26 см (от 23 до 29 см; $p_{1-3} = 0,049$). Окружность груди меньших размеров также выявлена у младенцев 1-й группы – от 18 до 24 см ($p_{1-2} = 0,041$), во 2-й группе – от 15 до 24 см, в 3-й группе – от 18 до 27 см. Малые ан-

ТАБЛИЦА 1

АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИЕ, ГЕСТАЦИОННЫЕ И ПОЛОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

TABLE 1

ANTHROPOMETRIC, GESTATIONAL AND GENDER INDICATORS OF THE STUDIED GROUPS

Показатели	Группы сравнения, Me [Q25–Q75]			p
	1-я группа ($n = 13$)	2-я группа ($n = 12$)	3-я группа ($n = 7$)	
Вес, г	670 [640–860]	960 [845–985]	940 [870–1260]	$p_{1-2} = 0,007^*$ $p_{2-3} = 0,703^*$ $p_{1-3} = 0,012^*$
Рост, см	31 [30–33]	33 [30–35,5]	34 [33–38]	$p_{1-2} = 0,513^*$ $p_{2-3} = 0,204^*$ $p_{1-3} = 0,079^*$
Окружность головы, см	23 [22–24]	24,25 [24–27]	26 [23–28]	$p_{1-2} = 0,008^*$ $p_{2-3} = 0,703^*$ $p_{1-3} = 0,049^*$
Окружность груди, см	20 [19–22]	22,5 [21–24]	22 [20–23]	$p_{1-2} = 0,041^*$ $p_{2-3} = 0,767^*$ $p_{1-3} = 0,292^*$
Срок гестации, нед.	24,5 [23,5–25,5]	26,6 [26,4–28]	27 [25,6–28,1]	$p_{1-2} = 0,002^*$ $p_{2-3} = 0,582^*$ $p_{1-3} = 0,007^*$
Пол, n (%)				
Мальчики	12 (92,3)	4 (33,3)	6 (85,7)	$7,034$; $p_{1-2} = 0,008^*$ $2,99$; $p_{2-3} = 0,064^{\#}$
Девочки	1 (7,7)	8 (66,7)	1 (14,3)	$0,096$; $p_{1-3} = 0,755^{\#}$

Примечание. p_{1-2} – статистически значимые различия между 1-й и 2-й группами ($p < 0,05$); p_{2-3} – статистически значимые различия между 2-й и 3-й группами ($p < 0,05$); p_{1-3} – статистически значимые различия между 1-й и 3-й группами ($p < 0,05$); * – критерий Манна – Уитни; $\#$ – критерий Фишера.

тропометрические показатели соответствовали ГВ недоношенных детей.

В группе младенцев, у которых развилось ВЖК с неблагоприятным исходом, ГВ был статистически значимо ниже – 24 [22; 27] недели, то есть младенцы являлись крайне незрелыми; во 2-й группе младенцы рождались с ГВ 26 [26; 28] недель, хотя и были экстремально недоношенными, однако большей зрелости, чем дети 1-й группы ($p = 0,002$). Крайняя незрелость новорождённых (ГВ – 22–26 недель) увеличивала риск развития ВЖК и летального исхода от него в $27,5 \pm 0,5$ раза [95% ДИ: 10,21–74,01]. Младенцы, у которых не развились ВЖК, рождались на сроке в среднем 27 недель (минимально – 25 недель 4 дня, максимально – 29 недель), что также статистически значимо отличалось от детей 1-й группы ($p = 0,007$).

Среди младенцев с летальным исходом, связанным с ВЖК, преобладали мальчики (12 из 13 детей), что статистически значимо отличалось от детей 2-й группы, в которой преобладали девочки ($p_{1-2} = 0,008$). Мужской пол повышал шанс неблагоприятного исхода при ВЖК в $24,0 \pm 0,48$ раза [95% ДИ: 9,18–62,6].

Для оценки влияния заболеваний матери и течения перинатального периода на реализацию ВЖК и летальный исход от него в группах сравнения оценены социально-биологический и акушерско-гинекологический анамнезы. При оценке возможного летального исхода проведён расчёт оценки рисков их развития на фоне развития ВЖК (ОШ \pm SE; 95% ДИ). Во всех группах наблюдения отмечен благоприятный для рождения возраст матерей – от 20 до 35 лет; доля матерей в возрасте старше 35 лет не имела статистически значимых различий в группах (от 15 до 28 %).

Никотинозависимость матерей в 1-й группе регистрировалась более чем в половине наблюдений (53,8 %), во 2-й группе – у четверти, в 3-й группе – в каждом 6-м случае. Статистически значимых различий не выявлено. Однако курение матерей повышало риск реализации ВЖК и его неблагоприятного исхода в $3,5 \pm 0,15$ раза [95% ДИ: 3,01–4,06].

При анализе соматического анамнеза матерей во всех группах исследований статистически значимых различий не получено. Отягощённый акушерский анамнез в исследуемых группах диагностирован у 2/3 женщин, что влияло на вероятность преждевременного родоразрешения, но статистически значимых различий между группами не установлено. Преэклампсия выявлена у матерей 2-й и 3-й групп (8,3 % и 28,6 % соответственно), а фетоплацентарная недостаточность (ФПН) диагностирована во всех группах наблюдения. При этом субкомпенсированная форма зарегистрирована у 8 из 13 пациентов (61,5 %) 1-й группы и в 2/3 наблюдений 2-й группы; декомпенсированная – у 15 % в 1-й группе и у 16,7 % во 2-й. В группе детей без ВЖК декомпенсированная ФПН не выявлена, субкомпенсированная ФПН выявлена у 85,7 %, компенсированная – у 14,3 %. Между группами статистически значимых различий не выявлено. Осложнения беременности с угрозой прерывания во всех группах наблюдений отмечались почти в половине случаев, развитие истмико-цервикальной недо-

статочности – в каждом 4-м случае, что ассоциировано с преждевременными родами. Олигогидроамнион диагностирован в 1-й и 2-й группах с частотой 23 % и 8 % соответственно, что повышало вероятность развития ВЖК с летальным исходом в $3,3 \pm 0,37$ раза [95% ДИ: 1,6–6,77]. В 3-й группе наблюдения у 14,3 % выявлено многоводие. Оперативное родоразрешение по экстренным показаниям потребовалось во всех группах наблюдения более чем в половине случаев (53,8 %, 58,3 % и 57,1 % соответственно).

Беременность отягощалась инфекционными факторами. Цервицит регистрировался почти в каждом 3-м случае (30,8 % в 1-й группе; 25,0 % во 2-й группе; 28,6 % в 3-й группе). Хориоамнионит в родах в 1-й группе встречался в 7 из 13 случаев (53,8 %), во 2-й группе – в 1 из 12 (8,3 %), в 3-й группе – в 1 из 7 (14,3 %) и статистически значимо преобладал в группе новорождённых с ВЖК, завершившимся летальным исходом ($p_{1-2} = 0,03$). Данная патология повышала вероятность летального исхода от ВЖК в $12,8 \pm 0,47$ раза [95% ДИ: 5,05–32,44]. Эндометрит также регистрировался статистически значимо чаще в 1-й группе – в 10 из 13 наблюдений (76,9 %), против 33,3 % во 2-й группе ($p_{1-2} = 0,047$), и 28,6 % в 3-й группе. Бактериальное воспаление эндометрия увеличивало шанс реализации ВЖК с летальным исходом в $6,7 \pm 0,5$ раза [95% ДИ: 2,48–18,03]. Предлежание плаценты выявлено только в группе с ВЖК и привело к летальному исходу в 5 из 13 случаев. Во 2-й группе поперечное положение плода диагностировано у 1 пациентки, риск развития ВЖК увеличен в $3,2 \pm 0,5$ раза [95% ДИ: 1,2–8,5].

Увеличение плацентарно-плодового коэффициента (ППК) как маркера плацентарного инфекционного процесса более 0,23 диагностировалось во всех наблюдениях (100 %) 1-й группы, во 2-й группе – в 75 %, в 3-й группе – в 85,7 %. Ме ППК в 1-й группы составила 0,36 [0,32–0,42], минимальный показатель – 0,28, максимальный – 0,48, что статистически значимо больше уровня этого показателя во 2-й группе: Ме = 0,295 [0,225–0,34], минимальное значение – 0,11, максимальное – 0,46 ($p_{1-2} = 0,005$); в 3-й группе Ме = 0,34 [0,25–0,4], минимальное значение – 0,23, максимальный – 0,52 ($p_{2-3} = 0,404$; $p_{1-3} = 0,579$). Длительный безводный промежуток (более суток) у недоношенных детей групп сравнения выявлен с частотой 46 % в 1-й группе, 33,3 % – во 2-й группе, 43 % – в 3-й группе.

Среди патологических состояний у новорождённых, приводящих к развитию ВЖК, лидируют судороги, в развитии которых, помимо гипоксии, особую роль играет реализация инфекции. У младенцев 1-й группы судороги регистрировались в первые сутки в 11 из 13 случаев (84,6 %), в среднем сроки развития составили 3 ч с момента рождения [1 ч 10 мин – 6 ч], минимально – 30 мин, максимально – 4-е сутки жизни. В возрасте старше 1 суток судороги развились у 2 (15,4 %) детей. Во 2-й группе у 3 (25,0 %) новорождённых развились судороги в возрасте старше суток (Ме = 2 сут. 7 ч). У 9 из 12 новорождённых (75,0 %) 2-й группы судороги не регистрировались. В 3-й группе наблюдения судороги диагностированы у 3 из 7 детей (42,8 %), Ме возраста – 8 сут. 8 ч. Стати-

стически значимые различия выявлены при сравнении 1-й группы со 2-й и 3-й ($\chi^2 = 26,692$; $p = 0,0001$).

Клинико-функциональные проявления различных вариантов шока у недоношенных детей в 1-й группе диагностированы в первые 3 часа жизни в 6 из 13 случаев (46,1 %) в сравнении со 2-й группой (2 из 12 детей (16,7 %)), повышая риск развития ВЖК с летальным исходом в **4,3 ± 0,47 раза [95% ДИ: 1,69–10,89]**. Диагностика шока в возрасте 3–6 ч проведена у 3 (23,1 %) детей 1-й группы, а после 6 ч жизни – у 4 (30,7 %) новорождённых; во 2-й группе клиника шока возникла в возрасте 3–6 ч у 3 (25,0 %) детей, старше 6 ч – также у четверти. В группе детей, не имевших ВЖК, шок диагностировался реже – в первые 3 ч жизни у 2 (28,6 %) детей, в возрасте старше 6 ч – у 1 (14,3 %) младенца. При сравнении сроков реализации шока получены статистически значимые различия в группах сравнения ($\chi^2 = 10,420$; $p = 0,034$).

Персистирующая лёгочная гипертензия (ПЛГ) у младенцев 1-й группы выявлена в 12 из 13 случаев (92,3 %), $Me = 60,8$ [50,1–69,2] мм рт. ст., от 31,8 до 89,6 мм рт. ст. Во 2-й группе частота ПЛГ регистрировалась у 9 из 12 детей (75 %) на уровне 44,1 [34,1–52,1] мм рт. ст., от 23 до 78,7 мм рт. ст., статистически значимо различаясь в группах ($p_{1-2} = 0,028$). ПЛГ в 3-й группе выявлена у 4 из 7 детей (57,1 %), $Me = 44$ [28,6–57] мм рт. ст., от 23 до 64,8 мм рт. ст., в сравнении с 1-й группой различия статистически значимы ($p_{1-3} = 0,047$).

Нейросонографические (НСГ) критерии ВЖК в 1-й группе выявлены в первые сутки жизни у 6 (46,2 %) младенцев; двустороннее ВЖК 3-й степени выявлено в 53,8 % случаев со 2-х по 5-е сутки жизни. Во 2-й группе в 1-е сутки жизни ВЖК выявлено у 5 (41,6 %) детей, у 1 ребёнка – 2–3-й степени, с развитием постгеморрагической гидроцефалии. В возрасте

от 3 до 6 суток ВЖК реализовалось у 50 % в форме субependимального кровоизлияния.

По данным оценки кислотно-щелочного состояния (КЩС), у всех младенцев после рождения отмечались некомпенсированный ацидоз смешанного характера, повышение уровня лактата: в 1-й группе $Me = 4,35$ [3,3–5,95] ммоль/л, минимально – 2,2 ммоль/л, максимально – 9,7 ммоль/л; во 2-й группе $Me = 4,4$ [2,3–5,6] ммоль/л, минимально – 1,4 ммоль/л, максимально – 11,3 ммоль/л; в 3-й группе $Me = 5,1$ [3,4–7,9] ммоль/л, минимально – 2,5 ммоль/л, максимально – 12,5 ммоль/л; статистически значимых различий не выявлено.

Дефицит оснований у младенцев 1-й группы составил $-9,1$ [–7,05––11,6] ммоль/л, минимально $-0,6$ ммоль/л, максимально $-14,6$ ммоль/л; во 2-й группе $Me = -9,35$ [–5,9––11,25] ммоль/л, минимально $-1,7$ ммоль/л, максимально -15 ммоль/л; в 3-й группе $Me = -6,4$ [–4,8––11,7] ммоль/л, минимально $-4,8$ ммоль/л, максимально -15 ммоль/л; статистически значимых различий не выявлено. Эти изменения носили неспецифический характер и были связаны не с фактом ВЖК, а с недоношенностью, реализацией инфекционного заболевания, наличием дыхательной недостаточности.

С целью выявления нарушения показателей сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и недостаточности свёртывающей системы крови изучались лабораторные критерии (уровень тромбоцитов), показатели коагулограммы (активированное частично тромбопластиновое время (АЧТВ), уровень фибриногена, международное нормализованное отношение (МНО)). Результаты представлены в таблице 2.

Во всех группах исследования в первые часы после рождения диагностировалась тромбоцитопения. В 1-й группе минимальный показатель уровня тромбо-

ТАБЛИЦА 2

ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕМОСТАЗА В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ ПРИ РОЖДЕНИИ, ME [Q25–Q75]

TABLE 2

LABORATORY PARAMETERS OF HEMOSTASIS IN THE STUDIED GROUPS AT BIRTH, ME [Q25–Q75]

Гемостазиологические показатели при рождении	1-я группа (n = 13)	2-я группа (n = 12)	3-я группа (n = 7)	p
Тромбоциты, тыс.	163,5 [141,5–232,5]	198 [163–239,5]	183 [121–247]	$p_{1-2} = 0,270$ $p_{2-3} = 0,735$ $p_{1-3} = 0,799$
Фибриноген, г/л	1,38 [1,14–1,9]	2,2 [1,3–2,4]	1,3 [0,81–3,6]	$p_{1-2} = 0,426$ $p_{2-3} = 1,0$ $p_{1-3} = 0,853$
АЧТВ, с	52 [42–57]	47,35 [29,7–60,8]	43,8 [41,–46,6]	$p_{1-2} = 0,624$ $p_{2-3} = 0,865$ $p_{1-3} = 0,267$
МНО	1,87 [1,44–2,28]	1,42 [1,2–2,45]	1,72 [1,59–5,7]	$p_{1-2} = 0,602$ $p_{2-3} = 0,361$ $p_{1-3} = 0,609$

Примечание. p_{1-2} – статистически значимые различия между 1-й и 2-й группами ($p < 0,05$; критерий Манна – Уитни); p_{2-3} – статистически значимые различия между 2-й и 3-й группами ($p < 0,05$; критерий Манна – Уитни); p_{1-3} – статистически значимые различия между 1-й и 3-й группами ($p < 0,05$; критерий Манна – Уитни).

цитов составил $92 \times 10^9/\text{л}$, максимальный – $252 \times 10^9/\text{л}$; во 2-й группе размах показателей – от 93 до $325 \times 10^9/\text{л}$; в 3-й группе – от 107 до $251 \times 10^9/\text{л}$.

В коагулограмме уровень фибриногена во всех группах соответствовал средним гестационным показателям. В 1-й группе минимальный показатель фибриногена составил 0,75 г/л, максимальный – 4,1 г/л; во 2-й группе его уровень был от 0,8 до 4,2 г/л; в 3-й группе – от 0,81 до 3,6 г/л; статистически значимых различий не выявлено. В группе детей с летальным исходом определялось удлинение АЧТВ с 41,4 до 118,9 с, в группе выживших детей с ВЖК – с 25,7 до 109 с. В группе детей, у которых не развивалось ВЖК, АЧТВ соответствовало нормативным показателям – от 41,1 до 46,6 с. Во всех группах исследования МНО свидетельствовало о гипокоагуляции; статистически значимых различий не выявлено. Показатели в 1-й группе составили от 1,26 до 2,8, во 2-й – от 1,14 до 3,24, в 3-й – от 1,59 до 5,7; статистически значимых различий не выявлено.

По результатам полученных статистических данных проведён расчёт уравнения логит-регрессии, которое позволило прогнозировать реализацию неблагоприятного исхода ВЖК в раннем неонатальном периоде [21, 22].

$Y = \exp(0,1 - 8,05 \text{ хориоамнионит} + 10,89 \text{ эндометрит} + 9,86 \text{ ППК} + 12 \text{ пол} - 6,43 \text{ курение матери} - 1,17 \text{ предлежание плаценты} - 1,05 \text{ ПЛГ} - 5,6 \text{ шок в первые 3 часа} - 45,8 \text{ судороги в первые 3 часа}) / 1 + \exp(0,1 - 8,05 \text{ хориоамнионит} + 10,89 \text{ эндометрит} + 9,86 \text{ ППК} + 12 \text{ пол} - 6,43 \text{ курение матери} - 1,17 \text{ предлежание плаценты} - 1,05 \text{ ПЛГ} - 5,6 \text{ шок в первые 3 часа} - 45,8 \text{ судороги в первые 3 часа});$
 $\chi^2 = 34,29641; df = 9; p = 0,0000797.$

ОБСУЖДЕНИЕ

ВЖК у недоношенных детей имеют многофакторный генез. Выделяют три группы факторов: антенатальные, интранатальные и постнатальные. По результатам нашего исследования, к антенатальным факторам относятся: курение матери; инфекционные процессы, вызывающие маловодие; хориоамнионит; эндометрит. К интранатальным факторам относятся: осложнённое родоразрешение; аномальное предлежание плаценты. Постнатальными факторами являются: колебания системного артериального давления, проявлением которого является шок; ПЛГ; коагулопатия; оксидативный стресс, подтверждённый данными исследования кислотно-щелочного состояния. Как известно, клетки герминативного матрикса богаты митохондриями и весьма чувствительны к недостатку кислорода, что объясняет важность гипоксии герминативного матрикса в патогенезе развития ВЖК [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в нашем наблюдении установлено, что экстремальная недоношенность, инфекционные за-

болевания матери, вредные привычки, патология плаценты реализуют своё неблагоприятное влияние на плод через патофизиологические процессы. ВЖК реализуется в результате нарушения гемодинамической ауторегуляции и структурной незрелости на уровне герминативного матрикса. Клиническая картина шока, персистирующей лёгочной гипертензии и судороги в первые часы жизни могут усугублять тяжесть ВЖК и приводить к летальному исходу.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Piccolo B, Marchignoli M, Pisani F. Intraventricular hemorrhage in preterm newborn: Predictors of mortality. *Acta Biomed.* 2022. 93(2): e2022041. doi: 10.23750/abm.v 93i2.11187
2. Деев И.А., Куликова К.В., Кобякова О.С., Куликов Е.С., Холопов А.В., Степанов И.А., и др. Клиническая характеристика новорождённых с различной массой тела при рождении (результаты многоцентрового когортного исследования). *Педиатрия*. 2016; 7(4): 67-76. [Deev IA, Kulikova KV, Kobyakova OS, Kulikov ES, Holopov AV, Stepanov IA, et al. Clinical characteristics of newborn with different birth weight (results of a multicenter cohort study). *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2016; 7(4): 67-76. (In Russ.)]. doi: 10.17816/PED7467-76
3. Володин Н.Н., Горелышева С.К., Попова В.Е. *Внутрижелудочковые кровоизлияния, постгеморрагическая гидроцефалия у новорождённых детей. Принципы оказания медицинской помощи: методические рекомендации.* М.; 2014. [Volodin NN, Gorelysheva SK, Popova VE. *Intraventricular hemorrhages, posthemorrhagic hydrocephalus in newborns. Principles of medical treatment: Guidelines.* Moscow; 2014. (In Russ.)].
4. Tan AP, Svrckova P, Cowan F, Chong WK, Mankad K. Intracranial hemorrhage in neonates: A review of etiologies, patterns and predicted clinical outcomes. *Eur J Paediatr Neurol.* 2018; 22(4): 690-717. doi: 10.1016/j.ejpn.2018.04.008
5. Praveen B. Pathogenesis and prevention of intraventricular hemorrhage. *Clin Perinatol.* 2014; 41(1): 47-67. doi: 10.1016/j.clp.2013.09.007
6. Monagle P, Barnes C, Rowlands S. Developmental haemostasis. *Thromb Haemost.* 2006; 5(2): 362-372. doi: 10.1160/TH05-01-0047
7. Завьялов О.В., Пасечник И.Н., Игнатко И.В., Дементьев А.А., Чабайдзе Ж.Л., Смирнов Д.Н. Внутрижелудочковые кровоизлияния у глубоко недоношенных детей: этиопатогенез, клиника, факторы риска и особенности перинатальной профилактики. *Врач.* 2021; 32(2): 10-16. [Zavyalov OV, Pasechnik IN, Ignatko IV, Dementiev AA, Chabaidze ZhL, Smirnov DN. Intraventricular hemorrhage in premature infants: Clinic, risk factors and peculiarities of perinatal prevention. *The Doctor.* 2021; 32(2): 10-16. (In Russ.)]. doi: 10.29296/25877305-2021-02-02

8. Володин Н.Н., Дегтярев Д.Н. (ред.). *Неонатология: национальное руководство*; в 2 томах; 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2023; (1). [Volodin NN, Degtyarev DN (eds). *Neonatology: National manual*; 2 volumes; 2nd edition, revised and enlarged. Moscow: GEOTAR-Media; 2023; (1). (In Russ.)]. doi: 10.33029/9704-7828-8-NNG-2023-1-752
9. Пальчик А.Б., Федорова Л.А., Понятишин А.Е. *Внутрижелудочковые кровоизлияния у новорожденных детей: методические рекомендации*. СПб.; 2019. [Palchik AB, Fedorova LA, Ponyatishin AE. *Intraventricular hemorrhages in newborns: Guidelines*. Saint Petersburg; 2019. (In Russ.)].
10. Глухов Б.М., Булекбаева Ш.А., Байдарбекова А.К. Этиопатогенетические характеристики внутрижелудочковых кровоизлияний в структуре перинатальных поражений мозга: обзор литературы и результаты собственных исследований. *Русский журнал детской неврологии*. 2017; 12(2): 21-33. [Glukhov BM, Bulekbaeva ShA, Baidarbekova AK. Etiopathogenic characteristics of the intraventricular hemorrhages in the structure of perinatal brain injuries: A literature review and the results of own research. *Russian Journal of Child Neurology*. 2017; 12(2): 21-33. (In Russ.)]. doi: 10.17650/2073-8803-2017-12-2-08-20
11. *Внутрижелудочковое нетравматическое кровоизлияние у плода и новорожденного: Проект клинических рекомендаций Российского общества неонатологов (РОН), Российской ассоциации перинатальной медицины (РАСПМ), Ассоциации специалистов в области перинатальной медицины, оказания помощи беременной женщине и плоду, новорожденному и ребенку в возрасте до 3 лет (АСПМ+)*. М.; 2023. [Intraventricular non-traumatic hemorrhage in the fetus and newborn: Draft of clinical recommendations of the Russian Society of Neonatologists, Russian Association of Perinatal Medicine, Association of Specialists for Perinatal Medicine, Care for a Pregnant Woman and Fetus, Newborn and Child under 3 Years of Age. Moscow; 2023. (In Russ.)]. URL: https://neonatology.pro/wp-content/uploads/2023/07/draft_cr_intraventricular-non-traumatic-hemorrhage_19072023.pdf [дата доступа: 05.09.2023].
12. Nour-Eldine M, Alhousseini M, Nour-Eldine W, Nour-Eldine H, Vakharia KV, Krafft PR, et al. The role of oxidative stress in the progression of secondary brain injury following germinal matrix hemorrhage. *Transl Stroke Res*. 2023; 15(3): 647-658. doi: 10.1007/s12975-023-01147-3
13. Ballabh P, de Vries LS. White matter injury in infants with intraventricular hemorrhage: Mechanisms and therapies. *Nat Rev Neurol*. 2021; 17(4): 199-214. doi: 10.1038/s41582-020-00447-8
14. Cizmeci MN, de Vries LS, Ly LG, van Haastert IC, Groenendaal F, Kelly EN, et al. Periventricular hemorrhagic infarction in very preterm infants: Characteristic sonographic findings and association with neurodevelopmental outcome at age 2 years. *J Pediatr*. 2020; 217: 79-85. doi: 10.1016/j.jpeds.2019.09.081
15. Levene M, de Crespigny LCh. Classification of intraventricular haemorrhage. *The Lancet*. 1983; 1(8325): 643. doi: 10.1016/s0140-6736(83)91810-x
16. Levene MI, Chervenak FA. *Fetal and neonatal neurology and neurosurgery*. London: Elsevier Health Sciences; 2009.
17. Ватолин К.В. *Ультразвуковая диагностика заболеваний головного мозга у детей*; 2-е изд., доп. М.: Видар-М; 2000. [Vatolin KV. *Ultrasound diagnosis of brain diseases in children*; 2nd edition, enlarged. Moscow: Vidar-M; 2000. (In Russ.)].
18. Миронова А.К., Османов И.М., Ватолин К.В., Милованова О.А., Самигулина М.Г., Комиссарова О.А. Эхографические особенности структур головного мозга у детей, родившихся с очень низкой и экстремально низкой массой тела, в сопоставлении с клинической картиной. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2021; 66(5): 118-126. [Mironova AK, Osmanov IM, Vatolin KV, Milovanova OA, Samigulina MG, Komissarova OA. Echographic features of brain structures in children born with very low and extremely low body weight, in comparison with the clinical picture. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2021; 66(5): 118-126. (In Russ.)]. doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-5-118-126
19. Дускалиев Д.А., Хвиль Ю.В. Результаты исследований аутопсий детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела по данным перинатального центра СПбГМУ. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2020: Сборник тезисов международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных*. 2020: 644-645. [Duskaliev DA, Khvil YuV. Results of studies of autopsies of children with extremely low and very low body weight according to the perinatal center of St. Petersburg State Medical University. *Current Problems of Modern Medicine and Pharmacy – 2020: Proceedings of International Research and Practical Conference of Students and Young Scientists*. 2020: 644-645. (In Russ.)].
20. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 1: 140-150. [Mudrov VA. Statistical analysis algorithms of quantitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaikalsky Medical Bulletin*. 2020; 1: 140-150. (In Russ.)]. doi: 10.52485/19986173_2020_1_140
21. Витушко А.Н. Лабораторная панель для диагностики тяжелых внутрижелудочковых кровоизлияний и других внутренних кровотечений у глубоко недоношенных детей. *Репродуктивное здоровье. Восточная Европа*. 2017; 7(6): 1233-1240. [Vitushko AN. Laboratory panel for the diagnosis of severe intraventricular hemorrhages and other internal bleeding in preterm infants. *Reproductive Health. Eastern Europe*. 2017; 7(6): 1233-1240. (In Russ.)].
22. Тупикова С.А., Захарова Л.И. Обоснование программы прогнозирования риска развития ИВК у глубоко недоношенных детей. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 9(2): 297-301. [Tupikova SA, Zakharova LI. Substantiation of the program for predicting the risk of developing IVH in preterm infants. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2015; 9(2): 297-301. (In Russ.)].
23. Egesa WI, Odoch S, Odong RJ, Nakalema G, Asiimwe D, Ekuk E, et al. Germinal matrix-intraventricular hemorrhage: A tale of preterm infants. *Int J Pediatr*. 2021; 2021: 6622598. doi: 10.1155/2021/6622598

Сведения об авторах

Кочерова Виктория Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии факультета дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: micropediatr@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7720-7339>

Попова Надежда Григорьевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии факультета дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: popovaneo@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5062-1644>

Щербак Владимир Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии факультета дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: shcherbak2001@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2032-7612>

Information about the authors

Viktoria V. Kocherova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Pediatrics, Faculty of Continuing Professional Education, Chita State Medical Academy, e-mail: micropediatr@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7720-7339>

Nadezhda G. Popova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Pediatrics, Faculty of Continuing Professional Education, Chita State Medical Academy, e-mail: popovaneo@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5062-1644>

Vladimir A. Shcherbak – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pediatrics, Faculty of Continuing Professional Education, Chita State Medical Academy, e-mail: shcherbak2001@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2032-7612>

Вклад авторов

Кочерова В.В. – получение и анализ данных; статистическая обработка; написание текста (34 %).

Попова Н.Г. – разработка концепции; работа с источниками литературы; написание текста (33 %).

Щербак В.А. – работа с источниками; написание текста; редактирование текста (33 %).

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА PREVENTIVE MEDICINE

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СКРИНИНГ-ТЕСТА ПРЕДИКТОРОВ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Лазуткина А.Ю.

Отдел здравоохранения
по Дальневосточному федеральному
округу, Центральная дирекция
здравоохранения – филиал ОАО «РЖД»
(680022, г. Хабаровск,
ул. Воронежская, 49, Россия)

Автор ответственный за переписку:
Лазуткина Анна Юрьевна,
e-mail: Lazutkina_AU59@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Ишемическая болезнь сердца (ИБС) занимает первые позиции среди причин смерти, заболеваемости, профессиональной непригодности. Разработка инновационных методов прогнозирования ИБС позволит сократить эти потери.

Цель работы. Оценить качество скрининг-теста предикторов ишемической болезни сердца методом статистического контроля качества проверяемого диагностического теста (ПДТ) (с бинарными исходами).

Материалы и методы. В 2008–2013 гг. в группе изначально здоровых 7959 мужчин 18–66 лет – работников локомотивных бригад – зарегистрировали 70 случаев ИБС. С помощью статистического анализа идентифицировали предикторы ИБС: артериальная гипертензия; психосоциальный стресс; гипергликемия; дислипидемия; чрезмерное потребление алкоголя (ЧПА); ожирение I–III степени; возраст 34–66 лет; микроальбуминурия (МАУ); утолщение комплекса интима-медиа/атеросклеротическая бляшка (ТИМ/АСБ); скорость распространения пульсовой волны (СРПВ) > 12 м/с; гипертрофия левого желудочка; ретинопатия I–II степени; атеросклероз аорты (Ат.АО). В программе DiagStat (Россия) выяснили их предсказательную способность при использовании в скрининг-тестах для прогнозирования ИБС. Показано применение этого метода для оценки предсказательной способности факторов риска любого заболевания.

Результаты. Предикторы ИБС обладают высокой и умеренной специфичностью в отношении отсутствия возникновения ИБС у лиц, имеющих отрицательный результат на наличие этих факторов. ТИМ/АСБ, МАУ, СРПВ > 12 м/с, ожирение III степени умеренно повышают апостериорные шансы возникновения ИБС против её отсутствия в сравнении с априорными шансами после получения положительного результата ПДТ этих факторов. Возраст 34–66 лет умеренно повышает апостериорные шансы в пользу отсутствия ИБС против её возникновения в сравнении с априорными шансами после получения отрицательного результата ПДТ.

Заключение. При оценке результата ПДТ следует ориентироваться как на вероятность возникновения, так и на отсутствие ИБС при наличии или отсутствии у пациента предиктора. Так как определение СРПВ > 12 м/с, Ат.АО, МАУ, стресса, ЧПА у работников локомотивных бригад в обязательном порядке не предусмотрено, необходимо проводить их целенаправленный поиск.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, факторы риска, прогнозирование, скрининг-исследование, проверяемый диагностический тест, профилактика

Статья поступила: 13.05.2023
Статья принята: 23.05.2024
Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Лазуткина А.Ю. Оценка качества скрининг-теста предикторов ишемической болезни сердца. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 188-202. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.19

QUALITY ASSESSMENT OF THE SCREENING TEST FOR PREDICTORS OF CORONARY HEART DISEASE

Lazutkina A.Yu.

Far Eastern Board of Health,
Central Directorate for Healthcare –
Branch of the Russian Railways
(Voronezhskaya str. 49, Khabarovsk 680022,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anna Yu. Lazutkina,
e-mail: Lazutkina_AU59@mail.ru

ABSTRACT

Background. Coronary heart disease (CHD) ranks first among the causes of death, morbidity, and disablement. The development of innovative methods for predicting CHD will reduce these losses.

The aim of the work. To assess the quality of the screening test for predictors of coronary heart disease using statistical quality control of a verifiable diagnostic test (with binary outcomes).

Materials and methods. In 2008–2013, 70 cases of CHD were registered in a group of 7959 initially healthy men 18–66 years old who were the members of locomotive crews. Statistical analysis identified CHD predictors: arterial hypertension; psychosocial stress; hyperglycemia; dyslipidemia; excessive alcohol consumption; obesity of degree I–III; age 34–66 years; microalbuminuria; thickening of the intima-media complex/atherosclerotic plaque (IMC/ASP); pulse wave velocity (PWV) > 12 m/s; left ventricular hypertrophy; grade I–II retinopathy; atherosclerosis of aorta. DiagStat (Russian Federation) software determined their predictive ability when used in screening tests to predict CHD. We demonstrated the use of this method to assess the predictive ability of risk factors for any disease.

Results. CHD predictors have high to moderate specificity for the absence of CHD in individuals who test negative for the above-listed factors. IMC/ASP, microalbuminuria, PWV > 12 m/s, grade III obesity moderately increase the posterior odds of developing CHD versus its absence in comparison with the prior odds after receiving a positive result of the verifiable diagnostic test for these factors. Age 34–66 years moderately increases the posterior odds in favor of the absence of CHD versus its occurrence compared with the prior odds after receiving a negative result of the verifiable diagnostic test.

Conclusion. When assessing the result of the verifiable diagnostic test, we should focus on both the probability of occurrence and the absence of CHD in the presence or absence of a predictor in the patient. Since the determination of PWV > 12 m/s, atherosclerosis of aorta, microalbuminuria, stress, and excessive alcohol consumption among workers of locomotive crews is not mandatory, it is necessary to conduct a targeted search for them.

Key words: coronary heart disease, risk factors, prognosis, screening study, verifiable diagnostic test, prevention

Received: 13.05.2023
Accepted: 23.05.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Lazutkina A.Yu. Quality assessment of the screening test for predictors of coronary heart disease. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 188-202. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.19

ВВЕДЕНИЕ

Статистические данные свидетельствуют о том, что в мире и в Российской Федерации заболеваемость и смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) остаётся лидирующей [1, 2]. Наибольшая доля в структуре смертности от болезней системы кровообращения приходится на ишемическую болезнь сердца (ИБС) [3], у которой в свою очередь преобладают острые формы заболевания [4]. Широкое распространение модифицируемых факторов риска (ФР) ССЗ поставило сердечно-сосудистые причины, ИБС на первые позиции в рейтинге десяти ведущих причин смерти в мире [5, 6]. Несмотря на то, что для хронической ИБС характерно стабильное длительное течение, ИБС занимает первые позиции среди причин смерти, временной и стойкой утраты трудоспособности населения [7–9]. Эти проблемы актуальны и для железнодорожной медицины, так как среди работников локомотивных бригад (РЛБ) регулярно регистрируются случаи данного заболевания. ИБС входит в перечень заболеваний, не допускающих РЛБ к профессии, и лидирует среди причин профессиональной непригодности. Доля профессиональной непригодности по причине ИБС достигает 40–50 %. Допуск врачебно-экспертной комиссией к поездной работе не гарантирует отсутствия возникновения этого латентно протекающего ССЗ у РЛБ и безопасность железнодорожного движения, не предотвращает досрочный уход из профессии и экономические потери, связанные с состоянием здоровья работников [10–14]. Поэтому таким профессиональным группам клинически бессимптомных лиц важно проводить первичное обследование – скрининг-тестирование с целью предупреждения ССЗ. Скрининг-обследование помогает обнаружить болезнь на ранней стадии и полностью её вылечить или предупредить. Под болезнью следует понимать любой исследуемый клинический исход, имеющий период скрытого течения и формирующий задолго до появления клинических проявлений [13]. При очевидной полезности скрининг-методы обладают разной эффективностью, так как не исключают ошибку диагностики или формирование ложного мнения об отсутствии болезни. Поэтому скрининг-тест должен отвечать допустимому уровню прогнозирования [15] и соответствовать принципам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) для проведения скрининг-исследования [16]: течение и лечение актуального заболевания должно быть известно; его поиск должен осуществляться непрерывно, а диагностические расходы оправданы. Идеальный скрининг-тест должен определять болезнь до её манифестации, не давать ложных положительных или ложных отрицательных результатов, понижать инвалидность и смертность. Сторона, выполняющая скрининг-исследование, должна иметь представление о том, насколько эффективен в предсказательной способности тот или иной диагностический тест для сопоставления своих возможностей и ожидаемой выгоды от проведения скрининг-исследования. В данной работе оценена предсказательная способность ранее установленных предикторов ИБС [17], показана их экспозиция (концен-

трация, доза), способная вызвать ИБС в группе наблюдения, и диапазон вероятности события ИБС при наличии или отсутствии предиктора у пациента. Предложен способ оценки качества предикторов ИБС, показано его применение, так как других научных публикаций по этой теме обнаружить не удалось.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выяснить предсказательную способность предикторов ишемической болезни сердца методом статистического контроля качества проверяемого диагностического теста (с бинарными исходами).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

По критериям рекомендаций по артериальной гипертензии (АГ) Российского медицинского общества по артериальной гипертонии и Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) 2008 и 2011 гг. и согласно нормативному приказу [10, 18, 19], с 2008 по 2013 г. всем РЛБ Забайкальской железной дороги (ЗабЖД) ежегодно в течение 6 лет во время врачебно-экспертных комиссий выполняли поиск ФР ССЗ, поражений органов-мишеней (ПОМ) и ССЗ. Из ФР определяли: возраст; АГ; дислипидемию – общий холестерин $> 5,0$ ммоль/л, и/или холестерин (ХС) липопротеинов низкой плотности $> 3,0$ ммоль/л, и/или ХС липопротеинов высокой плотности $< 1,0$ ммоль/л, и/или триглицериды $> 1,7$ ммоль/л; гипергликемию $> 5,5$ ммоль/л; семейный анамнез ранних ССЗ; чрезмерное потребление алкоголя (ЧПА); психосоциальный стресс; курение; повышенный вес – индекс массы тела (ИМТ) $\geq 25,0$ кг/м². Согласно грациям ИМТ, выделяли ожирение I–III степени: ИМТ = 30,0–34,9, 35,0–39,9 и $\geq 40,0$ кг/м² соответственно. Из ПОМ выявляли гипертрофию левого желудочка (ГЛЖ) по электрокардиографии (признак Соколова – Лайона > 38 мм, корнельское произведение > 2440 ммхмс) и эхокардиографии (индекс массы миокарда левого желудочка ≥ 125 г/м²); атеросклероз аорты (Ат.АО) при рентгенографии и/или ультразвуковой диагностике (УЗД); выявляли утолщение комплекса интима-медиа (ТИМ) $> 0,9$ мм или атеросклеротические бляшки (АСБ) при УЗД брахиоцефальных артерий [18]; сниженную скорость клубочковой фильтрации; микроальбуминурию (МАУ); креатининемию; ретинопатию I–II степени; скорость распространения пульсовой волны (СРПВ) > 12 м/с; лодыжечно-плечевой индекс $< 0,9$; сахарный диабет 2-го типа [10, 12]. Показатели липидного и углеводного обменов определяли и оценивали по указанным выше критериям [18] и вносили в выборку как качественные переменные – «есть» или «нет». Согласно приказу [10], РЛБ изначально не имели ССЗ, кроме гипертонической болезни I степени, 1–2-й стадии. Из исследования они выбывали в случае смерти, увольнения, при несоответствии здоровья критериям приказа [10]. Наблюдение одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Читинская госу-

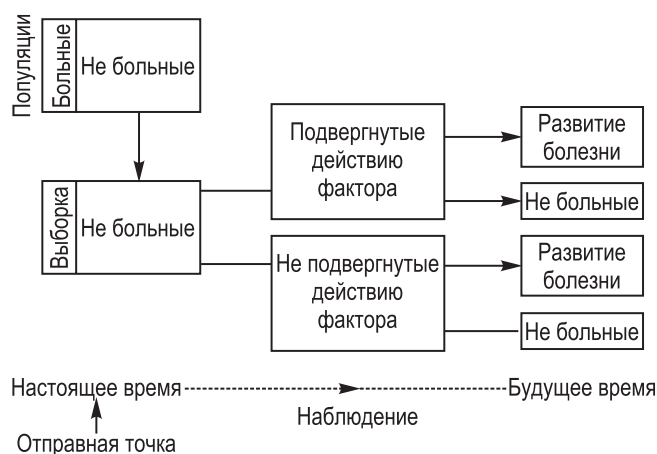


РИС. 1.

Дизайн проспективного когортного наблюдения работников локомотивных бригад Забайкальской железной дороги [20]

FIG. 1.

Prospective cohort design of locomotive crews members of the Trans-Baikal Railway [20]

ТАБЛИЦА 1

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ФАКТОРОВ РИСКА, ПОРАЖЕНИЙ ОРГАНОВ-МИШЕНЕЙ У РАБОТНИКОВ ЛОКОМОТИВНЫХ БРИГАД ЗАБАЙКАЛЬСКОЙ ЖЕЛЕЗНОЙ ДОРОГИ НА НАЧАЛО И КОНЕЦ НАБЛЮДЕНИЯ [12]

Факторы риска, органы-мишени	Начало наблюдения		Конец наблюдения		%#/%*	Критерий Макнемара	
	n*	%*	n#	%#		χ^2	p
Артериальная гипертензия	1401	17,6	2033	25,5	1,4	2381,6	0,00
Избыточный вес (ИМТ = 25,0–29,9 кг/м ²)	2602	32,7	3135	39,4	1,2	580,4	0,00
Ожирение I степени (ИМТ = 30,0–34,9 кг/м ²)	923	11,6	1215	15,3	1,3	4104,4	0,00
Ожирение II степени (ИМТ = 35,0–39,9 кг/м ²)	167	2,1	234	2,9	1,4	7114,4	0,00
Ожирение III степени (ИМТ ≥ 40,0 кг/м ²)	16	0,2	24	0,3	1,5	7868,3	0,00
Курение	4600	57,8	4918	61,8	1,1	293,7	0,00
Дислипидемия	700	8,8	2534	31,8	3,6	2278,1	0,00
Гипертрофия левого желудочка	446	5,6	597	7,5	1,3	5895,1	0,00
Психосоциальный стресс	1249	15,7	1635	20,5	1,3	3084,3	0,00
Семейный анамнез ранних ССЗ	597	7,5	906	11,4	1,5	5038,6	0,00
Ретинопатия I–II степени	533	6,7	337	4,2	0,6	6470,7	0,00
Гипергликемия	80	1,0	445	5,6	5,6	6636,4	0,00
Атеросклероз аорты	8	0,1	458	5,8	58,0	6674,0	0,00
Чрезмерное потребление алкоголя	48	0,6	71	0,9	1,5	7697,6	0,00
ТИМ/АСБ	8	0,1	24	0,3	3,0	7876,3	0,00
СРПВ > 12 м/с	0	0	19	0,2	-	7899,2	0,00
Креатининемия	24	0,3	116	1,5	5,0	7590,7	0,00
Микроальбуминурия	3	0,04	8	0,1	2,5	7929,0	0,00
Сниженная скорость клубочковой фильтрации	0	0	6	0,1	-	7938,0	0,00
Лодыжечно-плечевой индекс < 0,9	0	0	5	0,1	-	7941,0	0,00
Сахарный диабет 2-го типа	24	0,3	45	0,6	2,0	7798,0	0,00

Примечание. * – начало наблюдения; # – конец наблюдения.

дарственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 30 от 09.11.2011) и проведено с использованием служебных лабораторно-инструментальных методов диагностики, на лицензированном оборудовании аттестованными специалистами. Дизайн исследования, собранный материал по 22 позициям на начало и конец наблюдения показаны на рисунке 1 и в таблице 1. Сравнение собранных данных на начало и конец наблюдения показало, что ФР ССЗ обладают кумулятивными свойствами и накапливаются как в популяции с течением времени, так и у индивидуума с возрастом [12].

Возраст РЛБ на начало наблюдения составил $35,7 \pm 10,6$ года, на конец наблюдения – $38,6 \pm 10,3$ года. 53,4 % ($n = 4251$) РЛБ в группе наблюдения были в возрасте до 40 лет (рис. 2). Динамика сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE по годам наблюдения у РЛБ ЗабЖД представлена на рисунке 3. Предсказанная вероятность 10-летнего прогноза развития смертельных случаев заболеваний, связанных с атеросклерозом, по шкале SCORE в год их прогнозирования и наступления смерти в этот же год у РЛБ ЗабЖД показана на ри-

TABLE 1

OCCURRENCE OF RISK FACTORS, TARGET ORGAN LESIONS IN LOCOMOTIVE CREW MEMBERS OF THE TRANS-BAIKAL RAILWAY AT THE BEGINNING AND AT THE END OF THE OBSERVATION [12]

сунке 4. Структура выявленных ССЗ в 2008–2013 гг. показана на рисунке 5. В 2008 г. наблюдали 7959 РЛБ ЗабЖД, в 2009 г. – 7851, в 2010 г. – 7141, в 2011 г. – 6817, в 2012 г. – 6016, в 2013 г. – 5722.

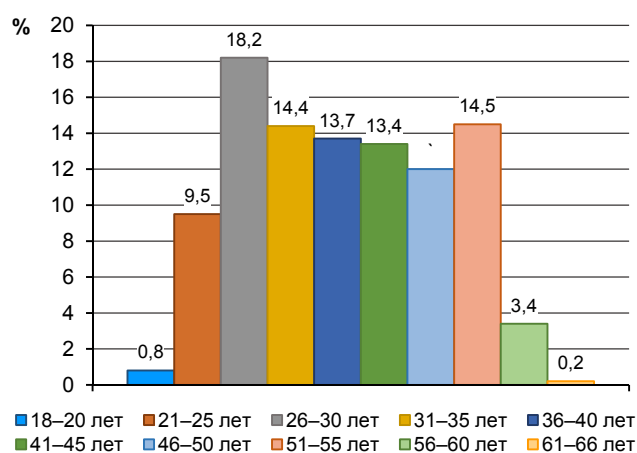


РИС. 2.

Возрастная структура респондентов

FIG. 2.

Age structure of respondents

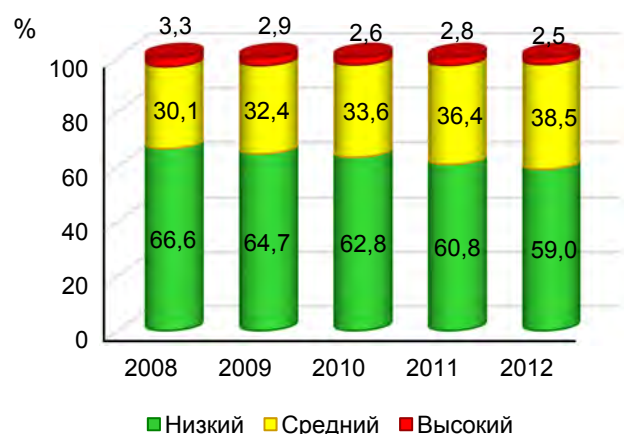


РИС. 3.

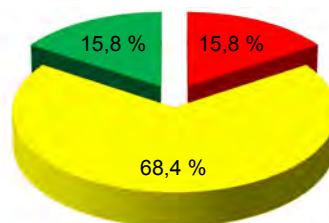
Оценка сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE в группе наблюдения

FIG. 3.

Cardiovascular risk assessment using the SCORE scale in the observation group

В 2008–2013 гг. врачебно-экспертные комиссии 14 негосударственных учреждений здравоохранения ЗабЖД диагностировали 70 хронических случаев ИБС, которые были подтверждены при стационарном обследовании в Дорожной клинической больнице на ст. Чита, а также Центральной врачебно-экспертной комиссией ОАО «РЖД» (г. Москва) в случае их сложного решения. Диагностику проводили согласно клиническим рекомендациям ВНОК 2009 г., Минздравсоцразвития России 2013 г. и ESC (European Society of Cardiology) 2013 г. [12, 21–23].

С учётом выявленных ФР ежегодно рассчитывали индивидуальный сердечно-сосудистый риск по шкале SCORE как наиболее адаптированной к российской популяции и рекомендованной Государственным научно-исследовательским центром профилактической медицины лицам 40 лет и старше. РЛБ в возрасте до 40 лет относили к группе низкого сердечно-сосудистого риска. В модели SCORE общий сердечно-сосудистый риск выражается в виде абсолютного риска сердечно-сосудистой смертности в ближайшие 10 лет. Так как абсолютный общий сердечно-сосудистый риск сильно зависит от возраста, у молодых пациентов он может быть низким даже при сочетании высокого артериального давления (АД) с другими ФР [24]. Граждане в возрасте до 40 лет вне зависимости от наличия ФР (за исключением очень высоких уровней отдельных факторов) имеют низкий абсолютный риск фатальных сердечно-сосудистых осложнений в предстоящие 10 лет жизни. Для лиц молодого возраста (моложе 40 лет) определяется не абсолютный, а относительный суммарный сердечно-сосудистый риск. Человек в возрасте до 40 лет без ФР (некурящий, с нормальным уровнем АД и содержанием общего холестерина в крови имеет в 12 раз меньший относительный суммарный сердечно-сосудистый риск по сравнению с человеком, имеющим указанные ФР) [12, 25]. Мы не оцифровывали далее и не выделяли при оценке специальные возрастные группы и прекратили изучать показатели SCORE с целью экономии своих ресурсов, когда данная шкала показала низкие прогностические способности у этой категории работников (рис. 4).



- Предсказанная вероятность события ≥ 5 %
- Предсказанная вероятность события 1–4 %
- Предсказанная вероятность события 0 %

РИС. 4.

Предсказанная вероятность 10-летнего прогноза развития смертельных случаев заболеваний, связанных с атеросклерозом, по шкале SCORE в год их прогнозирования и наступления смерти в этот же год у работников локомотивных бригад Забайкальской железной дороги: внезапная сердечная смерть – 15 случаев, мозговой инсульт – 4 случая; средний возраст умерших $46,3 \pm 9,2$ года

FIG. 4.

Predicted probability of 10-year prediction of fatal cases of atherosclerosis-associated diseases according to the SCORE scale in the year of their prediction and the same year of death coming among locomotive crew members of the Trans-Baikal Railway: sudden cardiac death – 15 cases, cerebral stroke – 4 cases; mean age of the deceased – 46.3 ± 9.2 years



РИС. 5.

Структура диагностированных сердечно-сосудистых заболеваний в 2008–2013 гг.

FIG. 5.

Structure of diagnosed cardiovascular diseases in 2008–2013

По завершении наблюдения РЛБ в таблице сопряжённости 2×2 , в многофакторном пошаговом анализе и в анализе выживаемости (в регрессионной модели пропорционального риска Кокса и в моделях Каплана – Майера) определили перечисленные выше предикторы ИБС и установили их относительный риск [17]. В результате выполненного многомерного анализа все предикторы ИБС разделили на три категории, так как в аналитических моделях они показали статистическую неоднородность. В первую категорию вошли ТИМ/АСБ, АГ и ретинопатия, которые показали статистически значимую оценку во всех пяти использованных моделях. Эти факторы оценили как главные самостоятельные предикторы, способные без участия других предикторов реализоваться в ИБС. Такие предикторы ИБС, как возраст 34–66 лет, Ат.АО, ожирение III степени, имевшие статистически значимый результат в 4 математических моделях, гипотетически оценили как взаимодействующие ФР, реализующиеся в ИБС при участии других факторов в составе сложной переменной, состоящей из 2 и более сходных независимых факторов. Остальные предикторы ИБС, имевшие статистически значимый результат менее чем в 4 использованных моделях, оценили как конфаундеры, факторы, влияющие на конечный исход и основную влияющую переменную [17, 26] (рис. 6, 7; табл. 3). Результаты этой части работы были опубликованы [12, 17]. Так как предикторы ИБС по своим статистическим характеристикам различаются и, следовательно, могут оказывать различное влияние на формирование заболевания, решили выяснить их предсказательную способность методом статистического контроля качества проверяемого диагностического теста (ПДТ) [27] в программе DiagStat (Россия) [28] для выяснения вопроса об информативности и целесообразности их применения в скрининг-обследованиях. Также решили показать, как можно использовать данный метод для оценки прогностической способности предикторов любого заболевания.

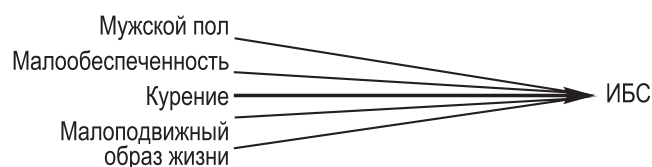


РИС. 6.

Оценка влияния различных потенциальных факторов риска на ишемическую болезнь сердца [26]

FIG. 6.

Assessment of the influence of various potential risk factors on coronary heart disease [26]

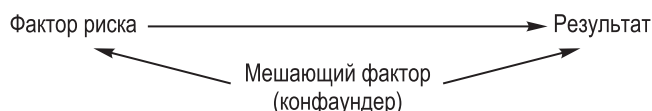


РИС. 7.

Схема взаимодействия конфаундера [26]

FIG. 7.

Confounder interaction scheme [26]

Основное требование, предъявляемое к методам диагностики заболевания, состоит в том, что они должны обладать достаточной чувствительностью и высокой специфичностью. Но когда на скрининг-тест проверяются факторы болезни, нужно помнить и понимать, что они индивидуальны, отличаются друг от друга своими статистическими характеристиками и обладают способностью взаимодействовать между собой [17, 26, 29]. В медико-биологических вопросах описывают три типа взаимодействия факторов: аддитивность – суммирование; синергизм – взаимное усиление воздействия; антагонизм – обоюдное ослабление эффектов влияния предикторов [30]. У методов обследования пациентов, которые обычно применяют в качестве скрининг-тестов, эти качества отсутствуют. Поэтому эти особенности факторов среды при их оценке качества ПДТ могут проявиться в анализе, а интерпретация результатов исследования предикторов заболевания по этой методике может отличаться от оценки качества ПДТ диагностических методов выявления заболевания.

Прогностическую ценность ПДТ оценивают показателями точности и прогностичности, сравнивая его результат с золотым стандартом – диагностическим эталонным тестом, практически безошибочно определяющим наличие или отсутствие болезни у обследуемого пациента. Золотым стандартом может быть один или несколько тестов определения заболевания. Под диагностическим тестом (Т) нужно понимать исследуемый на диагностическую способность фактор (как в данном случае) или метод выявления важного заболевания, который у обследуемого может иметь два значения: T^+ – положительный результат (позитив) или T^- – отрицательный результат (негатив). Болезнь может реализоваться в два бинарных исхода – «есть» или «нет» ($ИБС^+$ и $ИБС^-$). Для оценки ПДТ нужно сравнить экспонированную и неэкспонированную ПДТ группы по частоте встречаемости в них болезни – в данном случае ИБС. Для этого формируется таблица сопряжённости 2×2 . В абсолютных цифрах в неё вносят часто-

ты противоположных значений исследуемого бинарного исхода обеих групп. В строках отмечают экспонированные (подвергнутые) и неэкспонированные (не подвергнутые) ПДТ группы, в столбцах указывают возможные исходы. Каждый объект исследования включается только в одну из групп и имеет только один из возможных исходов. Позитивы (положительные результаты) ПДТ образуют 4 комбинации исхода болезни: $T^+ИБС^+$ – истинный «позитив»; $T^+ИБС^-$ – ложный «позитив»; $T^-ИБС^+$ – ложный «негатив»; $T^-ИБС^-$ – истинный «негатив». Их количество в перекрёстной классификации 2×2 обозначается a, b, c и d соответственно. Методика оценки ПДТ показана в таблице 2 [27]. Все обозначения в тексте, таблицах и рисунках приведены в оригинальной терминологии методики и программы DiagStat [27, 28].

Показатели точности и прогностичности ПДТ отражающие его способность определять и прогнозировать исследуемый исход, образуют две пары показателей и контр-показателей, по которым при их сравнении оценивают качество ПДТ. Четыре условные вероятности показателя точности ПДТ образуют две пары противоположностей – чувствительность (Se) и контр-чувствительность ($coSe$), специфичность (Sp) и контр-специфичность ($coSp$). Их статистические оценки измеряются долями (f), которые можно показать в процентах, или как отношение части к целому или отношение составных частей совокупности к её общему объёму [31, 32]. Четыре показателя прогностичности ПДТ образуют две пары противоположностей: прогностичность «позитивов» (PPV) и их контр-прогностичность ($coPPV$); прогностичность «негативов» (NPV) и их контр-прогностичность ($coNPV$). Их качества и возможности обозначены в примечании итоговой таблицы 3 [27].

При проверке качества ПДТ необходимо иметь данные о распространённости болезни ($Prev$) в тестируемой популяции. Эти данные автоматически формируются в программе DiagStat [28] при введении параметров исследования как доля лиц с болезнью (ИБС) среди всех исследованных в группе: $f(ИБС^+) = (a + c) / n$.

Между показателями точности и прогностичности ПДТ имеется взаимозависимость, которая определяется отношениями правдоподобий, образующими две противоположные пары: отношение правдоподобий для «позитивов» ИБС ($LR(+)$), отношение правдоподобий для «негативов» ИБС ($LR(-)$), – и их антиподы. Отношения правдоподобий и их результаты-инверсии оцениваются в терминах вероятностей и шансов – «за» или «против» [27].

Оценка качества скрининг-тестов предикторов ИБС выполнялась в программе DiagStat (Россия). Если $100(1 - \alpha)\%$ -й доверительный интервал (ДИ) для изучаемого предиктора ИБС θ не включал неинформативное значение θ_{ni} , то оцениваемое неизвестное значение в этом ДИ предиктора θ_{uk} имело статистически значимое отличие от его неинформативного значения θ_{ni} на уровне значимости α . Значит $\theta_{uk} \neq \theta_{ni}$ и статистически значимо на уровне α . Когда $100(1 - \alpha)\%$ -й ДИ показателя θ включал неинформативное значение θ_{ni} , оцениваемое этим ДИ неизвестное значение θ_{uk} предиктора ИБС статистически значимо не отличалось от θ_{ni} при уровне α , и делали вывод о незначимости результата, $\theta_{uk} = \theta_{ni}$, согласно методике оценки ПДТ [27].

Неинформативным для чувствительности Se и контр-чувствительности $coSe$ является значение $Se_{ni} = coSe_{ni} = 0,5$. Если они равны, то ПДТ нельзя признать точным при выявлении «позитивов» у лиц с болезнью, в данном случае –

ТАБЛИЦА 2
ТАБЛИЦА ПЕРЕКРЁСТНОЙ КЛАССИФИКАЦИИ 2×2
ДЛЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Группы объектов	Золотой стандарт (безошибочный тест определения болезни)		Всего объектов в группе
	ИБС [+]	ИБС [–]	
Экспонированные Тест [+]	Истинный «позитив» $T^+ИБС^+ a$ Распространённость «позитивов» в исходе $P(T^+ИБС^+)$	Ложный «позитив» $T^+ИБС^- b$ Распространённость «позитивов» в исходе $P(T^+ИБС^-)$	T^+ $P(T^+)$ $a + b$
Неэкспонированные Тест [–]	Ложный «негатив» $T^-ИБС^+ c$ Распространённость «негативов» в исходе $P(T^-ИБС^+)$	Истинный «негатив» $T^-ИБС^- d$ Распространённость «негативов» в исходе $P(T^-ИБС^-)$	T^- $P(T^-)$ $c + d$
Всего объектов в исходе	Распространённость исхода (болезни) в группе наблюдения $ИБС^+$ $Prev = P(ИБС^+)$ $a + c$	Распространённость исхода (болезни) в группе наблюдения $ИБС^-$ $(1 - Prev = P(ИБС^-))$ $b + d$	1 n

Примечание (здесь и в таблице 3). [+] – положительный результат золотого стандарта (ЗС) или сравниваемого с ним ПДТ; [–] – отрицательный результат золотого стандарта или сравниваемого с ним ПДТ; ИБС⁺ – наличие ИБС у пациента согласно ЗС, ИБС[–] – отсутствие ИБС у пациента согласно ЗС; T⁺ – «позитив», положительный результат ПДТ; T[–] – «негатив», отрицательный результат ПДТ; Prev, (P) – распространённость заболевания.

TABLE 2
TABLE OF CROSSED CLASSIFICATION MATRIX 2×2
FOR CORONARY HEART DISEASE

ИБС. По аналогии неинформативным для специфичности Sp и контр-специфичности $coSp$ считают значение $Sp_{ni} = coSp_{ni} = 0,5$ [27].

Если ДИ прогностичности «позитива» PPV «перекрывает» ДИ распространённости ИБС $Prev$, то такой «позитив» считается неинформативным значением: $PPV_{ni} = Prev$ [27].

Согласно применяемому методу, если «негатив» NPV не повышает вероятность отсутствия ИБС $coPrev$, то такое значение тоже признают неинформативным: $NPV_{ni} = coPrev$ [27]. Графики PPV и NPV теста должны отличаться от $Prev$, расположенной в центре масштабной сетки, то есть влияния теста на популяционную распространённость болезни должно быть заметно, и чем оно сильнее, тем отклонение кривой теста от $Prev$ существеннее.

В соответствии с методикой для отношения правдоподобий для «позитивов» ИБС $LR[+]$ и «негативов» ИБС $LR[-]$ неинформативным считают значения $LR[+]_{ni} = 1$ и $LR[-]_{ni} = 1$ [27]. Практическая полезность показателей качества ПДТ определяется по вербальным шкалам, позволяющим оценить количественный результат качественно в значениях доли для Se и Sp от 0 до 1,0 [27]. Оценка в значениях: 0–0,5 – бесполезная; 0,5–0,7 – низкая; 0,7–0,9 – умеренная; 0,9–1,0 – высокая. $LR[+]$ и $LR[-]$ в вербальных шкалах оценивают в следующих диапазонах: 1–3 – ничтожная оценка; 3–10 – посредственная; 10–33 – умеренная; 33–100 – высокая; 100–1000 – очень высокая; > 1000 – идеальная оценка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты оценки качества ПДТ предикторов ИБС показаны в таблице 3 и на рисунках 8–23. Все предикторы ИБС имели низкую чувствительность (Se) ПДТ, кроме предикторов АГ, ИМТ ≥ 25 , возраст 34–66 лет. В соответствии с используемой методикой [27] Se обладает возможностью «чувствовать» наличие болезни (ИБС) и показывает частоту «позитивов» среди лиц с этим исходом. Такая интерпретация показателя применяется при оценке ПДТ метода обследования пациента. При оценке факторов среды по этой методике следует понимать, что Se показывает распространённость фактора, вызвавшего заболевание среди лиц, у которых этот исход наступил (табл. 2, 3). То есть Se при работе с предикторами определяет и показывает экспозицию (накопление, дозу) фактора [29], способную вызвать ожидаемое заболевание в конкретной популяции. Эта информация важна для определения объёма профилактических мер и медицинской помощи в конкретном социуме. Диапазон вероятности события заболевания показывают показатели PPV и NPV . ДИ прогностичности «позитивов» PPV предикторов: АГ, СРПВ > 12 м/с, возраст 34–66 лет, ГЛЖ, МАУ, Ат.АО, ТИМ/АСБ, ожирение III степени, ретинопатия, – «не перекрывают» центральную зону популяционной распространённости ИБС $Prev$, что свидетельствует об информативности их значений. Рисунки 9–14, 16, 21, 22 подтверждают этот вывод визуально. ДИ прогностичности «позитивов» PPV предикторов: ЧПА, гипергликемия, ИМТ $\geq 25,0$,

ожирение I–II степени, дислипидемия – захватывают зону популяционной распространённости ИБС $Prev$ и не имеют информативного значения (рис. 8, 15, 18–20, 23). В этой связи при оценке данных предикторов следует ориентироваться на ДИ прогностичности «негативов» NPV , показывающих диапазоны вероятности отсутствия возникновения ИБС у лиц, не имеющих этих предикторов, а также долю лиц в популяции (Sp) без этих факторов, гарантирующую отсутствие ИБС в этом диапазоне вероятности на уровне контролируемого социума. ДИ «негативов» и «позитивов» предиктора психосоциальный стресс перекрывают зону распространённости ИБС $Prev$ и не имеют информативного значения. Данный фактор (конфаундер) ассоциирован и способствует формированию ИБС, но не оказывает на ИБС самостоятельного прогностического влияния (рис. 7, 17) [17]. Количественную оценку повышения шансов события заболевания или отсутствия заболевания в группе «позитивов» $LR[+]$ и в группе «негативов» $LR[-]$ показывают отношения правдоподобий ПДТ. Предикторы ТИМ/АСБ, МАУ, СРПВ > 12 м/с, ИМТ > 40,0, в отличие от других предикторов ИБС, статистически значимо умеренно повышают апостериорные шансы в пользу возникновения ИБС после получения у пациента положительного результата ПДТ. Предиктор возраст в диапазоне 34–66 лет статистически значимо умеренно повышает апостериорные шансы в пользу отсутствия ИБС против возникновения ИБС после получения у пациента отрицательного результата ПДТ. В нашем исследовании большая часть предикторов ИБС не достигла уровня статистической значимости Se , и, следовательно, этот показатель неточно определяет распространённость (экспозицию) ФР в группе лиц, у которых возникла ИБС, что указывает на более высокую реальную статистически значимую концентрацию ФР, необходимую для формирования этого заболевания в группе РЛБ ЗабЖД. Для определения точного значения концентрации этих ФР, вызывающих ИБС в популяции РЛБ, необходимы уточняющие популяционные исследования на более крупной выборке или выборке аналогичной численности, но более длительные по времени наблюдения.

Мы не сопоставляли полученные результаты ПДТ предикторов ИБС с данными ПДТ коронарографии или КТ-коронарографии, считающихся золотым стандартом диагностики ИБС по причине отсутствия публикаций по оценке методом ПДТ последних. Вместе с тем сравнивать предикторы заболевания и методы диагностики заболевания не представляется возможным, так как они относятся к разным категориям и обладают разными качествами. Предикторы формируют доклиническое течение и прогрессируют заболевание до появления клинических проявлений; методы диагностики заболевания этим качеством не обладают, как и рядом других свойств ФР.

Графическая оценка метода статистического контроля качества ПДТ предикторов ИБС как скрининг-тестов является заключительным этапом методики [27, 28] и полезным инструментом визуализации полученных оценок и влияния предикторов на популяционную распространённость заболевания. Насколько исследуемый предиктор инвазивен и опасен, видно на графиках.

ТАБЛИЦА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРЯЕМОГО ДИАГНОСТИЧЕСКОГО
ТЕСТА ПРЕДИКТОРОВ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ
СЕРДЦА

TABLE 3

RESULTS OF A VERIFIABLE DIAGNOSTIC TEST
FOR PREDICTORS OF CORONARY HEART DISEASE

Предикторы ИБС	Se	Sp	Вероятность возникновения ИБС				Отношение правдоподобий	
			PPV (+), %		NPV (-), %		LR[+]	LR[-]
			PPV	coPPV	NPV	coNPV		
ЧПА	0,03	0,99	0,1 2,7 9,9	90,1 97,3 99,9	98,8 99,1 99,3	0,7 0,9 1,2	3,0	1,0
Артериальная гипертензия	0,80	0,75	2,0 2,9 3,9	96,1 97,1 98,0	99,5 99,7 99,9	0,1 0,3 0,5	3,2	3,6
Ретинопатия I–II степени	0,23	0,96	2,5 5,0 8,5	91,5 95,0 97,5	99,0 99,3 99,5	0,5 0,7 1,0	5,7	1,3
ГЛЖ	0,29	0,93	1,9 3,5 5,7	94,3 96,5 98,1	99,0 99,3 99,5	0,5 0,7 1,0	3,9	1,3
Стресс	0,19	0,79	0,4 0,9 1,6	98,4 99,1 99,6	98,7 99,1 99,3	0,7 9,3 1,3	0,9	1,0
ТИМ/АСБ	0,05	0,99	2,8 15,4 37,4	62,6 84,6 97,2	98,8 99,1 99,4	0,6 0,9 1,2	19,6	1,1
Микроальбуминурия	0,03	0,99	1,2 20,0 58,5	41,5 80,0 98,8	98,8 99,1 99,4	0,6 0,9 1,2	27,0	1,0
Атеросклероз аорты	0,21	0,94	1,5 3,3 5,8	94,2 96,7 98,5	98,9 99,2 99,5	0,5 0,8 1,1	3,6	1,2
СРПВ > 12 м/с	0,04	0,99	1,8 14,3 38,7	61,3 85,7 98,2	98,8 99,1 99,4	0,6 0,9 1,2	18,6	1,0
Дислипидемия	0,45	0,68	0,8 1,3 2,0	98,0 98,7 99,2	98,9 99,3 99,5	0,5 0,7 1,1	1,4	1,2
Гипергликемия	0,10	0,94	0,5 1,6 3,5	96,5 98,4 99,5	98,8 99,1 99,4	0,6 0,9 1,2	1,7	1,0
ИМТ ≥ 25,0	0,74	0,42	0,8 1,1 1,6	98,4 99,4 99,2	99,0 99,4 99,7	0,3 0,6 1,0	1,3	1,6
ИМТ = 30,0–34,9	0,26	0,85	0,8 1,6 2,6	97,4 98,4 99,2	98,9 99,2 99,5	0,5 0,8 1,1	1,7	1,1
ИМТ = 35,0–39,9	0,08	0,97	0,7 2,5 5,9	94,1 97,5 99,3	98,8 99,1 99,4	0,6 0,9 1,2	2,8	1,1
ИМТ ≥ 40,0	0,04	0,99	1,4 11,5 32,1	67,9 88,5 98,6	98,8 99,1 99,4	0,6 0,9 1,2	14,1	1,0
Возраст 34–66 лет	0,99	0,38	1,0 1,4 2,0	98,0 98,6 99	99,0 99,9 100,0	0,0 0,03 1,0	1,6	27,5

Примечание. Информативные значения показаны жирным шрифтом, из них зачёркнуты результаты, не выдержавшие вербальную оценку. Результаты оценок в таблицах и рисунках показаны в виде 99%-го ДИ. Показатели Se (чувствительность – как часто наблюдаются «позитивы» у лиц с ИБС, т. е. в какой мере тест «чувствует» наличие ИБС) и Sp (специфичность – как часто наблюдаются «негативы» у лиц без ИБС, т. е. в какой мере тест «чувствует» отсутствие ИБС) представлены в виде долей, так как показывают конкретное значение встречаемости (накопления) ФР среди совокупности лиц, у которых изучаемый исход (ИБС) наступил (Se), и конкретное значение отсутствия этого фактора среди лиц, у которых ИБС не возникла (Sp). Показатели PPV (прогностичность «позитивов» – способность ПДТ правильно предсказывать ИБС у лиц с «позитивом») и NPV (прогностичность «негативов» – способность ПДТ правильно предсказывать отсутствие ИБС у лиц с «негативом») и их инверсии coPPV (контр-прогностичность – способность ПДТ ошибочно предсказывать отсутствие ИБС у лиц с «позитивом») и coNPV (контр-прогностичность «негативов» – способность ПДТ ошибочно предсказывать ИБС у лиц с «негативом») представлены в %, так как показывают диапазон вероятности возникновения или отсутствия события ИБС у представителей выборки. LR[+] – отношение доли «позитивов» среди лиц с ИБС к доле «позитивов» среди лиц без ИБС, показывает повышение апостериорных шансов в пользу наличия ИБС против её отсутствия у респондента в сравнении с априорными шансами после получения у него положительного результата ПДТ; LR[-] – отношение доли «негативов» среди лиц без ИБС к доле «негативов» среди лиц с ИБС, показывает повышение апостериорных шансов в пользу отсутствия ИБС против её наличия у респондента в сравнении с априорными шансами после получения у него отрицательного результата ПДТ; – самостоятельное влияние фактора; – взаимодействие фактора; – конфаундинг-эффект.

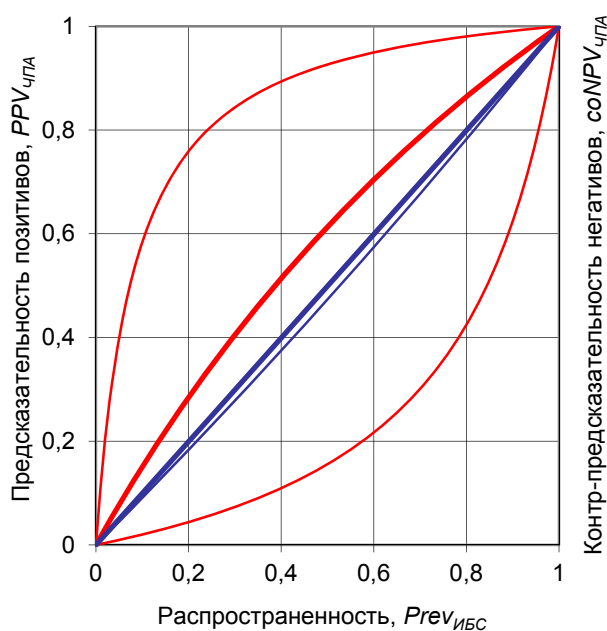


РИС. 8.

График зависимости PPV_{CHD} и $coNPV_{CHD}$ от $Prev_{CHD}$

FIG. 8.

PPV_{EAC} and $coNPV_{EAC}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: EAC – excessive alcohol consumption; CHD – coronary heart disease

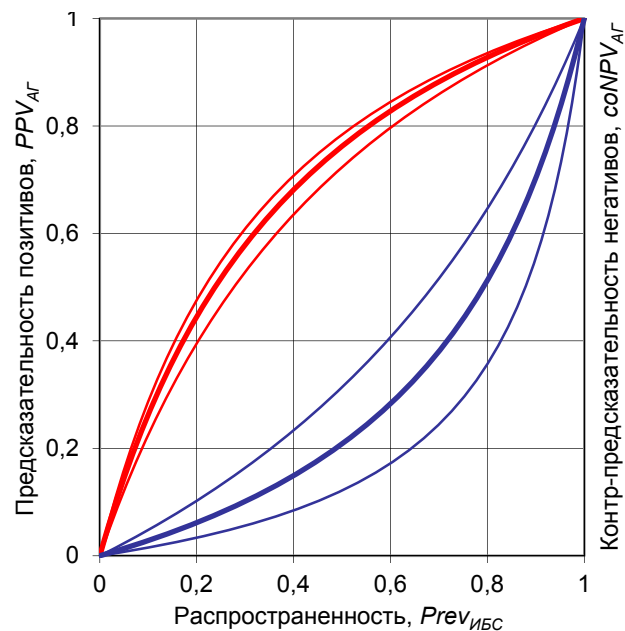


РИС. 9.

График зависимости PPV_{AH} и $coNPV_{AH}$ от $Prev_{CHD}$

FIG. 9.

PPV_{AH} and $coNPV_{AH}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: AH – arterial hypertension; CHD – coronary heart disease

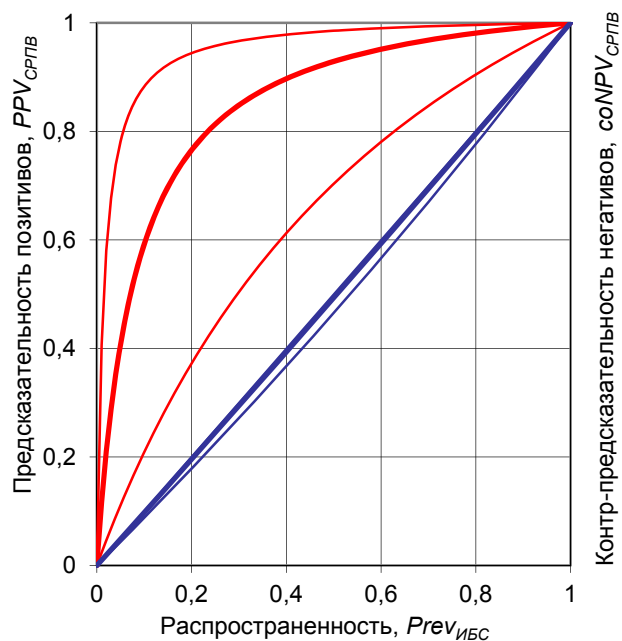


РИС. 10.
График зависимости PPV_{CRPB} и $coNPV_{CRPB}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 10.
 PPV_{PWV} and $coNPV_{PWV}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: PWV – pulse wave velocity; CHD – coronary heart disease

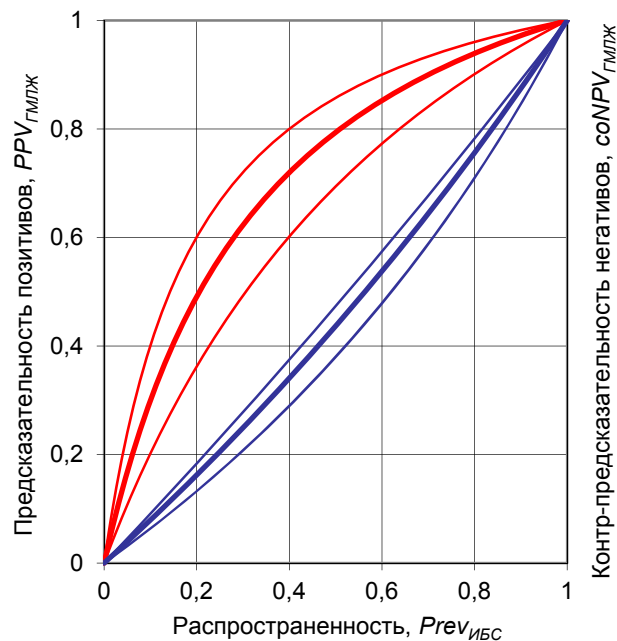


РИС. 12.
График зависимости $PPV_{ГЛЖ}$ и $coNPV_{ГЛЖ}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 12.
 PPV_{LVH} and $coNPV_{LVH}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: LVH – left ventricular hypertrophy; CHD – coronary heart disease

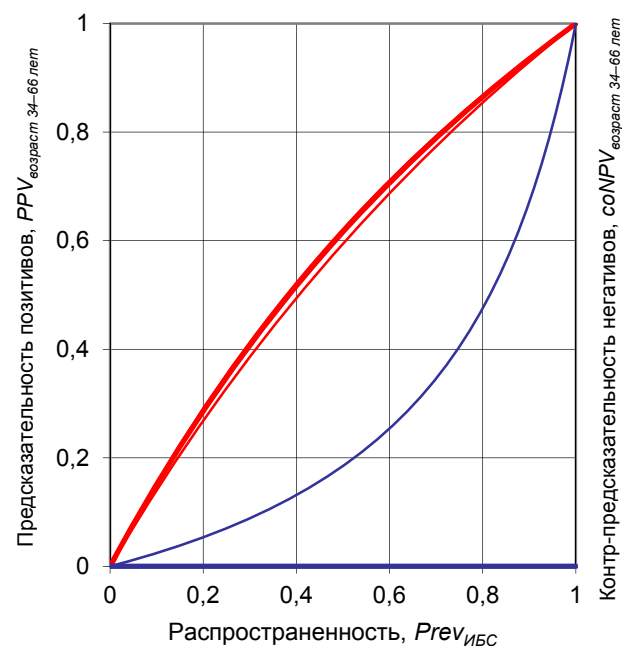


РИС. 11.
График зависимости $PPV_{\text{возраст 34-66 лет}}$ и $coNPV_{\text{возраст 34-66 лет}}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 11.
 $PPV_{\text{age 34-66}}$ and $coNPV_{\text{age 34-66}}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: CHD – coronary heart disease

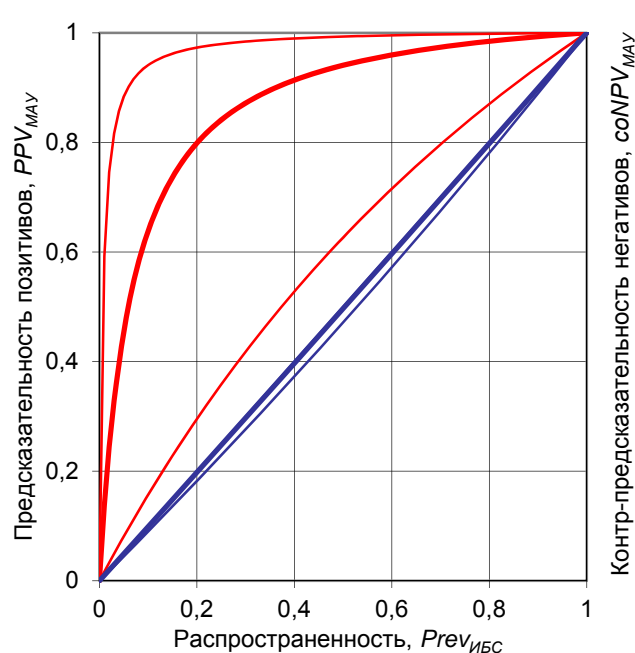


РИС. 13.
График зависимости $PPV_{МАУ}$ и $coNPV_{МАУ}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 13.
 PPV_{MAU} and $coNPV_{MAU}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: MAU – microalbuminuria; CHD – coronary heart disease

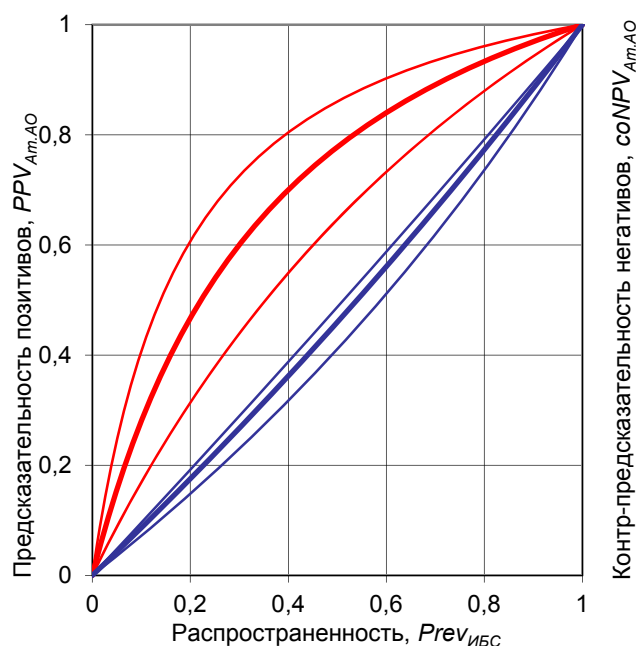


РИС. 14.
График зависимости $PPV_{Am.AO}$ и $coNPV_{Am.AO}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 14.
 PPV_{AA} and $coNPV_{AA}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: AA – atherosclerosis of aorta; CHD – coronary heart disease

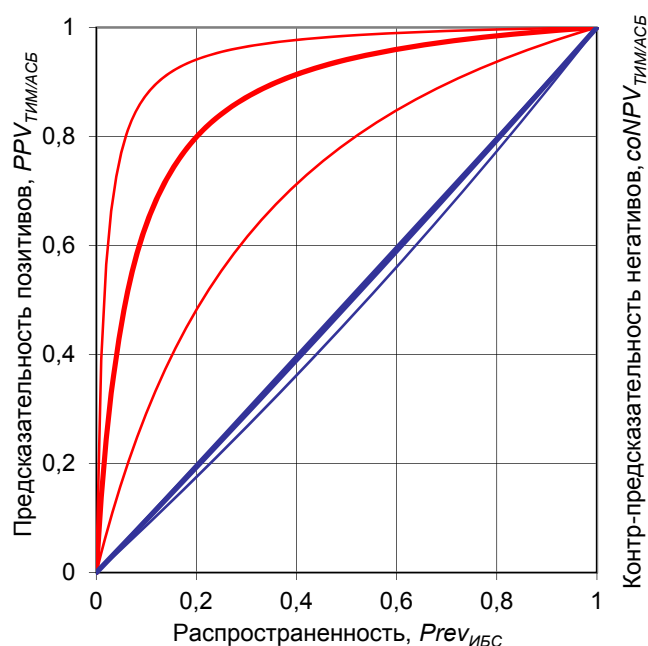


РИС. 16.
График зависимости $PPV_{TИМ/АСБ}$ и $coNPV_{TИМ/АСБ}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 16.
 $PPV_{IMT/ASP}$ and $coNPV_{IMT/ASP}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: IMT – intima-media thickness; ASP – atherosclerotic plaque; CHD – coronary heart disease

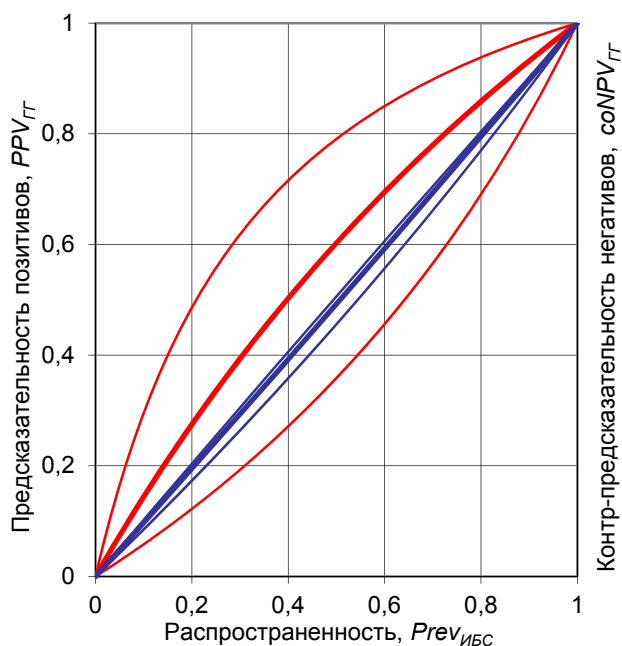


РИС. 15.
График зависимости $PPV_{ГГ}$ и $coNPV_{ГГ}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 15.
 PPV_{HG} and $coNPV_{HG}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: HG – hyperglycemia; CHD – coronary heart disease

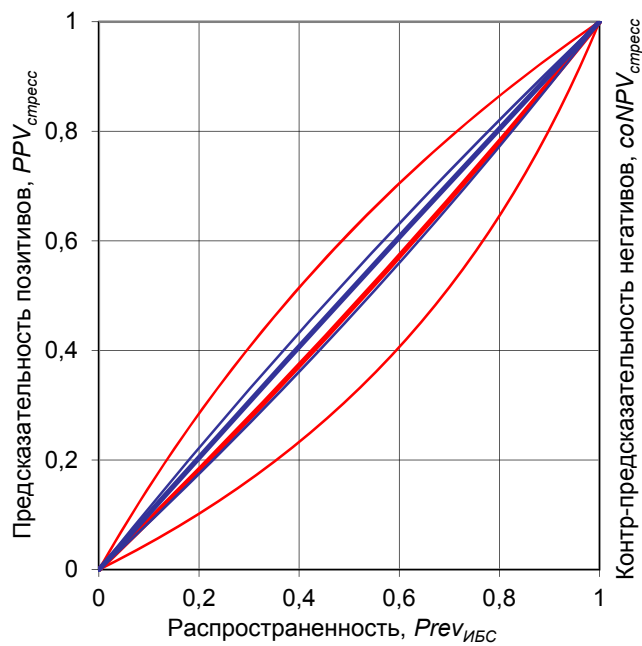


РИС. 17.
График зависимости $PPV_{стресс}$ и $coNPV_{стресс}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 17.
 PPV_{stress} and $coNPV_{stress}$ versus $Prev_{CHD}$ prevalence: CHD – coronary heart disease

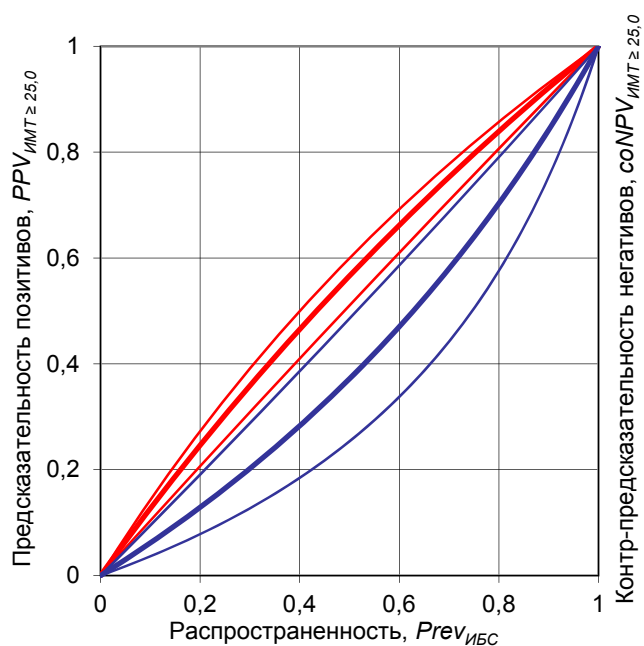


РИС. 18.
График зависимости $PPV_{ИМТ \geq 25,0}$ и $coNPV_{ИМТ \geq 25,0}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 18.
 $PPV_{BMI \geq 25,0}$ and $coNPV_{BMI \geq 25,0}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: BMI – body mass index; CHD – coronary heart disease

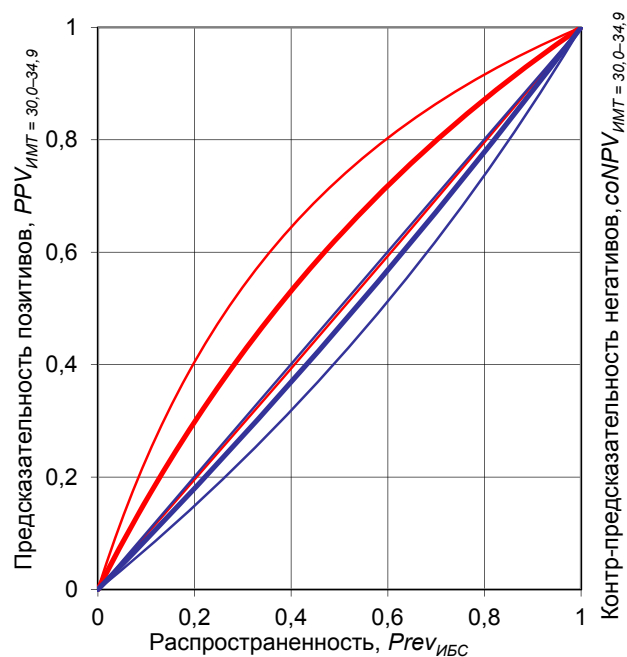


РИС. 20.
График зависимости $PPV_{ИМТ = 30,0-34,9}$ и $coNPV_{ИМТ = 30,0-34,9}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 20.
 $PPV_{BMI = 30,0-34,9}$ and $coNPV_{BMI = 30,0-34,9}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: BMI – body mass index; CHD – coronary heart disease

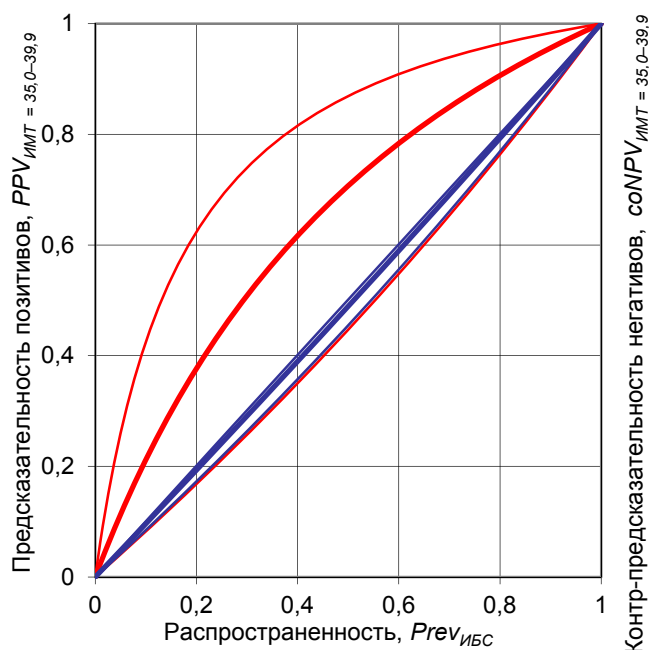


РИС. 19.
График зависимости $PPV_{ИМТ = 35,0-39,9}$ и $coNPV_{ИМТ = 35,0-39,9}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 19.
 $PPV_{BMI = 35,0-39,9}$ and $coNPV_{BMI = 35,0-39,9}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: BMI – body mass index; CHD – coronary heart disease

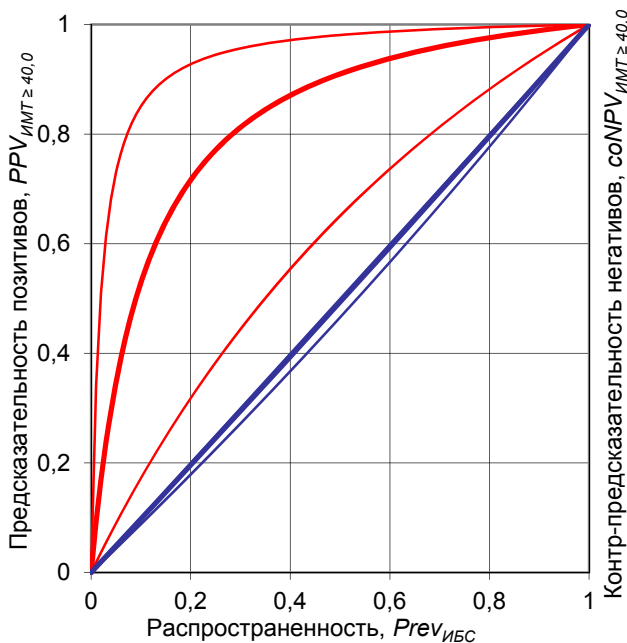


РИС. 21.
График зависимости $PPV_{ИМТ \geq 40,0}$ и $coNPV_{ИМТ \geq 40,0}$ от $Prev_{ИБС}$

FIG. 21.
 $PPV_{BMI \geq 40,0}$ and $coNPV_{BMI \geq 40,0}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: BMI – body mass index; CHD – coronary heart disease

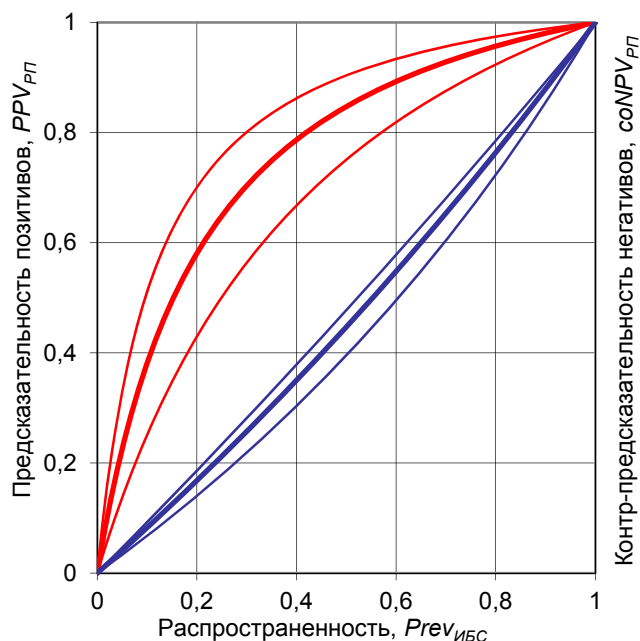


РИС. 22.

График зависимости PPV_{RP} и $coNPV_{RP}$ от $Prev_{ИБС}$: РП – ретинопатия

FIG. 22.

PPV_{RP} and $coNPV_{RP}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: RP – retinopathy; CHD – coronary heart disease

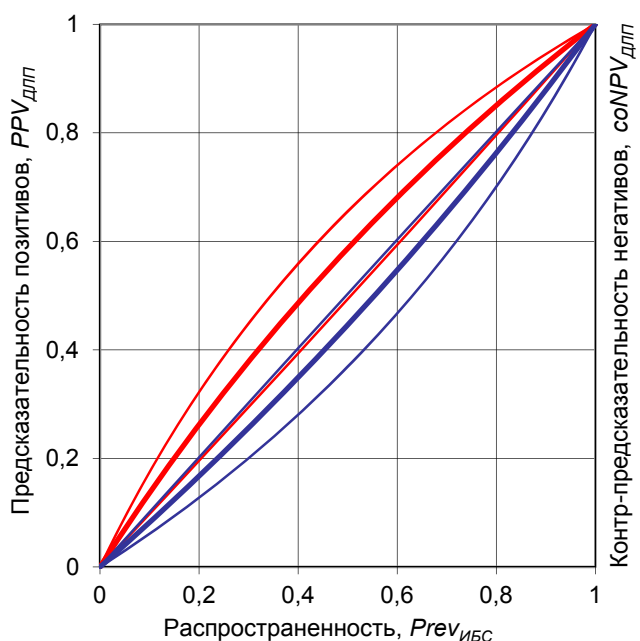


РИС. 23.

График зависимости PPV_{DL} и $coNPV_{DL}$ от $Prev_{ИБС}$: ДЛП – дислипидемия

FIG. 23.

PPV_{DL} and $coNPV_{DL}$ versus $Prev_{CHD}$ diagram: DL – dyslipidemia; CHD – coronary heart disease

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предикторы ИБС обладают высокой и умеренной специфичностью в отношении отсутствия возникновения ИБС у лиц, имеющих отрицательный результат на наличие факторов этого заболевания. При оценке вероятности ИБС следует ориентироваться на вероятность как возникновения, так и отсутствия исхода при наличии или отсутствии у пациента фактора этого заболевания и учитывать достигший статистической значимости результат. Полученные данные можно применять при формировании профессиональных групп операторских профессий с повышенными медицинскими требованиями к кандидатам, например РЛБ, управляющих локомотивом «в одно лицо» без помощника машиниста. Устранимые предикторы заболевания следует модифицировать с целью улучшения медицинских показателей работника. При наборе работников следует учитывать все факторы заболевания. Предикторы ТИМ/АСБ, МАУ, СРПВ > 12 м/с, ИМТ > 40,0, в отличие от других предикторов ИБС, статистически значимо умеренно повышают апостериорные шансы в пользу возникновения ИБС против её отсутствия в сравнении с априорными шансами после получения у пациента положительного результата ПДТ. Предиктор возраст в диапазоне 34–66 лет статистически значимо умеренно повышает апостериорные шансы в пользу отсутствия ИБС против её возникновения в сравнении с априорными шансами после получения у пациента отрицательного результата ПДТ.

Так как определение предикторов СРПВ > 12 м/с, Ат.АО, МАУ, ЧПА, стресс у РЛБ в обязательном порядке нормативными документами не предусмотрено, необходимо проводить их целенаправленный поиск, тем более если скрининг фактора ЧПА будет проводиться среди РЛБ с целью предупреждения других ССЗ, предиктором которых этот фактор является [12, 33, 34]. Тест ЧПА: латентное суточное разовое потребление алкоголя выше безопасной нормы ВОЗ, т. е. более 2 стандартных доз алкоголя в сутки при 1 дозе 13,7 г (18 мл этанола), – выявляется выполнением диагностического алгоритма хронической алкогольной интоксикации [12, 35]. Остальные предикторы ИБС у РЛБ также следует выявлять с целью проведения лечебно-профилактических мероприятий экспонированным этими факторами работникам ввиду имеющихся диагностических методик и с целью предупреждения их кумуляции в популяции и у конкретного работника.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Глущенко В.А., Иркленко Е.К. Сердечно-сосудистая заболеваемость – одна из важнейших проблем здравоохра-

нения. *Медицина и организация здравоохранения*. 2019; 4(1): 56-63. [Glushhenko VA, Irkliencko EK. Cardiovascular morbidity – one of the most vital problems of modern health care. *Medicine and Health Care Organization*. 2019; 4(1): 56-63. (In Russ.)].

2. Алексеева А.В. Некоторые аспекты доступности медицинской помощи детскому населению. *Детская медицина Северо-Запада*. 2018; 7(1): 18. [Alekseeva AV. Some aspects of the accessibility of medical care for children. *Children's Medicine of the North-West*. 2018; 7(1): 18-25. (In Russ.)].

3. Зубко А.В., Сабгайда Т.П., Семенова В.Г., Музыкантова Н.Н. Потери российского населения от предотвратимых причин сердечно-сосудистой смертности в периоды до и во время пандемии. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2023; 69(1): 6. [Zubko AV, Sabgayda TP, Semyonova VG, Muzykantova NN. Mortality associated with preventable causes of deaths from cardio-vascular diseases in the pre-COVID period and during the pandemic in Russia. *Social'nye aspekty zdorov'a naselenia*. 2023; 69(1): 6. (In Russ.)]. doi: 10.21045/2071-5021-2023-69-1-6

4. Самородская И.В., Ключников И.В. Динамика показателей смертности от хронических и острых форм ишемической болезни сердца в регионах Российской Федерации в 2013–2021 годах. *Клиническая медицина*. 2023; 101(7-8): 395-403. [Samorodskaya IV, Klyuchnikov IV. Dynamics of mortality rates from chronic and acute coronary heart disease in the regions of the Russian Federation in 2013–2021. *Clinical Medicine (Russian Journal)*. 2023; 101(7-8): 395-403. (In Russ.)]. doi: 10.30629/0023-2149-2023-101-7-8-395-403

5. Цыбусов А.П. Формирование здорового образа жизни – актуальная и неотложная задача отечественного здравоохранения. *Медицинский альманах*. 2017; (2): 10-13. [Tsybysov AP. The formation of a healthy lifestyle is a current and urgent task of domestic healthcare. *Medical Almanac*. 2017; (2): 10-13. (In Russ.)].

6. Бичурин Д.Р., Аتماйкина О.В., Черепанова О.А. Сердечно-сосудистые заболевания. Региональный аспект. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2023; 134(8). [Bichurin DR, Atmaikina OV, Cherepanova OA. Cardiovascular diseases. A regional aspect. *International Research Journal*. 2023; 134(8). (In Russ.)]. doi: 10.23670/IRJ.2023.134.103

7. Абросимов В.Н., Жукова Л.А., Глотов С.И., Алексеева Е.А. *Ишемическая болезнь сердца: учебное пособие*. Рязань: РязГМУ; 2015. [Abrosimov VN, Zhukova LA, Glotov SI, Alekseeva EA. *Coronary heart disease: Textbook*. Ryazan: Ryazan State Medical University; 2015. (In Russ.)].

8. Гома Т.В. *Ишемическая болезнь сердца. Стенокардия напряжения: учебное пособие*. Иркутск: ИГМУ; 2022. [Goma TV. *Cardiac ischemia. Angina pectoris: Textbook*. Irkutsk: Irkutsk State Medical University; 2022. (In Russ.)].

9. Барбараш О.Л., Карпов Ю.А., Кашталап В.В., Бощенко А.А., Руда М.М., Акчурин Р.С., и др. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 25(11): 201-250. [Barbarash OL, Karpov YuA, Kashtalap VV, Boshchenko AA, Ruda MM, Akchurin RS, et al. 2020 Clinical practice guidelines for stable coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(11): 201-250. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-4076

10. Об утверждении перечня медицинских противопоказаний к работам, непосредственно связанным с движением поездов и маневровой работой: Приказ Минздравсоцразвития

РФ № 796 от 19.12.2005. 2015. [On approval of the list of medical contraindications for work directly related to the movement of trains and shunting work: Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation No. 796 d.d. 19.12.2005. 2015. (In Russ.)]. URL: <http://base.consultant.ru> [дата доступа: 12.02.2024].

11. Прилуцкая Ю.А., Дворецкий Л.И. Стратегия ведения больных с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST. *Кардиология*. 2019; 59(9): 40-51. [Prilutskaya YuA, Dvoretski LI. The strategy of management patients with non-ST elevation acute coronary syndrome. *Kardiologiya*. 2019; 59(9): 40-51. (In Russ.)]. doi: 10.18087/cardio.2019.9.n366

12. Лазуткина А.Ю. *Прогнозирование сердечно-сосудистых заболеваний и их исходов у работников локомотивных бригад Забайкальской железной дороги (результаты 6-летнего проспективного наблюдения)*: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Чита; 2017. [Lazutkina AYU. *Prediction of cardiovascular diseases and their outcomes among workers of locomotive crews of the Trans-Baikal Railway (results of a 6-year prospective observation)*: Abstract of the Thesis of Cand. Sc. (Med.). Chita; 2017. (In Russ.)].

13. Бойцов С.А., Драпкина О.М. Современное содержание и совершенствование стратегии высокого сердечно-сосудистого риска в снижении смертности от сердечно-сосудистых заболеваний. *Терапевтический архив*. 2021; 93(1): 4-6. [Boytsov SA, Drapkina OM. Modern content and improvement of high cardiovascular risk strategy in reducing mortality from cardiovascular diseases. *Terapevticheskii arkhiv*. 2021; 93(1): 4-6. (In Russ.)]. doi: 10.26442/00403660.2021.01.200543

14. Мурасеева Е.В., Горохова С.Г., Пригоровская Т.С., Пфаф В.Ф. К вопросу оценки профпригодности работников железнодорожного транспорта с желудочковыми нарушениями ритма сердца после стентирования коронарных артерий. *Медицина труда и промышленная экология*. 2016; (4): 1-4. [Muraseyeva EV, Gorokhova SG, Prigorovskaya TS, Pfaf VF. On evaluating occupational fitness in railway workers with ventricular arrhythmias after coronary arteries stenting. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2016; (4): 1-4. (In Russ.)].

15. Abram E. *Screening and diagnostic tests*. URL: <http://emedicine.medscape.com/article/773832-overview#aw2aab6b5> [date of access: 05.02.2023].

16. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. *WHO Chronicle*. 1968; 22(11): 473.

17. Лазуткина А.Ю., Горбунов В.В. *Континуум ишемической болезни сердца*. Хабаровск: ДВГМУ; 2018. [Lazutkina AYU, Gorbunov VV. *Continuum of coronary heart disease*. Khabarovsk: DVSMU; 2018. (In Russ.)].

18. Диагностика и лечение артериальной гипертензии: рекомендации РМОАГ и ВНОК. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2008; 7(6 Прил. 2): 1-32. [Diagnosis and treatment of arterial hypertension: recommendations of the Russian Medical Society for Arterial Hypertension and the All-Russian Scientific Society of Cardiology. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2008; 7(6 Suppl 2): 1-32. (In Russ.)].

19. Кардиоваскулярная профилактика: рекомендации ВНОК. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2011; 10(6 Прил. 2): 1-64. [Cardiovascular prevention: recommendations of the All-Russian Scientific Society of Cardiology. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2011; 10(6 Suppl 2): 1-64. (In Russ.)]

20. Петри М.А., Сэбин К. *Наглядная медицинская статистика*; 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР Медиа; 2010.

[Petri MA, Sabin K. *Visual medical statistics*; 2nd edition, revised and enlarged. Moscow: GEOTAR Media; 2010. (In Russ.)].

21. *Диагностика и лечение стабильной стенокардии: рекомендации ВНОК*. М.; 2009. [Diagnosis and treatment of stable angina: Recommendations of the All-Russian Scientific Society of Cardiology. Moscow; 2009. (In Russ.)].

22. *Диагностика и лечение хронической ишемической болезни сердца: клинические рекомендации Минздрава России и Общества специалистов по неотложной кардиологии и профильной комиссии по кардиологии*. М.; 2013. [Diagnosis and treatment of chronic coronary heart disease: Clinical recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation and the Society of Specialists in Emergency Cardiology and the specialized commission on cardiology. Moscow; 2013. (In Russ.)].

23. Рекомендации по лечению стабильной ишемической болезни сердца. ESC 2013: клинические рекомендации Европейского общества кардиологов. *Российский кардиологический журнал*. 2014; 111(7): 7-79. [Recommendations for the treatment of stable coronary heart disease. ESC 2013: European Society of Cardiology clinical guidelines. *Russian Journal of Cardiology*. 2014; 111(7): 7-79. (In Russ.)].

24. Рекомендации по диагностике и лечению артериальной гипертонии Европейского общества по гипертонии (ESH) и Европейского общества кардиологов (ESC). *Journal of Hypertension*. 2013; 31(7): 1281-1357. [Recommendations for the diagnosis and treatment of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of Hypertension*. 2013; 31(7): 1281-1357. (In Russ.)].

25. *Организация проведения диспансеризации и профилактических медицинских осмотров взрослого населения: Письмо Министерства здравоохранения РФ № 14-2/10/2-6432 от 29.08.2013*. 2013. [Organization of medical examinations and preventive medical examinations of the adult population: Letter of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 14-2/10/2-6432 d.d. 08.29.2013. 2013. (In Russ.)].

26. Румянцев П.О., Саенко В.А., Румянцева У.В., Чекин С.Ю. Статистические методы анализа в клинической практике. Часть II. Анализ выживаемости и многомерная статистика. *Проблемы эндокринологии*. 2009; 55(6): 48-56. [Rumyantsev PO, Saenko VA, Rumyantseva UV, Chekin SYu. Statistical methods for the analyses in clinical practice. Part 2. Survival analysis and multivariate statistics. *Problems of Endocrinology*. 2009; 55(6): 48-56. (In Russ.)]. doi: 10.14341/probl200955648-56

27. Тишков А.В., Хромов-Борисов Н.Н., Комашня А.В., Марченкова Ф.Ю., Семенова Е.М., Эюбова Н.И., и др. *Статистический анализ таблиц 2 × 2 в диагностических исследованиях*. СПб.: СПбГМУ; 2013. [Tishkov AV, Khromov-Borisov NN, Komashnya AV, Marchenkova FYu, Semenova EM, Eyubova NI, et al. *Statistical analysis of 2x2 tables in diagnostic studies*. Saint Petersburg: St. Petersburg State Medical University; 2013. (In Russ.)].

28. Хромов-Борисов Н.Н., Тишков А.В., Комашня А.В., Марченкова Ф.Ю., Семенова Е.М. *Статистический анализ клинических исследований: таблица 2×2. Версия 1.0: Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2012616821*. 2012. [Khromov-Borisov NN, Tishkov AV, Komashnya AV, Marchenkova FYu, Semenova EM. *Statistical analysis of clinical studies: 2 × 2 table. Version 1.0: Certificate of state registration of a computer program No. 2012616821*. 2012. (In Russ.)].

29. Ласт Дж.М. (ред.). *Эпидемиологический словарь*. М.; 2009. [Last JM (ed.). *Epidemiological dictionary*. Moscow: 2009. (In Russ.)].

30. Заболотских В.В., Васильев А.В., Терещенко Ю.П. Синергические эффекты при одновременном воздействии физических и химических факторов. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2016; 18(5-2): 290-294. [Zabolotskikh VV, Vasilyev AV, Tereshchenko YuP. Synergistic effects with simultaneous exposure to physical and chemical factors. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2016; 18(5-2): 290-294. (In Russ.)].

31. Яковлева А.В. *Экономическая статистика: учебное пособие*. М.: Экзамен; 2005. [Yakovleva AV. *Economic statistics: textbook*. Moscow: Exam; 2005. (In Russ.)].

32. Токарев Ю.А., Шерстобитова Г.И. *Теория статистики: учебное пособие*. Самара: СГТУ; 2014. [Tokarev YuA, Sherstobitova GI. *Theory of statistics: textbook*. Samara: SSTU; 2014. (In Russ.)].

33. Порсукров Э.А. Судебно-медицинская диагностика внезапной сердечной смерти на фоне алкогольной кардиомиопатии. *Судебная медицина*. 2019; 5(3): 42-44. [Porsukov EA. Forensic diagnosis of sudden cardiac death on the background of alcoholic cardiomyopathy. *Russian Journal of Forensic Medicine*. 2019; 5(3): 42-44. (In Russ.)]. doi: 10.19048/2411-8729-2019-5-3-42-44

34. Шамрай В.Ю., Махмутова А.М., Ерубеева Б.Б. Сравнительный анализ основных факторов риска инсульта. *Нейрохирургия и неврология Казахстана*. 2019; (2): 85-88. [Shamray VYu, Makhmutova AM, Erubaeva BB. Comparative analysis of the main risk factors for stroke. *Neurosurgery and Neurology of Kazakhstan*. 2019; (2): 85-88. (In Russ.)].

35. Петров Д.В. *Диагностика, лечение и профилактика расстройств, вызванных употреблением алкоголя*. Ярославль; 2002. [Petrov DV. *Diagnosis, treatment and prevention of alcohol use disorders*. Yaroslavl; 2002. (In Russ.)].

Сведения об авторе

Лазуткина Анна Юрьевна – кандидат медицинских наук, ведущий инспектор-врач отдела организации медицинской помощи, Отдел здравоохранения по Дальневосточному федеральному округу, Центральная дирекция здравоохранения – филиал ОАО «РЖД», e-mail: Lazutkina_AU59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3024-8632>

Information about the author

Anna Yu. Lazutkina – Cand. Sc. (Med.), Leading Inspector Physician at the Department of the Organization of Medical Care, Far Eastern Board of Health, Central Directorate for Healthcare – Branch of the Russian Railways, e-mail: Lazutkina_AU59@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3024-8632>

ТРАВМАТОЛОГИЯ TRAUMATOLOGY

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ПАЦИЕНТОВ С ОРТОПЕДИЧЕСКОЙ ИМПЛАНТАТ-АССОЦИИРОВАННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ В ПОСТКОВИДНОМ ПЕРИОДЕ

РЕЗЮМЕ

Любимова Л.В.¹,
Пчелова Н.Н.¹,
Николаев Н.С.^{1,2},
Преображенская Е.В.¹,
Любимов Е.А.¹

¹ ФГБУ «Федеральный центр
травматологии, ортопедии
и эндопротезирования»

Минздрава России (428020, г. Чебоксары,
ул. Федора Гладкова, 33, Россия)

² ФГБОУ ВО «Чувашский государственный
университет имени И.Н. Ульянова»
(428015, г. Чебоксары,
Московский просп., 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Любимова Людмила Валентиновна,
e-mail: borisova-80@mail.ru

Введение. Этиологическая структура имплантат-ассоциированной инфекции и антибиотикорезистентность патогенов важны при выборе эмпирической антибиотикотерапии. Пандемия COVID-19, увеличение потребления населением антибиотиков могли провоцировать рост антибиотикорезистентности.

Цель работы. Сравнить спектр ведущих возбудителей имплантат-ассоциированной инфекции в до- и постковидном периоде с оценкой антибиотикорезистентности.

Материалы и методы. Проведено сплошное ретроспективное исследование образцов биоматериала пациентов травматолого-ортопедического профиля с имплантат-ассоциированной инфекцией за 2018–2019 и 2021–2022 гг. Выборка составила 548 штаммов микроорганизмов ($n = 237$ и $n = 317$ соответственно) в 442 случаях инфекционных осложнений. Проводилась оценка антибиотикорезистентности всех выделенных микроорганизмов, в том числе из микробных ассоциаций.

Результаты. Ведущим возбудителем мономикробной имплантат-ассоциированной инфекции в оба периода исследования был *Staphylococcus epidermidis* (33–37 %). В 2021–2022 гг. увеличилась доля микробных ассоциаций (с 12,5 до 17,5 %; $p = 0,147$) с появлением в микробном пейзаже грибов. В постковидном периоде отмечен рост резистентности *Staphylococcus aureus* к тетрациклину и доксициклину; выделение метициллин-резистентных штаммов среди *Staphylococcus aureus* снизилось с 4 случаев (из 187) до 3 (из 232); сохранялась 100%-я чувствительность к рифампицину и ко-тримоксазолу. Выявлен рост резистентности *Staphylococcus epidermidis* ко всем тестируемым антибиотикам (статистически значимый – к фторхинолонам; $p = 0,002–0,003$) с выделением метициллин-резистентных штаммов в 80,5 % и 80,9 % случаев соответственно. Все выделенные изоляты стафилококков были чувствительны к ванкомицину и линезолиду. У представителей семейства Enterobacteriaceae выявлено снижение резистентности к карбапенемам и её рост к ко-тримоксазолу; у *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* – рост резистентности к карбапенемам и фторхинолонам. Все грамотрицательные микроорганизмы были чувствительны к колистину.

Заключение. Высокая частота выделения метициллин-резистентных стафилококков определяет выбор ванкомицина для эмпирической терапии. Рост резистентности стафилококков к фторхинолонам может способствовать ограничению их использования. Рост резистентности грамотрицательных бактерий, узкий спектр антибиотиков, действующих на карбапенемазопродуцентов, могут снижать эффективность терапии.

Ключевые слова: имплантат-ассоциированная инфекция, перипротезная инфекция, антибиотикорезистентность, COVID-19, *Staphylococcus epidermidis*, микробные ассоциации, карбапенемазопродуценты, метициллин-резистентные стафилококки

Для цитирования: Любимова Л.В., Пчелова Н.Н., Николаев Н.С., Преображенская Е.В., Любимов Е.А. Микробиологический профиль пациентов с ортопедической имплантат-ассоциированной инфекцией в постковидном периоде. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 203–212. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.20

Статья поступила: 11.01.2024

Статья принята: 13.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

MICROBIOLOGICAL PROFILE OF PATIENTS WITH ORTHOPEDIC IMPLANT-ASSOCIATED INFECTION IN THE POST-COVID PERIOD

Lyubimova L.V.¹,
Pchelova N.N.¹,
Nikolaev N.S.^{1,2},
Preobrazhenskaya E.V.¹,
Lyubimov E.A.¹

¹ Federal Center for Traumatology,
Orthopedics and Endoprosthetics
(Fedora Gladkova str. 33,
Cheboksary 428020, Russian Federation)

² Chuvash State University
named after I.N. Ulyanov
(Moskovsky Ave. 15, Cheboksary 428015,
Russian Federation)

Corresponding author:
Lyudmila V. Lyubimova,
e-mail: borisova-80@mail.ru

PE3ИOME

Background. The etiological structure of implant-associated infection and antibiotic resistance of pathogens are important when choosing empirical antibiotic therapy. COVID-19 pandemic and increased consumption of antibiotics by the population could provoke an increase in antibiotic resistance.

The aim of the work. To compare the spectrum of leading pathogens of implant-associated infection in the pre- and post-Covid period and to assess antibiotic resistance.

Materials and methods. A continuous retrospective study of biomaterial samples from traumatology and orthopedic patients with implant-associated infection was carried out for 2018–2019 and 2021–2022. The sample consisted of 548 microorganism strains ($n = 237$ and $n = 317$, respectively) in 442 cases of infectious complications. The antibiotic resistance of all isolated microorganisms, including those from microbial associations, was assessed.

Results. The leading pathogen of monomicrobial implant-associated infection in both study periods was *Staphylococcus epidermidis* (33–37 %). In 2021–2022, the proportion of microbial associations increased (from 12.5 to 17.5 %; $p = 0.147$) with the appearance of fungi in the microbial landscape. In the post-Covid period, the increase in *Staphylococcus aureus* resistance to tetracycline and doxycycline was revealed; the isolation of methicillin-resistant strains among *Staphylococcus aureus* decreased from 4 cases (out of 187) to 3 (out of 232); 100 % sensitivity to rifampicin and co-trimoxazole was maintained. An increase in *Staphylococcus epidermidis* resistance to all tested antibiotics was detected (statistically significant increase in resistance to fluoroquinolones; $p = 0.002–0.003$) with the isolation of methicillin-resistant strains in 80.5% and 80.9% of cases, respectively. All staphylococcal isolates were susceptible to vancomycin and linezolid. Enterobacteriaceae representatives showed a decrease in resistance to carbapenems and an increase in resistance to co-trimoxazole; in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*, there is an increase in resistance to carbapenems and fluoroquinolones. All gram-negative microorganisms were sensitive to colistin.

Conclusion. The high frequency of isolation of methicillin-resistant staphylococci determines the choice of vancomycin for empirical therapy. Increasing resistance of staphylococci to fluoroquinolones may limit their use. Increasing resistance of gram-negative bacteria and a narrow spectrum of antibiotics acting on carbapenemase producers may reduce the effectiveness of therapy.

Key words: implant-associated infection, periprosthetic infection, antibiotic resistance, COVID-19, *Staphylococcus epidermidis*, microbial associations, carbapenemase producers, methicillin-resistant staphylococci

Received: 11.01.2024
Accepted: 13.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Lyubimova L.V., Pchelova N.N., Nikolaev N.S., Preobrazhenskaya E.V., Lyubimov E.A. Microbiological profile of patients with orthopedic implant-associated infection in the post-COVID period. *Acta biomechanica scientifica*. 2024; 9(3): 203–212. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.20

ВВЕДЕНИЕ

В последнее десятилетие в медицине отмечена тенденция к увеличению использования различных имплантатов во время хирургических вмешательств. Несмотря на постоянное совершенствование биомеханических свойств конструкций, развитие имплантат-ассоциированных инфекций (ИАИ) остаётся актуальной проблемой.

Данный термин подразумевает широкое понятие, включающее в себя развитие инфекции в области установки любых имплантатов, в том числе ортопедических. Их наличие в организме приводит к возникновению пожизненного риска развития инфекции. Частота инфекционных осложнений различается в зависимости от вида оперативного вмешательства: после первичного эндопротезирования тазобедренного или коленного сустава она невысока и составляет 0,3–2 %; при ревизионном эндопротезировании возрастает до 20 % [1–4]; после остеосинтеза переломов колеблется от 1,8 до 27 % [5–9]; при внешней транспедикулярной фиксации позвоночника встречается в 0,7–20 % случаев [10].

По данным исследования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Минздрава России (г. Санкт-Петербург), проведённого в 2018 г., в структуре ведущих грамположительных возбудителей ИАИ отмечено снижение частоты выделения *Staphylococcus aureus* – с 34,5 % в 2012–2013 гг. до 28,6 % в 2016–2017 гг. – с сохранением его лидирующих позиций и параллельным ростом доли *Staphylococcus epidermidis* (с 18,4 % до 22,5 %), однако рост частоты выделения метициллин-резистентных штаммов был незначительным [11].

Распространённость возбудителей инфекционных осложнений и их устойчивость к антибиотикам в лечебных учреждениях может различаться. В случаях, когда патоген ещё не верифицирован, локальные эпидемиологические данные могут быть использованы для определения оптимальной тактики выбора эмпирической антибактериальной терапии, влияя на успех лечения. По данным зарубежных авторов, недавняя пандемия COVID-19 сформировала у переболевших предрасположенность к развитию сопутствующих заболеваний и коинфекций, что может быть проявлением иммунной нагрузки, которую этот вирус создаёт для хозяина [12]. Увеличение потребления населением антибактериальных препаратов также могло внести изменения в микробиологическую этиологию ИАИ и спровоцировать рост антибиотикорезистентности.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнить спектр ведущих возбудителей имплантат-ассоциированных инфекций в до- (2018–2019 гг.) и постковидном (2021–2022 гг.) периоде с оценкой антибиотикорезистентности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сплошное ретроспективное сравнительное исследование было выполнено на базе ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России (г. Чебоксары).

Проведён сравнительный анализ изменения спектра возбудителей ИАИ и антибиотикорезистентности в периоды 2018–2019 и 2021–2022 гг. Критерием включения в исследование служило выявление возбудителя при микробиологическом исследовании 4–6 образцов биоматериала от каждого пациента (интраоперационные биоптаты тканей, аспират с удалённых металлоконструкций после ультразвуковой обработки, синовиальная жидкость), полученных интраоперационно и в амбулаторных условиях при наличии глубокой или поверхностной инфекции области хирургического вмешательства. В анализ включали один, максимально информативный, из 4–6 результатов. Возбудителей в составе микробных ассоциаций не включали в анализ мономикробной инфекции.

Объём выборки составил 548 выделенных штаммов микроорганизмов ($n = 237$ в 2018–2019 гг. и $n = 317$ в 2021–2022 гг.) в 442 случаях инфекционных осложнений ($n = 208$ и $n = 234$ соответственно).

Большинство исследуемых были представлены пациентами женского пола (52,8 %) со средним возрастом $58,5 \pm 13,6$ года (4–88 года; старше 65 лет – 37,5 %). По локализации глубокая и поверхностная ИАИ выявлена после артропластики – в 70,4 % ($n = 311$), после реконструктивно-пластических операций на костях, суставах (в 17,6 % случаев; $n = 79$) и позвоночнике (12 % случаев; $n = 53$).

Посевы инкубировали до 14 суток с созданием условий для культивирования аэробов, анаэробов, капнофилов и грибов. Видовую идентификацию возбудителей с определением чувствительности к антибактериальным препаратам выполняли на автоматическом бактериологическом анализаторе Vitec 2 Compact (Bio Merieux, Франция) и на полуавтоматическом анализаторе Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США) с применением наборов и тест-систем Erba Lachema (Чехия).

Определение чувствительности к антибиотикам проводилось в соответствии с клиническими рекомендациями^{1, 2}. Диско-диффузионный метод применялся при наличии критериев оценки зон подавления роста возбудителей. Определение чувствительности грамотрицательных бактерий к колистину и стафилококков к доксициклину и ванкомицину определяли методом серийных разведений в бульоне Мюллера – Хинтона или с помощью Е-теста. При выявлении резистентных штаммов диско-диффузион-

¹ Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации (версия 2018-03). 2018. URL: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2018.pdf> [дата доступа: 02.11.2023].

² Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации (версия 2021-01). 2021. URL: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf> [дата доступа: 02.11.2023].

ным методом результаты подтверждали теми же методами. Несмотря на изменения критериев EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) 2021 г. по оценке диаметра зон подавления роста микроорганизмов с переходом из категории S (чувствительный) в категорию I (чувствительный при увеличенной экспозиции), мы относили случаи чувствительности I стафилококков к ципрофлоксацину и левофлоксацину, энтеробактерий – к имипенему к категории S.

Для выявления продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у изолятов семейства Enterobacteriaceae применяли метод «двойных дисков» и Е-тест цефазидим/клавуланат. Выявление карбапенемазопродуцирующих изолятов грамотрицательных бактерий проводили с помощью метода двойных дисков с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) и Ходж-теста.

К микробным ассоциациям относили случаи выделения более чем одного вида микроорганизмов в исследуемых биоматериалах. Оценка антибиотикорезистентности проводилась с учётом всех выделенных возбудителей, включая патогены в составе микробных ассоциаций. Диагностически значимым считали положительный результат роста одного и того же микроорганизма в двух и более образцах. Результаты микробиологического исследования биоматериала из свищевого хода в работе отдельно не анализировались.

Среди грамположительных и грамотрицательных возбудителей проведён анализ антибиотикорезистентности наиболее значимых изолятов (с частотой выделения более 4 %).

Статистическая обработка данных

Размер выборки определялся типом исследования (сплошное). Полученные данные регистрировали в виде электронных таблиц, визуализацию структуры данных и их анализ проводили с помощью программ MS Office Excel 2007 (Microsoft Corp., США). Определение

нормальности распределения выполнялось по Колмогорову – Смирнову. Для анализа категориальных данных в программе GraphPad (GraphPad Software, США) использовали точный критерий Фишера для проверки связи ($p < 0,05$). Количественные данные оценивали с помощью анализа распределения частот (в процентах).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ведущим возбудителем мономикробной ИАИ в оба периода исследования был *Staphylococcus epidermidis* – 37 % в 2018–2019 гг. и 33 % в 2021–2022 гг. (рис. 1).

Существенные изменения структуры возбудителей ИАИ за исследуемые периоды отсутствуют, однако обнаружен рост доли микробных ассоциаций – с 12,5 до 17,5 % ($p = 0,147$) – с появлением в микробном пейзаже грибов в 2021–2022 гг.

Объём выборки микробных ассоциаций составлял 173 изолята (49 изолятов – в 2018–2019 гг., 124 изолята – в 2021–2022 гг.) Наиболее часто встречаемыми возбудителями среди грамположительных микроорганизмов были коринебактерии (18,2 %), выделенные в двух и более образцах биоматериала, *Staphylococcus aureus* (17,5 %) и MRSE (12,4 %); среди грамотрицательных бактерий – *Acinetobacter baumannii* (8,7 %) и *Enterobacter cloacae* (8,0 %). При этом около 2/3 случаев составили ассоциации из двух микроорганизмов ($n = 48$) и 1/3 – ассоциации из трёх и более микроорганизмов ($n = 19$). Микробные ассоциации в 92,3 % случаев были выделены из интраоперационного биоматериала у пациентов со свищевой формой инфекции.

Микробный спектр, включая возбудителей поли- и мономикробной инфекции, представлен в основном грамположительными бактериями с частотой выделения 81,0 % (2018–2019 гг.) и 73,2 % (2021–2022 гг.) соответственно ($p = 0,041$) (табл. 1).

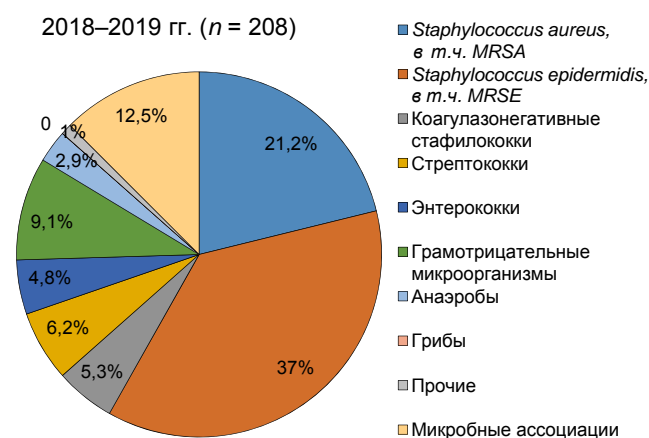


РИС. 1.

Структура культуропозитивной имплантат-ассоциированной инфекции

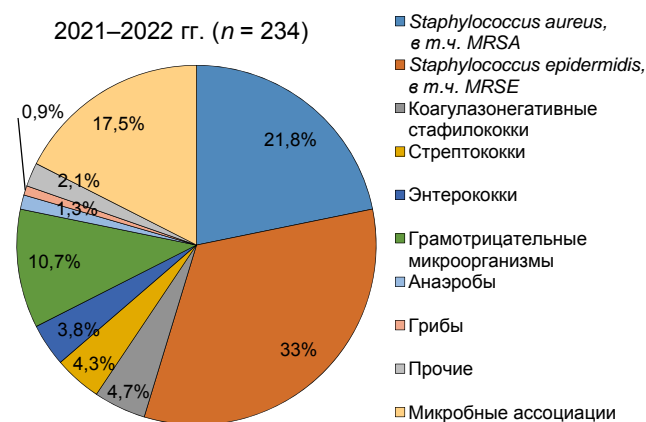


FIG. 1.

The structure of culture-positive implant-associated infection

ТАБЛИЦА 1
КОЛИЧЕСТВО ИЗОЛЯТОВ ПОЛИ-
И МОНОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ,
2018–2019 И 2021–2022 гг.

TABLE 1
THE NUMBER OF ISOLATES OF POLY-
AND MONOBACTERIAL INFECTIONS,
2018–2019 AND 2021–2022

Виды микроорганизмов	2018–2019 гг., N (%)	2021–2022 гг., N (%)	p
Грамположительные микроорганизмы	187 (81,0)	232 (73,2)	0,041
<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA	51 (22,0)	70 (22,1)	1,000
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	4 (1,7)	3 (0,9)	0,462
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MSSE	17 (7,4)	18 (5,7)	0,481
<i>Staphylococcus epidermidis</i> MRSE	70 (30,3)	76 (24,0)	0,117
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1 (0,4)	12 (3,8)	0,010
<i>Staphylococcus capitis</i>	1 (0,4)	4 (1,3)	0,403
<i>Staphylococcus hominis</i>	0 (0,0)	3 (0,9)	0,267
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	8 (3,5)	3 (0,9)	0,060
<i>Staphylococcus caprae</i> , <i>Staphylococcus warneri</i> , <i>Staphylococcus xylosus</i>	3 (1,3)	5 (1,6)	1,000
<i>Streptococcus</i> spp.	13 (5,6)	25 (7,9)	0,395
<i>Enterococcus faecalis</i>	18 (7,8)	11 (3,5)	0,033
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (0,4)	2 (0,6)	1,000
Грамотрицательные микроорганизмы	28 (12,1)	51 (16,1)	0,219
<i>Burkholderia cepacia</i> *	10 (4,3)	5 (1,6)	0,064
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 (1,7)	6 (1,9)	1,000
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1 (0,4)	2 (0,6)	1,000
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5 (2,2)	8 (2,5)	1,000
<i>Escherichia coli</i>	1 (0,4)	10 (3,2)	0,029
<i>Enterobacter cloacae</i>	5 (2,2)	11 (3,5)	0,448
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 (0,4)	5 (1,6)	0,322
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (0,4)	1 (0,3)	1,000
<i>Citrobacter braakii</i>	0 (0,0)	1 (0,3)	1,000
<i>Proteus mirabilis</i>	0 (0,0)	1 (0,3)	1,000
<i>Serratia marcescens</i>	0 (0,0)	1 (0,3)	1,000
Другие	16 (6,9)	34 (10,7)	0,136
Анаэробы	6 (2,6)	13 (4,1)	0,479
<i>Corynebacterii</i>	8 (3,5)	16 (5,0)	0,406
<i>Candida albicans</i>	0 (0,0)	2 (0,6)	0,511
<i>Micrococcus</i> spp.	1 (0,4)	1 (0,3)	1,000
<i>Micrococcus caseolyticus</i>	0 (0,0)	1 (0,3)	1,000
<i>Listeria</i> spp.	1 (0,4)	1 (0,3)	1,000
Всего	231 (100)	317 (100)	

Примечание. * – возбудитель был выделен у пациентов, первично оперированных в одной и той же медицинской организации другого региона.

Несмотря на сохраняющуюся лидирующую роль грамположительных микроорганизмов в исследуемые периоды (в частности *Staphylococcus epidermidis*), в 2021–2022 гг. выявлена тенденция к увеличению числа грамотрицательных возбудителей с 12,1 % до 16,1 % ($p = 0,219$) и других микроорганизмов с 6,9 % до 10,7 % ($p = 0,136$) со снижением удельного веса грамположительных возбудителей с 81,0 % до 73,2 % ($p = 0,041$). Среди грамотрицательных возбудителей в 2018–2019 гг. лидировала *Burkholderia cepacia*, в 2021–2022 гг. – *Enterobacter cloacae*.

В постковидном периоде регистрировали увеличение числа резистентных *Staphylococcus aureus* к тетрациклину и доксициклину и повышение чувствительности к фторхинолонам и гентамицину; частота выделения метициллин-резистентных штаммов снизилась с 4 случаев (из 187) до 3 (из 232); сохранялась 100%-я чувствительность к рифампицину и ко-тримоксазолу. Частота выделения метициллин-резистентных *Staphylococcus epidermidis* сохранялась: 80,5 % в 2018–2019 гг. и 80,9 % в 2021–2022 гг. Выявлен рост резистентности *Staphylococcus epidermidis* ко всем тестируемым антибиотикам, в том числе статистически значимый – к фторхинолонам ($p = 0,002–0,003$). Среди коагулазонегативных стафилококков в 2018–2019 гг. устойчивость к метициллину определяли у 64,5 %,

в 2021–2022 гг. – у 81,0 %. Все выделенные штаммы стафилококков сохраняли чувствительность к ванкомицину и линезолиду (табл. 2).

В структуре грамотрицательных микроорганизмов в постковидном периоде увеличилась частота выявления *Escherichia coli* с 0,4 % до 3,2 % ($p = 0,029$), *Klebsiella pneumoniae* – с 0,4 % до 1,6 %, *Enterobacter cloacae* – с 2,2 % до 3,5 %. В 2018–2019 гг. регистрировали по одному случаю *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*, причём если первый возбудитель характеризовался полирезистентным фенотипом устойчивости, то второй был чувствителен ко всем тестируемым антибиотикам. В постковидном периоде представители семейства Enterobacteriaceae в большинстве случаев являлись продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра с ростом резистентности к ко-тримоксазолу. В отношении фторхинолонов *Enterobacter cloacae* сохраняли чувствительность, *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* были устойчивы от 40 до 80 %. К карбапенемам и аминогликозидам *Enterobacter cloacae* и *Escherichia coli* сохраняли чувствительность в оба периода исследования (табл. 3).

В постковидном периоде отмечен рост резистентности *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* в отношении карбапенемов и фторхинолонов. Изоляты бактерий *Acinetobacter baumannii*, ранее чувствитель-

ТАБЛИЦА 2

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, 2018–2019 И 2021–2022 гг.

TABLE 2

THE RESULTS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, 2018–2019 AND 2021–2022

Препараты	<i>Staphylococcus aureus</i> (n = 128), %			<i>Staphylococcus epidermidis</i> (n = 181), %		
	2018–2019 гг. (n = 55)	2021–2022 гг. (n = 73)	p	2018–2019 гг. (n = 87)	2021–2022 гг. (n = 94)	p
Цефокситин	7,3	4,1	0,462	80,5	80,9	1,000
Гентамицин	12,7	4,1	0,098	32,2	42,6	0,169
Эритромицин	21,8	17,8	0,654	32,2	45,7	0,069
Клиндамицин	18,2	17,8	1,000	28,7	27,8	1,000
Ципрофлоксацин	10,9	5,5	0,325	29,9	52,1	0,003*
Левифлоксацин	10,9	5,5	0,325	29,9	52,1	0,003*
Моксифлоксацин	9,1	4,1	0,288	28,7	52,1	0,002*
Тетрациклин	21,8	28,8	0,419	34,5	28,7	0,427
Фузидовая кислота	0	2,7	0,506	5,7	9,6	0,410
Доксициклин	1,8	11,0	0,077	13,8	20,2	0,324
Ванкомицин	0	0	1,000	0	0	1,000
Рифампицин	1,8	0	0,430	2,3	8,5	0,102
Ко-тримоксазол	1,8	0	0,430	16,1	26,6	0,104
Линезолид	0	0	1,000	0	0	1,000

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

ТАБЛИЦА 3
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ *KLESIELLA PNEUMONIAE*, *ENTEROBACTER CLOACAE*, *ESCHERICHIA COLI*, 2018–2019 И 2021–2022 гг.

TABLE 3
ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *KLESIELLA PNEUMONIA*, *ENTEROBACTER CLOACAE*, *ESCHERICHIA COLI*, 2018–2019 AND 2021–2022

Препараты	<i>Klesiella pneumoniae</i> (n = 6)			<i>Enterobacter cloacae</i> (n = 16)			<i>Escherichia coli</i> (n = 11)		
	2018–2019 гг. (n = 1)	2021–2022 гг. (n = 5)	p	2018–2019 гг. (n = 5)	2021–2022 гг. (n = 11)	p	2018–2019 гг. (n = 1)	2021–2022 гг. (n = 10)	p
Цефтазидим	100	100	1,000	40	72,7	0,293	0	60,0	1,000
Цефтриаксон	100	100	1,000	40	72,7	0,293	0	60,0	1,000
Цефепим	100	100	1,000	40	72,7	0,293	0	60,0	1,000
Имипенем	100	40	1,000	0	0	1,000	0	0	1,000
Меропенем	100	60	1,000	0	0	1,000	0	0	1,000
Амикацин	100	60	1,000	0	0	1,000	0	0	1,000
Тобрамицин	100	60	1,000	0	0	1,000	0	0	1,000
Ципрофлоксацин	100	80	1,000	0	0	1,000	0	40,0	1,000
Левифлоксацин	100	80	1,000	0	0	1,000	0	40,0	1,000
Ко-тримоксазол	0	80	1,000	40	62,5	0,592	0	40,0	1,000
Азтреонам	100	75	1,000	20	33,3	1,000	0	40,0	1,000
Колистин	0	0	1,000	0	0	1,000	0	0	1,000

ные к амикацину, приобрели резистентность 57,1 % к аминогликозидам ($p = 0,018$).

Все граммотрицательные микроорганизмы были чувствительны к колистину (рис. 2, 3).

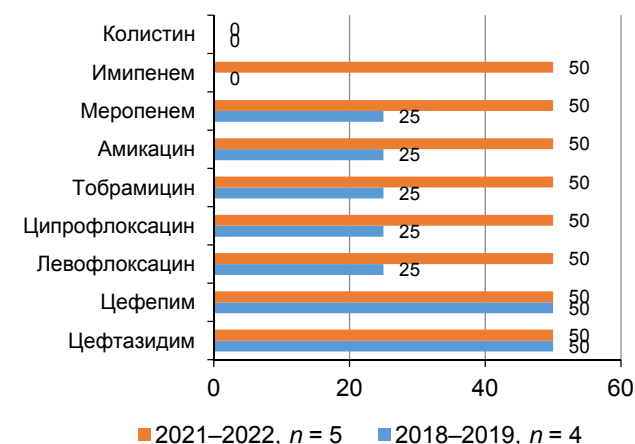


РИС. 2.
Антибиотикорезистентность *Pseudomonas aeruginosa*, 2018–2019 и 2021–2022 гг.

FIG. 2.
Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*, 2018–2019 and 2021–2022



РИС. 3.
Антибиотикорезистентность *Acinetobacter baumannii*, 2018–2019 и 2021–2022 гг.

FIG. 3.
Antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii*, 2018–2019 and 2021–2022

Выявленный рост антибиотикорезистентности к фторхинолонам может свидетельствовать о неблагоприятных тенденциях и в дальнейшем способствовать огра-

ничениям при назначении пероральных форм ципрофлоксацина для длительного приёма.

ОБСУЖДЕНИЕ

За последние четыре десятилетия произошло увеличение числа резистентных к антибиотикам бактериальных патогенов [13].

Исследование F.S. Fröschen и соавт. (2022) показывает, что наиболее частым возбудителем ортопедической имплантат-ассоциированной инфекции являются коагулазонегативные стафилококки, которых можно было обнаружить в 44,61 % случаев, за ними следовали *Staphylococcus aureus* (14,31 %) и энтерококки (9,01 %) [3]. Наше исследование подтверждает ведущую роль *Staphylococcus epidermidis* в этиологии ИАИ с частотой обнаружения 37 % (2018–2019 гг.) и 33 % (2021–2022 гг.) Аналогичные данные получены другими зарубежными исследователями – D.B.G. Tai и соавт. (2022) – за период наблюдения с 2010 по 2019 гг. (2067 эпизодов инфекции у 1651 пациента), где продемонстрировано, что коагулазонегативные стафилококки (кроме *Staphylococcus lugdunensis*) были лидерами в этиологии имплантат-ассоциированной инфекции (37 %; $n = 761$) [14].

В работе B.T. Bjerke-Kroll и соавт. (2014) в качестве ведущего возбудителя ИАИ указывали *Staphylococcus aureus* [15]. Сходные данные были опубликованы в исследовании перипротезной инфекции Y. Tsai и соавт. (2006–2014 гг.; $n = 294$), где ведущая роль в развитии инфекции тазобедренного и коленного сустава с частотой обнаружения до 27 % (метициллин-резистентность – 21 %) принадлежала *Staphylococcus aureus* [16], однако мы не смогли подтвердить эти результаты. Наше исследование показало, что в 2020–2021 гг. всего 4,1 % изолятов *Staphylococcus aureus* демонстрировали метициллин-резистентность. Исследование, проведённое в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени Р.Р. Вредена» Минздрава России (г. Санкт-Петербург) С. А. Божковой и соавт. (2018), показывало высокую активность в отношении метициллин-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus* фузидовой кислоты и фосфомицина; в нашем исследовании в постковидном периоде мы выделили два штамма, устойчивых к фузидовой кислоте [11].

В отличие от описанной в недавних публикациях метициллин-резистентности коагулазонегативных стафилококков (76 % по данным H.M. Peng и соавт. [17] и 60 % по данным F.S. Fröschen и соавт. [3]), выявленный в нашем исследовании уровень резистентности был ещё выше и составил 81,0 %.

По нашим данным, в обоих исследуемых периодах удельный вес метициллин-резистентных штаммов составил почти половину всех выделенных изолятов стафилококков. Ввиду направленного действия ванкомицина в отношении метициллин-резистентных штаммов стафилококков в случаях неизвестного возбудителя можно

рекомендовать его в качестве препарата выбора для эмпирической терапии ИАИ. Учитывая сопутствующие заболевания пациента, не следует забывать о потенциальных альтернативах ванкомицину – таких как тейкопланин, даптомицин или линезолид; в нашем исследовании возбудителей, резистентных к линезолиду, обнаружено не было.

Ретроспективный обзор случаев имплантат-ассоциированной инфекции в двух крупных инфекционных центрах (Германия ($n = 898$) и Институт Ротмана в Филадельфии ($n = 772$)) показали низкую частоту полимикробной инфекции (3,4 % и 7,4 % соответственно) [18]. Напротив, работа T. Rosteius и соавт. (2018; $n = 937$) отмечает рост числа микробных ассоциаций в развитии ИАИ тазобедренного или коленного сустава в период с 2003 по 2011 г. с частотой выявления полимикробной инфекции 23,6 % [19]. Проведённое нами исследование также показывает высокую частоту полимикробной ИАИ с динамикой роста в постковидном периоде.

По данным исследования D.B.G. Tai и соавт. (2022), наличие свищевого хода увеличивало вероятность выделения более чем одного микроорганизма почти в три раза (медиана – 2,6; 95%-й доверительный интервал: 2,0–3,3) [14], что коррелирует с данными нашего исследования.

Инфекция, вызванная грамотрицательными бактериями и грибами, чаще приводит к неблагоприятному исходу после санации из-за высокой вирулентности данных микроорганизмов и растущей антибиотикорезистентности. F.D. Wang и соавт. (2018) считают, что сам факт вовлечения грамотрицательных бактерий в этиологию ИАИ многократно усложняет и пролонгирует её лечение [20]. В нашем исследовании в 2021–2022 гг. наряду с увеличением доли микробных ассоциаций в этиологической структуре ИАИ имеется тенденция к росту частоты встречаемости грамотрицательных возбудителей (из которых *Enterobacter cloacae* в постковидном периоде занял лидирующие позиции) и появлению в микробном пейзаже грибов, что может быть связано с высокой частотой применения антибактериальных препаратов в период пандемии COVID-19 и снижением общего иммунологического статуса пациентов.

У полирезистентных штаммов грамотрицательных микроорганизмов в настоящее время сохранена чувствительность только к колистину. Однако при выборе эмпирической антимикробной терапии использование колистина ограничено его высокой ценой и недостаточной эффективностью в виде монотерапии.

Результаты микробиологического исследования биоматериала из свищевого хода в работе отдельно не анализировались, поскольку пациентам со свищевой формой ИАИ не рекомендуется выполнять бактериологическое исследование отделяемого, взятого тампоном из свищевого хода [21, 22].

Ограничением данного исследования является малое количество выделенных штаммов грамотрицательных бактерий, что препятствует полноценному анализу их антибиотикорезистентности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным проведённого исследования, в постковидном периоде микробный пейзаж претерпел незначительные изменения. Ведущим возбудителем ИАИ в настоящее время является *Staphylococcus epidermidis* с преобладанием метициллин-резистентных штаммов. Однако стоит обратить внимание на возросшую роль микробных ассоциаций в постковидном периоде и в особенности на рост в их составе доли грамотрицательных бактерий (в 1,6 раза). Своевременный анализ чувствительности возбудителей ИАИ имеет решающее значение для успеха лечения. Высокая частота выделения метициллин-резистентных стафилококков (особенно среди *Staphylococcus epidermidis*) определяет тактику выбора ванкомицина в качестве эмпирической терапии для обеспечения оптимального антимикробного эффекта в случае неизвестного патогена. В свою очередь рост резистентности стафилококков к фторхинолоновому ряду антибиотиков может в дальнейшем иметь ограничения по использованию левофлоксацина как препарата выбора для пероральной терапии ИАИ. Рост резистентности грамотрицательных бактерий и узкий спектр антибиотиков, действующих на карбапенемазопродукторов, могут снижать эффективность терапии, несмотря на полноценно проведённую хирургическую санацию. Актуальная информация по микробиологической структуре возбудителей полезна для оптимального лечения ИАИ.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Заключение Этического комитета относительно исследования не требуется, поскольку оно выполнено без указания персональных данных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Борисова Л.В., Николаев Н.С., Преображенская Е.В., Пчелова Н.Н., Дидиченко С.Н. Причины возникновения инфекционных осложнений после артропластики тазобедренных суставов и мероприятия по их снижению. *Кафедра травматологии и ортопедии*. 2018; 2(32): 9-14. [Borisova LV, Nikolaev NS, Preobrazhenskaya EV, Pchelova NN, Didichenko SN. Causes of infectious complications after hip arthroplasty and measures to reduce them. *Department of Traumatology and Orthopedics*. 2018; 2(32): 9-13. (In Russ.)]. doi: 10.17238/issn2226-2016.2018.2
2. Qvistgaard M, Nätman J, Lovebo J, Almerud-Österberg S, Rolfson O. Risk factors for reoperation due to periprosthetic joint infection after elective total hip arthroplasty: A study of 35,056 patients using linked data of the Swedish Hip Arthroplasty Registry (SHAR) and Swedish Perioperative Registry (SPOR). *BMC Musculoskelet Disord*. 2022; 23(1): 275. doi: 10.1186/s12891-022-05209-9

3. Fröschen FS, Randau TM, Franz A, Molitor E, Hisebeth GTR. Microbiological profiles of patients with periprosthetic joint infection of the hip or knee. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12(7): 1654. doi: 10.3390/diagnostics12071654
4. Izakovicova P, Borens O, Trampuz A. Periprosthetic joint infection: Current concepts and outlook. *EFORT Open Rev*. 2019; 4(7): 482-494. doi: 10.1302/2058-5241.4.180092
5. Mack AW, Growth AT, Frisch HM, Doukas WC. Treatment of open periarticular shoulder fractures sustained in combat-related injuries. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*. 2008; 37(3): 130-135.
6. Chen AT, Vallier HA. Noncontiguous and open fractures of the lower extremity: Epidemiology, complications, and unplanned procedures. *Injury*. 2016; 47(3): 742-747. doi: 10.1016/j.injury.2015.12.013
7. Pollak AN, Jones AL, Castillo RC, Bosse MJ, MacKenzie EJ; LEAP Study Group. The relationship between time to surgical debridement and incidence of infection after open high-energy lower extremity trauma. *J Bone Joint Surg Am*. 2010; 92(1): 7-15. doi: 10.2106/JBJS.H.00984
8. Roussignol X, Sigonney G, Potage D, Etienne M, Duparc F, Dujardin F. Secondary nailing after external fixation for tibial shaft fracture: Risk factors for union and infection. A 55 case series. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2015; 101(1): 89-92. doi: 10.1016/j.otsr.2014.10.017
9. Court-Brown CM, Keating JF, McQueen MM. Infection after intramedullary nailing of the tibia. Incidence and protocol for management. *J Bone Joint Surg Br*. 1992; 74(5): 770-774. doi: 10.1302/0301-620X.74B5.1527132
10. Бердюгина О. Анализ вероятности возникновения периимплантной инфекции и ее последствия при внешней транспедикулярной фиксации позвоночника. *Гений ортопедии*. 2021; 27(6): 732-739. [Berdiugina O. Probability analysis of peri-implant infection following external transpedicular spine fixation. *Genij Ortopedii*. 2021; 27(6): 732-739. (In Russ.)]. doi: 10.18019/1028-4427-2021-27-6-732-739
11. Божкова С.А., Касимова А.Р., Тихилов Р.М., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В., и др. Неблагоприятные тенденции в этиологии ортопедической инфекции: результаты 6-летнего мониторинга структуры и резистентности ведущих возбудителей. *Травматология и ортопедия России*. 2018; 24(4): 20-31. [Bozhkova SA, Kasimova AR, Tikhilov RM, Polyakova EM, Rukina AN, Shabanova VV, et al. Adverse trends in the etiology of orthopedic infection: Results of 6-year monitoring of the structure and resistance of leading pathogens. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2018; 24(4): 20-31. (In Russ.)]. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-4-20-31
12. Boia ER, Huț AR, Roi A, Luca RE, Munteanu IR, Roi CI, et al. Associated bacterial coinfections in COVID-19-positive patients. *Medicina (Kaunas)*. 2023; 59(10): 1858. doi: 10.3390/medicina59101858
13. Garvin KL, Kildow BJ, Hewlett AL, Hartman CW, Fey PD. The challenge of emerging resistant gram-positive pathogens in hip and knee periprosthetic joint infections. *J Bone Joint Surg Am*. 2023 Apr 13. doi: 10.2106/JBJS.22.00792
14. Tai DBG, Patel R, Abdel MP, Berbari EF, Tande AJ. Microbiology of hip and knee periprosthetic joint infections: A database study. *Clin Microbiol Infect*. 2022; 28(2): 255-259. doi: 10.1016/j.cmi.2021.06.006
15. Bjerke-Kroll BT, Christ AB, McLawhorn AS, Sculco PK, Jules-Elysée KM, Sculco TP. Periprosthetic joint infections treated with two-stage revision over 14 years: An evolving microbiol-

ogy profile. *J Arthroplasty*. 2014; 29(5): 877-882. doi: 10.1016/j.arth.2013.09.053

16. Tsai Y, Chang CH, Lin YC, Lee SH, Hsieh PH, Chang Y. Different microbiological profiles between hip and knee prosthetic joint infections. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2019; 27(2): 2309499019847768. doi: 10.1177/2309499019847768

17. Peng HM, Zhou ZK, Wang F, Yan SG, Xu P, Shang XF, et al. Microbiology of periprosthetic hip and knee infections in surgically revised cases from 34 centers in mainland China. *Infect Drug Resist*. 2021; 14: 2411-2418. doi: 10.2147/IDR.S305205

18. Aggarwal VK, Bakhshi H, Ecker NU, Parvizi J, Gehrke T, Kendoff D. Organism profile in periprosthetic joint infection: Pathogens differ at two arthroplasty infection referral centers in Europe and in the United States. *J Knee Surg*. 2014; 27(5): 399-406. doi: 10.1055/s-0033-1364102

19. Rosteius T, Jansen O, Fehmer T, Baecker H, Citak M, Schilhauer TA, et al. Evaluating the microbial pattern of periprosthetic

joint infections of the hip and knee. *J Med Microbiol*. 2018; 67(11): 1608-1613. doi: 10.1099/jmm.0.000835

20. Wang FD, Wang YP, Chen CF, Chen HP. The incidence rate, trend and microbiological aetiology of prosthetic joint infection after total knee arthroplasty: A 13 years' experience from a tertiary medical center in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2018; 51(6): 717-722. doi: 10.1016/j.jmii.2018.08.011

21. Aggarwal VK, Higuera C, Deirmengian G, Parvizi J, Austin MS. Swab cultures are not as effective as tissue cultures for diagnosis of periprosthetic joint infection. *Clin Orthop Relat Res*. 2013; 471(10): 3196-3203. doi: 10.1007/s11999-013-2974-y

22. Drago L, Clerici P, Morelli I, Ashok J, Benzakour T, Bozhkova S, et al. The World Association against Infection in Orthopaedics and Trauma (WAIOT) procedures for microbiological sampling and processing for periprosthetic joint infections (PJIs) and other implant-related infections. *J Clin Med*. 2019; 8(7): 933. doi: 10.3390/jcm8070933

Сведения об авторах

Любимова Людмила Валентиновна – клинический фармаколог, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, e-mail: borisova-80@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5750-4459>

Пчелова Надежда Николаевна – врач клинической лабораторной диагностики, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, e-mail: nadyapchelova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9507-9118>

Николаев Николай Станиславович – доктор медицинских наук, профессор РАН, главный врач, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и экстремальной медицины, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», e-mail: nikolaevns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1560-470X>

Преображенская Елена Васильевна – начальник научно-образовательного отдела, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, e-mail: alenka_22@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3556-145X>

Любимов Евгений Александрович – анестезиолог-реаниматолог, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, e-mail: e_lyubimov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5262-0197>

Information about the authors

Lyudmila V. Lyubimova – Clinical Pharmacologist, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Endoprosthetics, e-mail: borisova-80@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5750-4459>

Nadezhda N. Pchelova – Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Endoprosthetics, e-mail: nadyapchelova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9507-9118>

Nikolay S. Nikolaev – Dr. Sc. (Med.), Professor of the RAS, Chief Physician, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Endoprosthetics; Head of the Department of Traumatology, Orthopedics and Extreme Medicine, Chuvash State University named after I.N. Ulyanov, e-mail: nikolaevns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1560-470X>

Elena V. Preobrazhenskaya – Head of the Scientific and Educational Department, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Endoprosthetics, e-mail: alenka_22@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3556-145X>

Evgeniy A. Lyubimov – Anesthesiologist and Reanimatologist, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Endoprosthetics, e-mail: e_lyubimov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5262-0197>

Вклад авторов

Любимова Л.В. – идея исследования, написание текста.

Пчелова Н.Н. – сбор и обработка данных.

Николаев Н.С. – концепция исследования, научное редактирование.

Преображенская Е.В. – дизайн исследования, графическое представление данных.

Любимов Е.А. – сбор и обработка данных.

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ PHARMACOLOGY AND PHARMACY

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ *Orostachys spinosa* ЭКСТРАКТА СУХОГО ПРИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Разуваева Я.Г.,
Торопова А.А.,
Баяндуева Е.А.,
Николаева И.Г.

ФГБУН «Институт
общей и экспериментальной
биологии» СО РАН (670047, г. Улан-Удэ,
ул. Сахьяновой, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Разуваева Янина Геннадьевна,
e-mail: tatur75@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Orostachys spinosa* (L.) Sweet – многолетнее растение, имеющее широкий ареал произрастания и содержащее различные метаболиты (аминокислоты, флавоноиды, полисахариды и др.). Извлечения из надземной части растения используются в традиционной медицине в качестве противосудорожного и седативного средства.

Цель работы. Исследовать нейропротективные свойства *O. spinosa* при холинергической недостаточности.

Материалы и методы. Исследования проведены на 52 крысах линии Wistar. Животным ежедневно в течение 21 дня вводили скополамин (1 мг/кг), далее в течение 14 дней – *per os* *O. spinosa* экстракт сухой в дозе 100 мг/кг. На 32-е сутки у животных вырабатывали условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ), сохранность которого проверяли через 1, 24 и 72 часа; на 35-е сутки тестировали в «открытом поле». На 36-е сутки проводили биохимические и гистологические исследования головного мозга.

Результаты. Установлено, что *O. spinosa* на фоне скополаминовой интоксикации снижает тревожность животных, стимулирует исследовательскую активность в «открытом поле», улучшает выработку и сохранность УРПИ, а также снижает количество функционально неактивных нейронов (пикнотических и «клеток-теней») в коре больших полушарий головного мозга. Экстракт снижает соотношение лактат/пируват на 47 %, интенсифицирует активность митохондриальных комплексов I и II на 54–64 %, увеличивает концентрацию аденозинтрифосфата в 1,6 раза по сравнению с контролем. *O. spinosa* проявляет антиоксидантные свойства, снижая содержание малонового диальдегида, повышая активность каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в головном мозге.

Заключение. *O. spinosa* экстракт сухой оказывает нейропротективное действие при холинергическом дефиците. Исследуемый экстракт проявляет антиоксидантные свойства и стимулирует энергетические процессы в головном мозге.

Ключевые слова: *Orostachys spinosa* (L.) Sweet, экстракт сухой, нейропротективное действие, скополамин гидрохлорид, холинергическая недостаточность

Статья поступила: 07.12.2023

Статья принята: 14.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Разуваева Я.Г., Торопова А.А., Баяндуева Е.А., Николаева И.Г. Исследование нейропротективных свойств *Orostachys spinosa* экстракта сухого при холинергической недостаточности. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 213-221. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.21

NEUROPROTECTIVE EFFECT OF *OROSTACHYS SPINOSE* DRY EXTRACT IN CHOLINERGIC INSUFFICIENCY

Razuvaeva Ya.G.,
Toropova A.A.,
Bayandueva E.A.,
Nikolaeva I.G.

Institute of General and Experimental
Biology, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Sakhyanova str. 6, Ulan-Ude 670047,
Russian Federation)

Corresponding author:
Yanina G. Razuvaeva,
e-mail: tatur75@mail.ru

ABSTRACT

Background. *Orostachys spinosa* (L.) Sweet. – a perennial plant of a wide habitat and contains various metabolites (amino acids, flavonoids, polysaccharides, etc.). Extracts from the aerial part of the plant are used in traditional medicine as an anticonvulsant and sedative.

The aim of the work. To study the neuroprotective effect of *O. spinosa* in cholinergic deficiency.

Materials and methods. The studies were carried out on 52 Wistar rats. The animals were administered scopolamine (1 mg/kg) daily for 21 days, followed by *O. spinosa* dry extract per os at a dose of 100 mg/kg for 14 days. On the day 32, the animals developed a conditioned passive avoidance reflex (CPAR), the integrity of which was checked after 1, 24 and 72 hours; on the day 35 they were tested in an "open field". On the day 36, biochemical and histological studies of the brain were carried out.

Results. It has been established that *O. spinosa*, against the background of scopolamine intoxication, reduces the anxiety of animals, stimulates exploratory activity in the open field test, improves the production and preservation of the CPAR, and also reduces the number of functionally inactive neurons (pyknotic and shadow cells) in the cerebral cortex. The extract reduces the lactate/pyruvate ratio by 47 %, intensifies the activity of mitochondrial complexes I and II by 54–64 %, and increases the concentration of adenosine triphosphate by 1.6 times compared to the control. *O. spinosa* exhibits antioxidant properties by reducing malondialdehyde and increasing the activity of catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase in the brain.

Conclusion. *O. spinosa* dry extract has a neuroprotective effect in cholinergic deficiency. The studied extract exhibits antioxidant properties and stimulates energy processes in the brain.

Key words: *Orostachys spinosa* (L.) Sweet, dry extract, neuroprotective effect, scopolamine hydrochloride, cholinergic insufficiency

Received: 07.12.2023
Accepted: 14.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Razuvaeva Ya.G., Toropova A.A., Bayandueva E.A., Nikolaeva I.G. Neuroprotective effect of *Orostachys spinosa* dry extract in cholinergic insufficiency. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 213-221. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.21

По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире наблюдается демографическое старение населения, вследствие чего возрастает количество церебральных и нейродегенеративных заболеваний, а деменция и депрессия входят в число самых распространённых болезней пожилых людей [1]. Всё это обуславливает необходимость разработки новых подходов к поиску рационального лечения и профилактики заболеваний нервной системы. В профилактике неврологических заболеваний заслуживают внимания лекарственные препараты растительного происхождения, способные благодаря значительному разнообразию метаболитов оказывать полимодальное влияние на организм [2].

В данном аспекте представляют интерес растения рода *Orostachys*. Так, извлечения *O. japonicas*, применяющегося в японской и корейской традиционных медицинах в качестве адаптогенного средства, оказывают ингибирующее действие в отношении ацетилхолинэстеразы [3], проявляют антиоксидантное действие [4], а также ограничивают апоптоз нейронов [5]. Аналогичными свойствами отличается другое многолетнее растение семейства толстянковых – *Orostachys spinosa* (L.) Sweet, – используемое в народной и традиционной медицинах разных народов при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, дыхательной и нервной систем [6]. Основными действующими соединениями *O. spinosa* являются аминокислоты, флавоноиды, кумарины, полисахариды, жирные кислоты и др. [7]. По данным экспериментальных исследований, жидкий экстракт из травы *O. spinosa* проявляет анксиолитические, ноотропные, антигипоксические и стресс-протективные свойства [8–10]. Из надземной части *O. spinosa* был получен сухой экстракт, для которого свойственно постоянство состава [11], проявляющий нейропротективные свойства при экспериментальной ишемии головного мозга [12]. В связи с этим интерес представляет оценка нейропротективных свойств *O. spinosa* экстракта сухого при моделировании нейродегенеративного заболевания.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить нейропротективное влияние *Orostachys spinosa* экстракта сухого при холинергическом дефиците.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 52 крысах линии Wistar массой 200–220 г. Содержание животных соответствовало Правилам надлежащей лабораторной практики (GLP, good laboratory practice) и Постановлению Правительства РФ № 855 от 13.06.2020. Исследовательскую работу проводили в соответствии с «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986). Протокол исследования согласован с этическим комитетом ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН (№ 2 от 01.12.2020).

Объектом исследования служил сухой экстракт, полученный из надземной части *O. spinosa* путём последовательной трёхкратной экстракции измельчённого сырья 10%-м этиловым спиртом при температуре 60 °C с последующей фильтрацией, упариванием и вакуумной сушкой [8]. Экстракт стандартизирован по содержанию суммы свободных аминокислот в пересчёте на глутаминовую кислоту, которых должно быть не менее 3,0 %.

В качестве препарата сравнения использовали экстракт листьев *Ginkgo biloba* (танакан, таблетки; Beaufour Ipsen Industrie, Франция). В основе действия препаратов *G. biloba* лежат антиоксидантные свойства, способность нормализовать нейромедиаторные и энергетические процессы в головном мозге [13].

Для моделирования хронического холинергического дефицита животным контрольной и опытных групп в течение 21 дня вводили внутривентриально скополамин гидрохлорид в дозе 1 мг/кг [14]. Скополамин гидрохлорид рассматривают в качестве неселективного антагониста мускариновых рецепторов, вызывающего когнитивные нарушения и электрофизиологические изменения в головном мозге, сходные с таковыми при естественном старении и болезни Альцгеймера [15]. Скополамин также вызывает ряд клеточных изменений, включая нарушение системы антиоксидантной защиты, повышенный окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию, апоптоз и нейровоспаление [16].

Животные были разделены на четыре группы. Первую опытную группу составляли крысы ($n = 13$), которым после 21-дневной инъекции скополамина вводили внутрижелудочно 1 раз в сутки в течение 14 дней *O. spinosa* экстракт сухой в дозе 100 мг/кг в форме водного раствора в объёме 10 мл/кг. По аналогичной схеме животным второй опытной группы ($n = 13$) вводили экстракт *G. biloba* в дозе 100 мг/кг, животным контрольной группы ($n = 12$) – воду в объёме 10 мл/кг. У животных интактного контроля ($n = 14$) холинергическую недостаточность не моделировали, им вводили внутривентриально в течение 21 дня физиологический раствор, далее – внутрижелудочно в течение 14 дней воду в объёме 10 мл/кг.

На 32-е сутки животных обучали в тесте «условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ) [14]; проверку условного рефлекса проводили через 1, 24 и 72 часа. На 35-е сутки животных тестировали в «открытом поле» [14]. На 36-е сутки после начала введения исследуемого экстракта животных декапитировали под эфирным наркозом, извлекали головной мозг для проведения биохимических и гистологических исследований.

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов определяли по содержанию малонового диальдегида (МДА) [17]; состояние антиоксидантной системы – по активности каталазы (КАТ) [18], глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР) [19]. Влияние исследуемого средства на энергетические процессы в головном мозге оценивали по содержанию аденозинтрифосфата (АТФ) [20], активности NADH-дегидрогеназы (комплекс I) и сукцинатдегидрогеназы (комплекс II) [21, 22]. По активности пируваткиназы (PK, pyruvate kinase) [23] и содержанию лактата и пирувата

в гомогенате головного мозга [20] характеризовали интенсивность гликолиза.

Срезы головного мозга для проведения гистологического исследования изготавливали по стандартной методике на микротоме MC-2 (СПЕКТРОЛАБ, Россия), затем окрашивали крезильным фиолетовым по Ниссля [24]. Во II–V слоях фронтальной коры головного мозга подсчитывали количество нейронов, которые дифференцировали на нормохромные, интенсивно гипохромные, интенсивно гиперхромные (пикнотические) и «клетки-тени».

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica for Windows 6.0 (StatSoft Inc., США). Соответствие анализируемых признаков закону нормального распределения оценивали, используя критерий Шапиро – Уилка. Статистическую значимость различий между данными групп определяли с помощью t-критерия Стьюдента при условии, что выборка имеет нормальное распределение; с помощью критерия Манна – Уитни – если данные не подчиняются нормальному распределению вероятности. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического (m). Для сравнения количества животных в груп-

пах сравнения использовали ф-критерий углового преобразования Фишера. Различия между опытными и контрольной группами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты тестирования животных в «открытом поле» показали, что скополамин угнетает у животных двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность (рис. 1), что снижает введение экстракта *O. spinosa*. Так, у животных, которым вводили экстракт *O. spinosa*, количество заходов в центральные квадраты установки повысилось в 2,1 раза, вертикальных стоек и заглядываний в «норки» – в среднем в 1,7 раза относительно контрольных показателей. При этом у животных 2-й опытной группы количество центральных квадратов и норковый рефлекс были выше, чем в контроле, в 1,6 и 1,3 раза соответственно. На фоне длительного введения скополамина у животных 1-й опытной группы количество актов груминга снизилось в 1,6 раза в сравнении с контрольным значением (рис. 1).

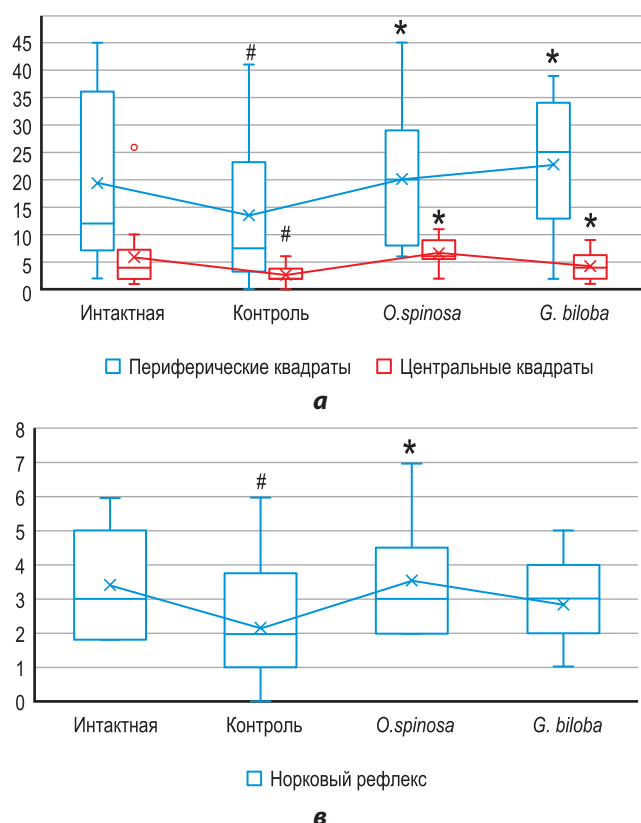


РИС. 1.

Показатели поведения крыс Wistar в тесте «открытое поле» при холинергической недостаточности: **а** – горизонтальная активность; **б** – вертикальная активность; **в** – норковый рефлекс; **г** – показатели тревожности. Статистическую значимость различий определяли с помощью критерия Манна – Уитни: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 1.

Behavioral indicators of Wistar rats in the open field test in cholinergic insufficiency: **a** – horizontal activity; **б** – vertical activity; **в** – mink reflex; **г** – anxiety indicators. Statistical significance of differences was determined using Mann – Whitney test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0,05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0,05$

При введении экстракта *O. spinosa* УРПИ сформировался у 100 % животных и сохранился через 24 и 72 часа у 92 и 77 % животных соответственно (рис. 2). Во 2-й опытной группе условный рефлекс сформировался так же, как в контрольной группе, у 75 % животных, при этом к 3-м суткам он сохранился у всех этих животных, тогда как в контроле – только у 50 %.

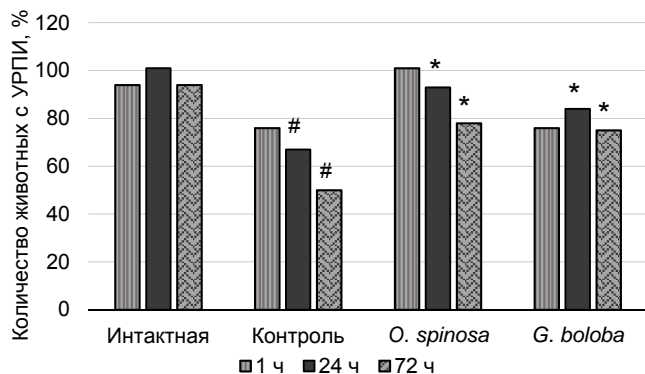


РИС. 2.

Количество крыс Wistar с выработанным условным рефлексом пассивного избегания при холинергической недостаточности. Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью ϕ -критерия улового преобразования Фишера: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 2.

Number of Wistar rats with a conditioned passive avoidance reflex in cholinergic insufficiency. Statistical significance of differences was determined using Fisher's ϕ test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0.05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0.05$

Установлено, что многократные инъекции скополамина приводят к редукции энергетического потенциала клеток головного мозга, что связано со снижением интенсивности анаэробных и аэробных процессов (рис. 3, 4). Согласно данным, представленным на рисунке 3, активность РК в гомогенате головного мозга контрольных животных снизилась на 25 %, содержание пирувата – на 22 % по сравнению с показателями животных интактного контроля. На фоне уменьшения концентрации пирувата уровень лактата в головном мозге контрольных животных составил $2,5 \pm 0,19$ мкмоль/г ткани, что выше на 42 % интактного показателя. Вследствие этого соотношение лактат/пируват в контроле повысилось в 2,4 раза, достигнув показателя $17,6 \pm 0,88$ (рис. 3). Также в контроле двукратно снизились активности митохондриальных комплексов I и II, вследствие чего концентрация АТФ в головном мозге составила $0,7 \pm 0,08$ мкмоль/г ткани, что в 2,4 раза ниже интактно-го значения (рис. 4).

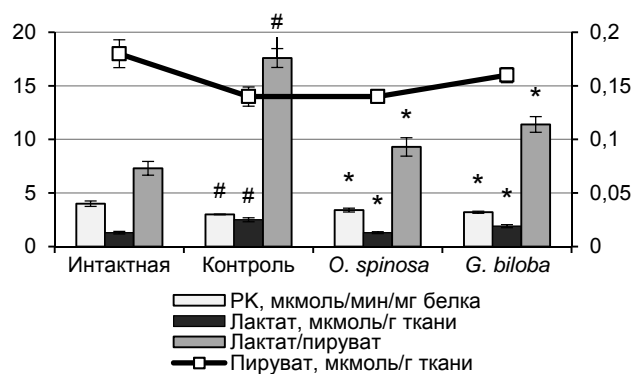


РИС. 3.

Показатели процесса гликолиза в головном мозге крыс Wistar при холинергической недостаточности. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического (m). Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 3.

Glycolysis indicators in the Wistar rats brain in cholinergic insufficiency. Data are presented as arithmetic mean (M) and arithmetic mean error (m). Statistical significance of differences was determined using Student's t test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0.05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0.05$

На фоне применения сухого экстракта *O. spinosa* активность РК увеличилась только на 13 %, а содержание пирувата практически соответствовало таковому у контрольных животных (рис. 3). При этом уровень лактата у животных 1-й опытной группы был ниже на 48 % контрольного показателя и соответствовал таковому у животных интактного контроля. В результате этого соотношение лактат/пируват у животных данной опытной группы было ниже на 47 %, чем в контроле, тогда как во 2-й опытной группе – на 35 %. Активности митохондриальных комплексов I и II у крыс, которым вводили экстракт *O. spinosa*, были выше на 57 и 64 %, экстракт *G. biloba* – на 87 и 20 % соответственно, чем в контроле (рис. 4). Вследствие этого содержание АТФ в головном мозге животных опытных групп увеличилось в среднем в 1,6 раза по сравнению с контрольным показателем.

Нарушения энергетического обмена, развивающиеся при холинергической недостаточности, способствуют усилению выработки свободных радикалов, а также угнетению активности ферментов антиоксидантной системы [16], что приводит к необратимым процессам и гибели нейронов. Так, у животных контрольной группы на фоне увеличения содержания МДА (в 2,2 раза) наблюдается снижение активности антиоксидантных ферментов: КАТ на 42 %, ГПО на 67% и ГР на 52 %, – относительно показателей у животных интактного контроля (табл. 1).

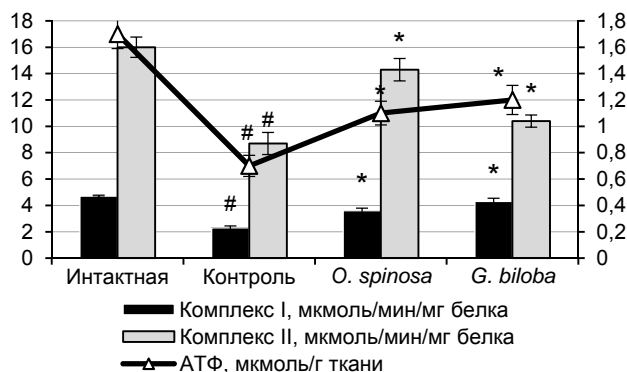


РИС. 4.

Активность митохондриальных комплексов I и II и содержание АТФ в головном мозге крыс Wistar при холинергической недостаточности. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического (m). Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 4.

Activity of mitochondrial complexes I and II and ATP content in the Wistar rats brain in cholinergic insufficiency. Data are presented as arithmetic mean (M) and arithmetic mean error (m). Statistical significance of differences was determined using Student's t test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0.05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0.05$

На фоне введения экстрактов отмечалось снижение концентрации МДА в гомогенате головного мозга на 25–30 % по сравнению с контрольным показателем. Активность ферментов – КАТ, ГПО и ГР – в ткани головного мозга животных 1-й опытной группы повысилась на 36, 78 и 32 %, 2-й опытной группы – на 67, 68 и 34 % соответственно по сравнению с таковыми у контрольных животных.

Патоморфологические исследования коры больших полушарий показали, что на фоне длительного введения скополамина гидрохлорида большинство нейронов II–V слоёв уменьшались в размерах, ядра и цито-

плазма выглядели однородно окрашенными, верхушечный дендрит истончался и прослеживался на продолжительном расстоянии, «винтообразно извиваясь» (рис. 6а). В среднем количество интенсивно гиперхромных нейронов во II–V слоях было больше на 77 % относительно интактного показателя, составив $10,6 \pm 1,35$ % от общего количества нейронов (рис. 5). Также наблюдали большее количество «клеток-теней» (на 48 %); у данных нейронов отмечали кариолизис на фоне гомогенной вследствие хроматолиза цитоплазмы. Большинство «клеток-теней» были подвержены сателлитозу и нейронофагии.

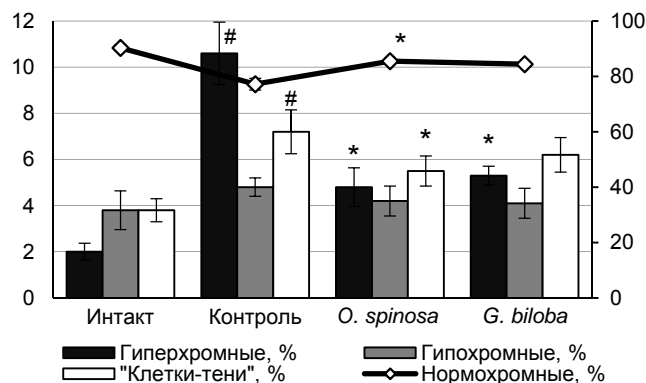


РИС. 5.

Морфометрические показатели нейронов коры больших полушарий головного мозга крыс Wistar при холинергической недостаточности. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического (m). Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$

FIG. 5.

Morphometric parameters of neurons in the cerebral cortex of Wistar rats in cholinergic insufficiency. Data are presented as arithmetic mean (M) and arithmetic mean error (m). Statistical significance of differences was determined using Student's t test: # – the differences are statistically significant compared to the indicators of the intact group at $p \leq 0.05$; * – the differences are statistically significant compared to the indicators of the control group at $p \leq 0.05$

ТАБЛИЦА 1

ПОКАЗАТЕЛИ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС WISTAR ПРИ ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ, M \pm m

Группа	МДА, мкмоль/г ткани	КАТ, мкмоль/мин/г ткани	ГПО, нмоль/мин/мг белка	ГР, нмоль/мин/мг белка
Интakтная	8,4 \pm 0,55	11,0 \pm 0,70	49,2 \pm 2,50	63,1 \pm 6,36
Контроль	18,7 \pm 0,97 [#]	6,4 \pm 0,12 [#]	16,4 \pm 1,10 [#]	30,2 \pm 2,01 [#]
O. spinosa	14,0 \pm 1,15 [*]	8,7 \pm 0,34 [*]	29,2 \pm 1,78 [*]	40,0 \pm 1,11 [*]
G. biloba	13,0 \pm 1,19 [*]	10,7 \pm 0,30 [*]	27,5 \pm 2,10 [*]	40,4 \pm 2,40

Примечание. Статистическую значимость различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента: # – различия статистически значимы относительно показателей интактной группы при $p \leq 0,05$; * – различия статистически значимы относительно показателей контрольной группы при $p \leq 0,05$.

TABLE 1

INDICATORS OF THE PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM OF THE WISTAR RATS BRAIN IN CHOLINERGIC INSUFFICIENCY, M \pm m

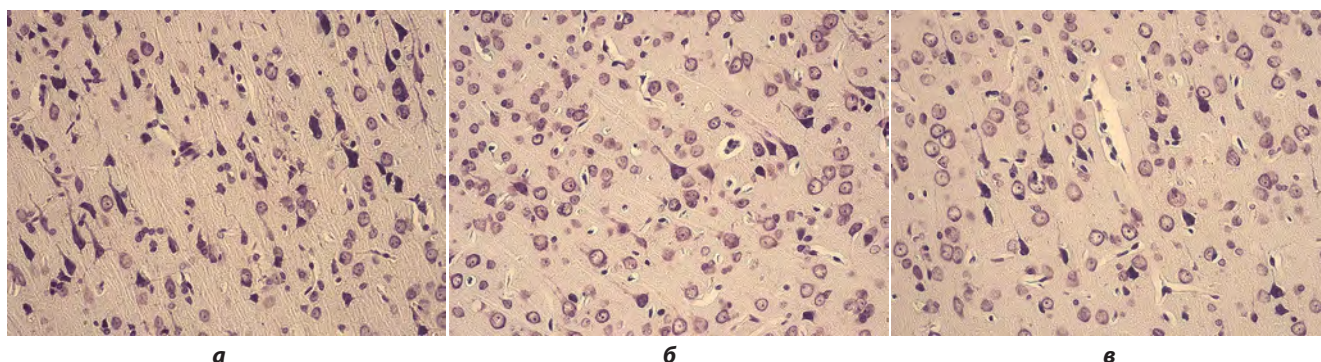


РИС. 6.

Микрофотографии коры больших полушарий головного мозга крыс Wistar при холинергической недостаточности (окраска крезилевым фиолетовым по Нисслю, увеличение $\times 200$):

а – контроль; **б** – *O. spinosa*; **в** – *G. biloba*

FIG. 6.

Microphotographs of Wistar rats cerebral cortex in long-term cholinergic insufficiency (Nissl cresyl violet staining, magnification $\times 200$): **a** – control; **b** – *O. spinosa*; **v** – *G. biloba*

У животных, получавших оцениваемые экстракты, патоморфологическая картина коры больших полушарий не выглядела так «мозаично» как у животных контрольной группы. Пикнотические нейроны выявлялись единично, в большинстве случаев только в III и V слоях (рис. 6б, в). Их количество в среднем было в 2,0 раза ниже, чем в контроле. «Клетки-тени» и сопровождающие их процессы сателлитоза и нейронофагии отмечались значительно реже, однако во всех слоях коры больших полушарий. Вследствие снижения общего количества регрессивных нейронов число нормохромных клеток у животных 1-й опытной группы было на 11 % выше, чем в контроле.

Таким образом, сухой экстракт *O. spinosa* на фоне длительной холинергической недостаточности оказывает антиамнестическое действие и нормализует эмоциональное состояние животных; в частности он улучшает формирование и сохранность условных рефлексов, а также стимулирует ориентировочно-исследовательскую активность. Экстракт *O. spinosa* повышает устойчивость головного мозга к токсическому действию скополамина, ограничивая количество регрессивных форм нейронов (гиперхромных и «клеток-теней») и увеличивая количество функциональных нейронов в коре больших полушарий. Нейропротективное действие *O. spinosa* экстракта связано с его способностью влиять на функциональную активность НАДН-дегидрогеназных и сукцинатдегидрогеназных комплексов дыхательной цепи митохондрий, корректировать процессы аэробного гликолиза, снижать содержание продуктов МДА, повышать интенсивность эндогенной антиоксидантной системы за счёт повышения активности ферментов (ГПО, ГР и КАТ) в головном мозге.

Выявленный нейропротективный эффект сухого экстракта *O. spinosa* обусловлен наличием в нём различных соединений, среди которых доминируют флавоноиды, аминокислоты, полисахариды и кумарины. Метаболиты *O. spinosa* способствуют торможению дисфункции холинергической системы и окислительного стресса. Так, на скополаминовой модели Альцгеймера выраженную нейропротективную активность показал мирицетин

[25]. Данный флавоноид проявляет антиамнестическое действие в условиях нарушений когнитивных функций, вызванных хроническим стрессом [26], а также на фоне введения стрептозотоцина [27] и D-галактозы [28]. Нейропротективное действие проявляет идентифицированный в *O. spinosa* флавоноид лютеолин. Лютеолин снижает когнитивную дисфункцию у крыс в условиях моделирования болезни Альцгеймера за счёт удаления свободных радикалов кислорода, повышения антиоксидантного потенциала, снижения экспрессии NF- κ B и BACE1, а также уменьшения отложения A β [29]. Определённый вклад в нейропротективное действие исследуемого экстракта вносят кумарины, которые благодаря антиагрегантным, антикоагулянтным свойствам способствуют нормализации церебрального кровотока. Также нейропротективное действие кумаринов реализуется за счёт ингибирования окислительного стресса и нейровоспаления [30]. Аминокислоты и полисахариды, содержащиеся в экстракте *O. spinosa*, также обладают фармакотерапевтической эффективностью при лечении заболеваний нервной системы посредством различных механизмов, включая ингибирование окислительного стресса, нейровоспаления, клеточного апоптоза и эксайтотоксичности [31, 32].

ВЫВОДЫ

Таким образом, сухой экстракт *O. spinosa* проявляет нейропротективные свойства при длительном введении скополамина, препятствуя развитию у животных «тревоги», улучшая процессы обучения и памяти на фоне ограничения изменений в нейронах коры больших полушарий головного мозга. Нейропротекторное действие сухого экстракта *O. spinosa* связано с его способностью стимулировать активность антиоксидантной системы и метаболические процессы в головном мозге.

Финансирование

Исследования проведены в рамках выполнения темы государственного задания по проекту FWSM-2021-0005 (№ государственной регистрации 121030100227-7).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. World Health Organization. *Ageing and health*. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health> [date of access: 01.11.2023].
2. Bommakanti V, Puthenparambil Ajikumar A, Sivi CM, Prakash G, Mundanat AS, Ahmad F, et al. An overview of herbal nutraceuticals, their extraction, formulation, therapeutic effects and potential toxicity. *Separations*. 2023; 10(3): 177. doi: 10.3390/separations10030177
3. Kim JH, Lee SH, Lee HW, Sun YN, Jang WH, Yang SY, et al. (-)-Epicatechin derivate from *Orostachys japonicus* as potential inhibitor of the human butyrylcholinesterase. *Int J Biol Macromol*. 2016; 91: 1033-1039. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.069
4. Lee JH, Lee SJ, Park S, Kim HK, Jeong WY, Choi JY, et al. Characterisation of flavonoids in *Orostachys japonicus* A. Berger using HPLC-MS/MS: Contribution to the overall antioxidant effect. *Food Chem*. 2011; 124(4): 1627-1633. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.08.031
5. Hassan MHA, Elwekeel A, Moawad A, Afifi N, Amin E, Amir DE. Phytochemical constituents and biological activity of selected genera of family *Crassulaceae*: A review. *S Afr J Bot*. 2021; 141(2021): 383-404. doi: 10.1016/j.sajb.2021.05.016
6. Буданцев А.Л., Лесиовская Е.Е. *Дикорастущие полезные растения России*. СПб: СПФХА; 2001. [Budantsev AL, Lesiovskaya EE. *Wild-growing useful plants of Russia*. St. Petersburg; 2001. (In Russ.)].
7. Николаева И.Г., Цыбиктарова Л.П., Николаева Г.Г., Манжигеев П.Г. Фитохимическое исследование надземной части горноколосьника колючего. *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. 2018; 22(4): 52-56. [Nikolaeva IG, Tsybiktartova LP, Nikolaeva GG, Manzhigeev PG. The phytochemical investigation of the aerial part of *Orostachys spinosa* (L.) Sweet. *Journal of Pharmaceuticals Quality Assurance Issues*. 2018; 22(4): 52-56. (In Russ.)].
8. Усов Л.А., Левента А.И., Одинец А.Д. Анксиолитические и мнемоторные эффекты извлечений из горноколосьника и рододендрона Адамса в эксперименте на лабораторных животных. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2010; 96(5): 125-128. [Usov LA, Leventa AI, Odinets AD. Anxiety and memorable effects of extract from *Orostachis spinosa* and *Rhododendron Adamsii* in experiment on laboratory animals. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2010; 96(5): 125-128. (In Russ.)].
8. Одинец А.Д., Левента А.И., Щукин Д.А., Шабатурова О.В. К антигипоксическому действию препаратов из растительного сырья Байкальской Сибири. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2011; 104(5): 112-115. [Odinets AD, Leventa AI, Shukin DA, Shabaturova OV. Antihypoxic action of preparations from vegetable raw materials of the Baikalian Siberia. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2011; 104(5): 112-115. (In Russ.)].
10. Одинец А.Д., Усов Л.А., Изатулин А.В., Левента А.И., Шабатурова О.В. Влияние препаратов из горноколосьника колючего и рододендрона Адамса на течение стресс-реакции

экспериментальных животных. *Acta biomedica scientifica*. 2010; 76(6): 175-181. [Odinets AD, Usov LA, Izatulin AV, Leventa AI, Shabaturova OV. Influence of the preparations of *Orostachys spinosa* (pallas) Fich. And *Rhododendron adamsii* Rhed. on a course of stress-reaction of experimental animals. *Acta biomedica scientifica*. 2010; 76(6): 175-181. (In Russ.)].

11. Николаева И.Г., Хобракова В.Б., Разуваева Я.Г., Николаева Г.Г., Николаев С.М., Цыбиктарова Л.П., и др. *Способ получения средства, обладающего нейропротективной, иммуномодулирующей активностью*: Пат. 2784435 Рос. Федерация; МПК A61K 36/41 (2006.01), A61K 127/00 (2006.01), A61K 133/00 (2006.01), A61K 135/00 (2006.01), A61P 25/00 (2006.01), A61P 37/02 (2006.01), B01D 11/02 (2006.01); заявитель и патентообладатель ФГБУН ИОЭБ СО РАН. № 022113385; заявл. 18.05.2022; опубл. 25.11.2022. Бюл. № 33. [Nikolaeva IG, Khobrakova VB, Razuvaeva YaG, Nikolaeva GG, Nikolaev SM, Tsybiktartova LP, et al. *Method for producing a drug with neuroprotective, immunomodulatory activity*: Patent No. 2784435 of the Russian Federation. 2022. (3). (In Russ.)]
12. Разуваева Я.Г., Баяндуева Е.А., Торопова А.А., Николаева И.Г. Оценка противоишемического действия экстракта сухого *Orostachys spinosa* при билатеральной окклюзии общих сонных артерий у белых крыс. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2022; 25(7): 3-8. [Razuvaeva YaG, Bayandueva EA, Toropova AA, Nikolaeva IG. Studying of the anti-ischemic effect of *Orostachys spinosa* dry extract in carotid arteries bilateral occlusion in white rats. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2022; 25(7): 3-8. (In Russ.)]. doi: 10.29296/25877313-2022-07-01
13. Nowak A, Kojder K, Zielonka-Brzezicka J, Wróbel J, Bosacki M, Fabiańska M, et al. The use of *Ginkgo biloba* L. as a neuroprotective agent in the Alzheimer's disease. *Front Pharmacol*. 2021; 12: 775034. doi: 10.3389/fphar.2021.775034
14. Миронов А.Н. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. М.: Гриф и К; 2012. [Mironov AN. *Guidelines for conducting preclinical studies of drugs*. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ.)].
15. Bajo R, Pusil S, López ME, Canuet L, Pereda E, Osipova D, et al. Scopolamine effects on functional brain connectivity: A pharmacological model of Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2015; 5: 9748. doi: 10.1038/srep09748
16. Tang KS. The cellular and molecular processes associated with scopolamine-induced memory deficit: A model of Alzheimer's biomarkers. *Life Sci*. 2019; 233: 116695. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116695
17. Камышников В.С. *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике*. М.: МЕДпресс-информ; 2009. [Kamyshnikov VS. *Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnostics*. Moscow: MEDpress-inform; 2009. (In Russ.)].
18. Гирин С.В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах. *Лабораторная диагностика*. 1999; 4: 45-46. [Girin SV. Modification of the method for determining catalase activity in biological substrates. *Laboratory diagnostics*. 1999; 4: 45-46. (In Russ.)].
19. Pinto RE, Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochem J*. 1969; 112(1): 109-115. doi: 10.1042/bj1120109

20. Прохоров М.И. (ред.). *Методы биохимических исследований*. Л.: Изд-во ЛГУ; 1982. [Prokhorov MI (ed.). *Methods of biochemical research*. Leningrad: Publishing House of Leningrad State University; 1982. (In Russ.)].
21. Pollard AK, Craig EL, Chakrabarti L. Mitochondrial complex 1 activity measured by spectrophotometry is reduced across all brain regions in ageing and more specifically in neurodegeneration. *PLoS One*. 2016; 11(6):e0157405. doi: 10.1371/journal.pone.0157405
22. Spinazzi M, Casarin A, Pertegato V, Salviati L, Angelini C. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nat Protoc*. 2012; 7(6): 1235-1246. doi: 10.1038/nprot.2012.058
23. Osterman J, Fritz PJ, Wuntch T. Pyruvate kinase isozymes from rat tissues. *J Biol Chem*. 1973; 248(3): 1011-1018.
24. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. *Основы гистологической техники*. СПб.: СпецЛит; 2010. [Korzhevsky DE, Gilyarov AV. *Fundamentals of histological techniques*. St. Petersburg: SpetsLit; 2010. (In Russ.)].
25. Wang B, Zhong Y, Gao C, Li J. Myricetin ameliorates scopolamine-induced memory impairment in mice via inhibiting acetylcholinesterase and down-regulating brain iron. *Bioch Biophys Res Comm*. 2017; 490(2): 336-342. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.06.045
26. Wang QM, Wang GL, Ma ZG. Protective effects of myricetin on chronic stress-induced cognitive deficits. *Neuroreport*. 2016; 27(9): 652-658. doi: 10.1097/WNR.0000000000000591
27. Li J, Xiang H, Huang C, Lu J. Pharmacological actions of myricetin in the nervous system: A comprehensive review of preclinical studies in animals and cell models. *Front Pharmacol*. 2021; 12: 797298. doi: 10.3389/fphar.2021.797298
28. Lei Y, Chen J, Zhang W, Fu W, Wu G, Wei H, et al. *In vivo* investigation on the potential of galangin, kaempferol and myricetin for protection of d-galactose-induced cognitive impairment. *Food Chem*. 2012; 135(4): 702-707. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.043
29. Kou JJ, Shi JZ, He YY, Hao JJ, Zhang HY, Luo DM, et al. Luteolin alleviates cognitive impairment in Alzheimer's disease mouse model via inhibiting endoplasmic reticulum stress-dependent neuroinflammation. *Acta Pharmacol Sin*. 2022; 43(4): 840-849. doi: 10.1038/s41401-021-00702-8
30. Barchestani ZN, Rafieirad M. The effect of herniarin on spatial working memory, pain threshold, and oxidative stress in ischemic hypoperfusion model in rats. *Caspian J Neurol Sci*. 2021; 7(1): 42-50. doi: 10.32598/CJNS.7.24.5
31. Xu XL, Li S, Zhang R, Le WD. Neuroprotective effects of naturally sourced bioactive polysaccharides: An update. *Neural Regen Res*. 2022; 17(9): 1907-1912. doi: 10.4103/1673-5374.335142
32. Zhu Y, Wang R, Fan Z, Luo D, Cai G, Li X, et al. Taurine alleviates chronic social defeat stress-induced depression by protecting cortical neurons from dendritic spine loss. *Cell Mol Neurobiol*. 2023; 43(2): 827-840. doi: 10.1007/s10571-022-01218-3

Сведения об авторах

Разуваева Янина Геннадьевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: tatur75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7829-1424>

Торопова Анюта Алексеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: anyuta-tor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2618-7777>

Баяндиева Елена Александровна – аспирант, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: baynduev@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-4748-0068>

Николаева Ирина Геннадьевна – доктор фармацевтических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, e-mail: i-nik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3476-1014>

Information about the authors

Yanina G. Razuvaeva – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory for the Safety of Biologically Active Substances, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: tatur75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7829-1424>

Anyuta A. Toropova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory for the Safety of Biologically Active Substances, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: anyuta-tor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2618-7777>

Yelena A. Bayanduyeva – Postgraduate, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: baynduev@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0009-4748-0068>

Irina G. Nikolaeva – Dr. Sc. (Pharm.), Docent, Senior Research Officer at the Laboratory for the Safety of Biologically Active Substances, Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: i-nik@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3476-1014>

ФТИЗИАТРИЯ PHTHISIOLOGY

УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ СИСТЕМ СВЁРТЫВАНИЯ И ФИБРИНОЛИЗА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЁГКИХ С СОПУТСТВУЮЩИМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЁННОЙ COVID-19

Абдуллаев Р.Ю.¹,
Комиссарова О.Г.^{1,2},
Шорохова В.А.¹

¹ ФГБНУ «Центральный
научно-исследовательский институт
туберкулёза» (107564, г. Москва,
Яузская аллея, 2, Россия)

² ФГАОУ ВО «Российский национальный
исследовательский медицинский
университет имени Н.И. Пирогова»
Минздрава России (117321, г. Москва,
ул. Островитянова, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:

Абдуллаев Ризван Юсиф оглы,
e-mail: rizvan0403@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Известно, что при COVID-19 в системе гемостаза наблюдается сдвиг в сторону гиперкоагуляции, который носит более выраженный характер при наличии сахарного диабета (СД). Спутником туберкулёзного процесса часто является гиперкоагуляционный синдром. Большой интерес представляет изучение состояния систем гемостаза у больных туберкулёзом лёгких (ТБ) с сопутствующим СД, перенёсших COVID-19.

Цель исследования. Изучить взаимосвязь между состоянием систем гемостаза и фибринолиза и перенесённого COVID-19 средней и тяжёлой степени у больных туберкулёзом лёгких и сахарным диабетом.

Методы. 32 больных ТБ и СД были разделены на две группы. В первую группу вошли 16 больных ТБ и СД, которые ранее перенесли COVID-19 (ТБ-СД-COVID). Вторая группа включала 16 больных ТБ и СД, которые не перенесли COVID-19 (ТБ-СД).

Результаты. Было обнаружено, что у больных ТБ-СД-COVID чаще развивался гиперкоагуляционный сдвиг по сравнению с больными ТБ-СД. Об этом свидетельствовало более частое укорочение такого показателя, как активированное частичное тромбопластиновое время (соответственно 43,7 % и 25,0 % случаев; $\chi^2 = 7,22$; $p = 0,01$), повышение уровня фибриногена (соответственно 43,7 % и 25,0 %; $\chi^2 = 7,22$; $p = 0,01$) и D-димера (соответственно 43,7 % и 18,7 %; $\chi^2 = 14,74$; $p = 0,0001$). Эти изменения были тесно связаны с системным воспалительным ответом, поскольку были обнаружены тесные и позитивные корреляционные связи между уровнем фибриногена и уровнем С-реактивного белка ($r = 0,420$; $p = 0,01$), а также скоростью оседания эритроцитов ($r = 0,433$; $p = 0,01$) у больных ТБ-СД-COVID.

Заключение. У больных ТБ и СД, перенёсших COVID-19 средней и тяжёлой степени, по сравнению с больными, не перенёсшими COVID-19, чаще развивается гиперкоагуляционный сдвиг, связанный с развитием более выраженного системного воспаления.

Ключевые слова: туберкулёз лёгких, сахарный диабет, COVID-19, гемостаз, фибринолиз, системное воспаление

Статья поступила: 28.09.2023

Статья принята: 31.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Абдуллаев Р.Ю., Комиссарова О.Г., Шорохова В.А. Уровень маркеров систем свёртывания и фибринолиза у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующим сахарным диабетом после перенесённой COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 222-229. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.22

LEVELS OF MARKERS OF COAGULATION AND FIBRINOLYSIS SYSTEMS IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS WITH CONCOMITANT DIABETES MELLITUS AFTER COVID-19

Abdullaev R.Yu.¹,
Komissarova O.G.^{1,2},
Shorokhova V.A.¹

¹ Central Tuberculosis Research Institute
(Yauzskaya alley 2, Moscow 107564,
Russian Federation)

² Pirogov Russian National Research
Medical University (Ostrovitianova str. 1,
Moscow 117321, Russian Federation)

Corresponding author:
Rizvan Yu. Abdullayev,
e-mail: rizvan0403@yandex.ru

ABSTRACT

Background. It is known that COVID-19 can be followed by a shift in the hemostatic system towards hypercoagulation, which is more pronounced in the presence of diabetes mellitus (DM). Tuberculosis process is often accompanied with hypercoagulation syndrome. Of great interest is the study of the state of hemostatic systems in patients with pulmonary tuberculosis (TB) with concomitant DM who have had COVID-19.

The aim. To study the relationship between the state of the hemostatic and fibrinolysis systems and moderate and severe COVID-19 in patients with pulmonary tuberculosis and diabetes mellitus.

Methods. 32 patients with TB and DM were divided into two groups. Group 1 included 16 patients with TB and DM who have previously had COVID-19 (TB-DM-COVID). Group 2 included 16 patients with TB and DM who did not have COVID-19 (TB-DM).

Results. It was found that TB-DM-COVID patients were more likely to develop a hypercoagulable shift compared to TB-DM patients. This was evidenced by a more frequent shortening of such indicator as activated partial thromboplastin time (43.7 % and 25.0 % of cases, respectively; $\chi^2 = 7.22$; $p = 0.01$), an increase in fibrinogen levels (43.7 % and 25.0%, respectively; $\chi^2 = 7.22$; $p = 0.01$) and D-dimer (43.7 % and 18.7 %, respectively; $\chi^2 = 14.74$; $p = 0.0001$). These changes were closely associated with the systemic inflammatory response, as strong and positive correlations were found between fibrinogen and C-reactive protein levels ($r = 0.420$; $p = 0.01$), and erythrocyte sedimentation rate ($r = 0.433$; $p = 0.01$) in TB-DM-COVID patients.

Conclusion. In patients with pulmonary tuberculosis and diabetes mellitus after moderate and severe COVID-19, compared to patients who have not had COVID-19, a hypercoagulable shift associated with the development of more pronounced systemic inflammation develops more often.

Key words: pulmonary tuberculosis, diabetes mellitus, COVID-19, hemostasis, fibrinolysis, systemic inflammation

For citation: Abdullaev R.Yu., Komissarova O.G., Shorokhova V.A. Levels of markers of coagulation and fibrinolysis systems in patients with pulmonary tuberculosis with concomitant diabetes mellitus after COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 222-229. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.22

Received: 28.09.2023
Accepted: 31.05.2024
Published: 15.07.2024

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, несмотря на улучшения ряда эпидемиологических показателей по туберкулёзу (ТБ) как в мире, так и в Российской Федерации (РФ), обстановка продолжает оставаться тревожной. Согласно глобальному докладу Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2022 г. туберкулёзом заболели 10,6 млн человек [1]. В РФ заболеваемость туберкулёзом в 2022 г. составила 31,11 случаев на 100 000 населения (45 377 случаев) [2]. Причин напряжённой ситуации несколько, в том числе и последствия недавней вспышки коронавирусной инфекции COVID-19, которая оказала существенное влияние на проведение противотуберкулёзных мероприятий [3, 4], а также значительное распространение сахарного диабета (СД), который, согласно глобальному докладу ВОЗ по туберкулёзу, входит в пять основных факторов, создающих риск развития туберкулёза [1, 5, 6]. По данным литературы, в мире среди больных туберкулёзом СД диагностирован более чем у 15 % населения (1,5 млн человек) [7–9].

Сегодня клиническое бремя COVID-19 значительно снизилось [10]. Несмотря на это, последствия инфекции остаются значительными во всём мире [11]. В литературе накопился некоторый объём информации, свидетельствующий о влиянии перенесённого COVID-19 на клиничко-рентгенологические и лабораторные показатели туберкулёзного процесса [12, 13]. Известно, что при COVID-19 наблюдается гиперкоагуляционный сдвиг в системе гемостаза, который сопровождается явлениями внутрисосудистого свёртывания крови (ВСК), и эти изменения тесно связаны с системным воспалительным ответом [14, 15]. Есть данные также о том, что развитие туберкулёза у больных СД сопровождается гиперкоагуляционным сдвигом [16]. В этих условиях большой интерес представляет изучение состояния свёртывающей и фибринолитической систем у больных ТБ с сопутствующим СД, имеющих в анамнезе данные о перенесённом COVID-19.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить взаимосвязь между состоянием систем гемостаза и фибринолиза и перенесённым COVID-19 у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующим сахарным диабетом.

МЕТОДЫ

Выполнено проспективное когортное исследование. 32 больных с ТБ лёгких и сахарным диабетом были разделены на две группы. В первую группу вошли 16 больных ТБ лёгких с сопутствующим сахарным диабетом, которые в анамнезе имели данные о перенесённой инфекции COVID-19 (ТБ-СД-COVID). Вторая группа включала 16 больных ТБ лёгких с сопутствующим сахарным диабетом, которые не перенесли COVID-19 (ТБ-СД). Время

с момента выздоровления от COVID-19 до поступления в противотуберкулёзный стационар у входящих в исследование больных составило до 6 месяцев. Все пациенты до поступления в клинику перенесли COVID-19 средней и тяжёлой степени.

В исследование включались: пациенты в возрасте от 18 до 60 лет с туберкулёзом лёгких с наличием в анамнезе сахарного диабета 1-го и 2-го типов, а также подтверждённой инфекции, вызванной COVID-19, среднего или тяжёлого течения в соответствии с временными методическими рекомендациями Минздрава РФ [17], а также пациенты в возрасте от 18 до 60 лет с туберкулёзом лёгких, наличием в анамнезе сахарного диабета 1-го и 2-го типов, не перенёвшие COVID-19.

Из исследования исключались: пациенты с ВИЧ-инфекцией, хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации, злокачественными новообразованиями, алкоголизмом, наркоманией, а также с беременностью.

Мужчин в каждой группе было 56,3 %, женщин – 43,7 %. Возраст пациентов составил от 18 до 60 лет (медиана – 45,5 года). Впервые выявленный и ранее леченый ТБ лёгких встречались в равных долях в обеих группах (50,0 % и 50,0 % соответственно). Частота встречаемости пациентов с различными формами туберкулёза лёгких в обеих группах также статистически значимо не различалась. Чаще встречались больные с туберкулёзами (37,6 % в каждой группе), реже – с очаговым туберкулёзом лёгких (25,0 % в каждой группе). Частота встречаемости больных с инфильтративным туберкулёзом составила 18,7 %, с цирротическим – также 18,7 % (в каждой группе).

В группе ТБ-СД-COVID распад в лёгких и бактериовыделения наблюдались у 43,8 %, в группе ТБ-СД – у 31,3 % больных ($p > 0,05$). Сохранённая лекарственная чувствительность микобактерий туберкулёза (МБТ) к противотуберкулёзным препаратам наблюдалась в 56,3 % случаев в группе ТБ-СД-COVID и в 43,8 % – в группе ТБ-СД. Больные, выделяющие МБТ со множественной и широкой лекарственной устойчивостью, наблюдались в обеих группах в 31,3 % случаев.

СД 1-го типа в группе больных ТБ-СД-COVID был выявлен у 11 (68,7 %), в группе ТБ-СД – у 8 (50,0 %) больных ($p > 0,05$). СД 2-го типа был установлен у 31,3 % в группе больных ТБ-СД-COVID и у 8 (50,0 %) пациентов в группе ТБ-СД ($p > 0,05$). Осложнения СД диагностировались в виде ретинопатии (в группе больных ТБ-СД-COVID – у 25,0 %, в группе ТБ-СД – у 18,7 %; $p > 0,05$), полинейропатии (у 7 (43,7 %) и 6 (37,5 %) больных соответственно; $p > 0,05$), нефропатии (у 5 (31,5 %) и 4 (25,0 %) больных соответственно; $p > 0,05$), энцефалопатии (у 1 (6,2 %) и 1 (6,2 %) больного соответственно; $p > 0,05$). Частота встречаемости сопутствующих заболеваний в сравниваемых группах также статистически значимо не различалась. Гипертоническая болезнь в группе ТБ-СД-COVID наблюдалась у 4 (25,0 %), в группе ТБ-СД – у 5 (31,2 %) пациентов ($p > 0,05$); сердечно-сосудистые заболевания – у 4 (25,0 %) и 3 (18,7 %) пациентов соответственно ($p > 0,05$); вирусные гепатиты – у 2 (12,5 %) и 2 (12,5 %) больных соответственно ($p > 0,05$); ожире-

ние – у 2 (12,5 %) и 2 (12,5 %) больных соответственно ($p > 0,05$); хроническая обструктивная болезнь лёгких – у 1 (6,2 %) и 1 (6,2 %) больного соответственно ($p > 0,05$).

Как видно из приведённых данных, сравниваемые группы в данном исследовании по демографическим показателям, клинико-рентгенологическим признакам, а также по лабораторным характеристикам течения туберкулёзного процесса и СД статистически значимо не различались.

В клинике ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза» (ФГБНУ «ЦНИИТ») проводилось детальное обследование включённых в исследование больных с применением клинико-рентгенологических и лабораторных методов.

Для оценки состояния плазменной системы гемостаза изучали изменения показателей активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), тромбинового времени (ТВ), протромбинового времени (ПВ) и фибриногена (Ф). Состояние системы антисвёртывания оценивали по уровню антитромбина III (АТ III). Об активности фибринолитической системы судили по содержанию в плазме крови D-димера. Наряду с этим оценивали некоторые показатели клинического анализа крови, которые свидетельствуют об изменениях в тромбоцитарном звене системы гемостаза: количество тромбоцитов (Т), показатель тромбокриты (ТК) и значения относительной ширины распределения тромбоцитов (ШРТ). Из маркеров системного воспалительного ответа определяли содержание в сыворотке крови острофазных белков (С-реактивного белка (СРБ) и Ф) и, кроме того, изучали скорость оседания эритроцитов (СОЭ).

Исследования лабораторных показателей проводили при поступлении пациентов в клинику ФГБНУ «ЦНИИТ» до начала противотуберкулёзной химиотерапии. Для определения референсных значений вышеуказанных лабораторных показателей выполнили исследования сыворотки и плазмы крови у 47 здоровых добровольцев.

При проведении исследования соблюдались этические принципы Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации («Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве испытуемого»). Локальный этический комитет ФГБНУ «ЦНИИТ» одобрил проведение данного исследования (протокол № 1 от 18.01.2021). Добровольное информированное согласие на участие в исследовании было получено от всех пациентов в письменном виде.

База данных пациентов была создана при помощи программ MS Excel (Microsoft Corp., США) и SPSS Statistics, версия 27 (IBM Corp., США). Для оценки распределения значений применялись критерии Колмогорова – Смирнова. Для описания качественных данных использовали частоту (в %), с которой те или иные значения качественных признаков встречались в выборке. Количественные данные описывали, применяя медиану (Me) и проценти́ли (Q1 и Q3). Проверку гипотезы о равенстве средних величин величин проводили с использованием критерия Манна – Уитни. Для оценки статистической значимости различий в частоте признаков сравниваемых выборок в зависимости от их размера использовался критерий χ^2 Пирсона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ частоты встречаемости различных отклонений в показателях систем свёртывания и фибринолиза у пациентов, больных туберкулёзом лёгких, с сопутствующим сахарным диабетом, перенёсших COVID-19, представлен в таблице 1.

Как видно из приведённых данных, показатель АЧТВ укорачивался в 43,7 % случаев в группе больных ТБ-СД-COVID-19, а у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующим СД, не перенёсших COVID-19, – в 25,0 % случаев ($\chi^2_{1-2} = 7,22; p = 0,01$). Укорочение АЧТВ является одним из индикаторов наличия гиперкоагуляционного сдвига. Укорочение ПВ, которое также свидетельствовало о наличии гиперкоагуляционного сдвига, в сравниваемых группах наблюдалось с одинаковой частотой (25,0 % и 25,0 % соответственно; $p > 0,05$). Снижение уровня АТ III, который является одним из индикаторов наличия гиперкоагуляции, наблюдалось только в группе больных ТБ лёгких с сопутствующим СД, перенёсших COVID-19 (18,7 %). В группе больных, не перенёсших COVID-19, таких случаев не выявлялось. Повышение содержания Ф, который также является одним из маркеров наличия гиперкоагуляционного сдвига, чаще выявлялось в группе больных ТБ-СД-COVID по сравнению с больными ТБ-СД (43,7 % и 25,0 % соответственно; $\chi^2 = 7,22; p = 0,01$). Изменения в показателе ТВ отсутствовали в обеих группах больных. Повышение уровня D-димера, который, с одной стороны, является индикатором наличия внутрисосудистого свёртывания крови, а с другой – маркером активности фибринолитической системы, чаще наблюдалось в группе пациентов ТБ-СД-COVID (43,7 %). В группе больных ТБ-СД такой сдвиг отмечался в 18,7 % случаев ($\chi^2 = 14,74; p = 0,0001$). Статистически значимых изменений в показателях Т, ТК и ШРТ не отмечалось.

Уровни показателей систем свёртывания и фибринолиза у больных ТБ лёгких с сопутствующим сахарным диабетом, перенёсших и не перенёсших инфекцию, вызванную COVID-19, представлены в таблице 2.

Как видно из приведённых данных, в группе пациентов с туберкулёзом лёгких с сопутствующим СД, перенёсших COVID-19, наблюдали укорочение показателя АЧТВ по сравнению со здоровыми добровольцами.

ПВ было укорочено в обеих группах больных по сравнению со здоровыми, что свидетельствовало о наличии гиперкоагуляционного синдрома.

Уровень АТ III во всех группах исследования статистически значимо не отличался от такового у здоровых добровольцев.

Содержание Ф в группе больных ТБ лёгких с сопутствующим СД, перенёсших COVID-19, оказалось статистически значимо выше по сравнению как со здоровыми, так и с группой больных ТБ-СД.

ТАБЛИЦА 1
ЧАСТОТА ИЗМЕНЕНИЙ МАРКЕРОВ СИСТЕМ СВЁРТЫВАНИЯ И ФИБРИНОЛИЗА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЁГКИХ С СОПУТСТВУЮЩИМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ПЕРЕНЁСШИХ И НЕ ПЕРЕНЁСШИХ COVID-19 (%)

Показатели	Больные ТБ-СД, перенёсшие инфекцию COVID-19 (n = 16)						Больные ТБ-СД, не перенёсшие инфекцию COVID-19 (n = 16)					
	норма		снижение		повышение		норма		снижение		повышение	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
	1		2		3		4		5		6	
АЧТВ	6	37,5	7	43,75	3	18,75	10	62,5	4	25,0	2	12,5
Протромбиновое время	12	75,0	4	25,0	–	–	12	75,0	4	25,0	–	–
Антитромбин III	10	62,5	3	18,75	3	18,75	13	81,25	–	–	3	18,75
Фибриноген	7	43,75	2	12,5	7	43,75	10	62,5	2	12,5	4	25,0
Тромбиновое время	16	100,0	–	–	–	–	16	100,0	–	–	–	–
D-димер	10	62,5	–	–	6	37,5	13	81,25	–	–	3	18,75
Тромбоциты	13	81,25	1	6,25	2	12,5	15	93,75	1	6,25	–	–
Тромбокрит	16	100,0	–	–	–	–	16	100,0	–	–	–	–
Ширина распределения тромбоцитов по объёму	16	100,0	–	–	–	–	16	100,0	–	–	–	–

TABLE 1
FREQUENCY OF CHANGES IN MARKERS OF COAGULATION AND FIBRINOLYSIS SYSTEMS IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS WITH CONCOMITANT DIABETES MELLITUS WHO HAVE AND HAVE NOT HAD COVID-19 (%)

ТАБЛИЦА 2
УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ СИСТЕМ СВЁРТЫВАНИЯ И ФИБРИНОЛИЗА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЁГКИХ С СОПУТСТВУЮЩИМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ПЕРЕНЁСШИХ И НЕ ПЕРЕНЁСШИХ COVID-19 (МЕ (Q1; Q3))

Показатели	Здоровые добровольцы	Больные ТБ-СД, перенёсшие инфекцию COVID-19 (n = 16)	Больные ТБ-СД, не перенёсшие инфекцию COVID-19 (n = 16)
	1	2	3
АЧТВ	36,5 (34,5; 37,7)	33,5 (31,25; 34,4) $p_{1-2} < 0,05$	36 (32,25; 37,75)
Протромбиновое время	14,0 (12,0; 16,0)	11,5 (10,6; 12,0) $p_{1-2} < 0,05$	11,2 (10,8; 11,6) $p_{1-3} < 0,02$
Антитромбин III	100 (91,7; 108,7)	102 (96; 114)	109 (103,7; 114,7)
Фибриноген	3,10 (2,71; 3,20)	3,82 (3,21; 5,39) $p_{1-2} < 0,05$	2,88 (2,65; 3,2)
Тромбиновое время	20 (17,2; 22,0)	18 (17; 19)	18 (17; 19)
D-димер	0,25 (0,19; 0,40)	0,5 (0,19; 1,31) $p_{1-2} < 0,01$	0,43 (0,24; 0,50) $p_{1-3} < 0,05$
Тромбоциты	250,0 (220,0; 290,0)	243 (197,5; 299,7)	220 (192; 282,7)
Тромбокрит	0,19 (0,14; 0,25)	0,20 (0,17; 0,26)	0,17 (0,16; 0,20)
Ширина распределения тромбоцитов по объёму	14 (11,3; 15,2)	12,2 (11,1; 12,9)	11,3 (9,6; 12,3)

TABLE 2
LEVEL OF MARKERS OF COAGULATION AND FIBRINOLYSIS SYSTEMS IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS WITH CONCOMITANT DIABETES MELLITUS WHO HAVE AND HAVE NOT HAD COVID-19, ME (Q1; Q3)

ТАБЛИЦА 3

УРОВЕНЬ СРБ И СОЭ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЁЗОМ ЛЁГКИХ С СОПУТСТВУЮЩИМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ПЕРЕНЁСШИХ И НЕ ПЕРЕНЁСШИХ COVID-19, МЕ (Q1; Q3)

Показатели	Здоровые добровольцы	Больные ТБ-СД, перенёсшие инфекцию COVID-19 (n = 16)	Больные ТБ-СД, не перенёсшие инфекцию COVID-19 (n = 16)
	1	2	3
СРБ	1,5 (1,0; 2,0)	12,6 (7,0; 22,5) $p_{1-2} < 0,01$	3 (2,0; 7,0) $p_{2-3} < 0,02$
СОЭ	15,0 (8,5; 24,5)	38 (30,7; 88,7) $p_{1-2} < 0,01$	7 (2,5; 36,2)

TABLE 3

LEVEL OF C-REACTIVE PROTEIN AND ERYTHROCYTE SEDIMENTATION RATE IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS WITH CONCOMITANT DIABETES MELLITUS, WHO HAVE AND HAVE NOT HAD COVID-19, ME (Q1; Q3)

Медианное значение показателя ТВ во всех сравниваемых группах статистически значимо не отличалось от такового у здоровых.

По сравнению со здоровыми добровольцами содержание D-димера в группах больных ТБ-СД-COVID и ТБ-СД было выше. При этом существенных различий между группами выявлено не было.

Группы больных также не различались от здоровых по показателям количества тромбоцитов и тромбокрит. В обеих обследованных группах больных показатель ШРТ был ниже по сравнению со здоровыми, но статистически значимые различия между группами отсутствовали.

Различия по уровню маркеров систем свёртывания и фибринолиза у больных туберкулёзом лёгких с СД 1-го и 2-го типов в группе перенёсших COVID-19 были статистически не значимыми. Вероятно, это было связано с отсутствием статистически значимых различий по частоте встречаемости осложнений СД в этих группах.

Учитывая, что изменения в системе гемостаза и фибринолиза являются компонентами системного воспалительного ответа, нами были изучены изменения уровня СРБ и показателя СОЭ.

Было установлено, что повышение уровня СРБ в группе больных ТБ-СД-COVID наблюдалось в подавляющем большинстве случаев (87,5 %), а в группе больных ТБ-СД – в 31,2 % случаев ($\chi^2 = 64,82$; $p = 0,00001$).

Статистически значимо чаще повышение показателя СОЭ наблюдали в группе пациентов ТБ-СД-COVID по сравнению с больными ТБ-СД (75,0 % и 31,2 % соответственно; $\chi^2_{1-2} = 38,86$; $p = 0,00001$).

Анализ результатов исследования уровня СРБ и СОЭ показал, что их значения были статистически значимо выше в группе больных ТБ лёгких с сопутствующим СД, перенёсших COVID-19 (табл. 3).

Корреляционный анализ показал, что уровень фибриногена тесно и позитивно коррелировал с уровнем СРБ ($r = 0,420$; $p = 0,01$) и СОЭ ($r = 0,433$; $p = 0,01$) у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующим СД, перенёсших COVID-19.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ частоты встречаемости различных отклонений и медианы показателей систем свёртывания и фибринолиза показал, что у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующим сахарным диабетом, перенёсших COVID-19 средней и тяжёлой степени, чаще развивается гиперкоагуляционный сдвиг по сравнению с пациентами, не перенёсшими COVID-19. Об этом свидетельствовали частое укорочение показателя АЧТВ, снижение уровня АТ III, повышение уровня фибриногена и D-димера. При этом гиперкоагуляционный сдвиг в группе пациентов, перенёсших COVID-19, был более выраженным, что документировалось статистически значимо высокими значениями фибриногена. Вероятно, эти изменения были связаны с повреждениями в сосудистой системе после перенесённой COVID-19. Обнаруженные вышеуказанные изменения в системе гемостаза и фибринолиза были тесно связаны с системным воспалительным ответом, который наблюдался чаще и был более выраженным в группе пациентов туберкулёзом лёгких с сопутствующим сахарным диабетом, перенёсших COVID-19. Это подтверждается статистически значимо частым и более выраженным повышением у этих пациентов уровня СРБ, фибриногена и показателя СОЭ.

Финансирование

Исследование проведено при финансовой поддержке ФГБНУ «ЦНИИТ» и подготовлено в ходе выполнения научно-исследовательской работы по теме № 122041200023-9 «Лабораторные аспекты проявления системного воспалительного ответа у больных туберкулёзом и различными заболеваниями бронхолегочной системы, перенёсших инфекцию, вызванную SARS-CoV-2».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Global tuberculosis report 2022*. Geneva: World Health Organization; 2022. URL: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022> [date of access: 26.02.2024].
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад Роспотребнадзора. М.; 2023. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population of the Russian Federation in 2022: State report of Rospotrebnadzor. Moscow; 2023. (In Russ.)]. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=25076&ysclid=lt6r30hhia904823086 [дата доступа: 29.02.2024].
3. Савинцева Е.В., Исаева П.В., Низамова Г.Ф. Туберкулез и COVID-19: медицинские и социальные аспекты. *Туберкулез и болезни лёгких*. 2022; 100(3): 13-17. [Savintseva EV, Isaeva PV, Nizamova GF. Tuberculosis and COVID-19: Medical and social aspects. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2022; 100(3): 13-17. (In Russ.)]. doi: 10.21292/2075-1230-2022-100-3-13-17
4. Aggarwal AN, Agarwal R, Dhoria S, Prasad KT, Sehgal IS, Muthu V. Active pulmonary tuberculosis and coronavirus disease 2019: A systematic review and metaanalysis. *PLoS One*. 2021; 16(10): e0259006. doi: 10.1371/journal.pone.0259006
5. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. М.; 2023. [Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AYU. *Algorithms for specialized medical care for patients with diabetes*. Moscow; 2023. (In Russ.)].
6. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*; 10th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2021. URL: <https://www.diabetesatlas.org> [date of access: 12.07.2023].
7. Noubiap JJ, Nansseu JR, Nyaga UF, Nkeck JR, Endomba FT, Kaze AD, et al. Global prevalence of diabetes in active tuberculosis: A systematic review and meta-analysis of data from 2,3 million patients with tuberculosis. *Lancet Glob Health*. 2019; 7(4): e448-e460. doi: 10.1016/S2214-109X(18)30487-X
8. Jeon CY, Harries AD, Baker MA, Hart JE, Kapur A, Lönnroth K, et al. Bi-directional screening for tuberculosis and diabetes: A systematic review. *Trop Med Int Health*. 2010; 15(11): 1300-1314. doi: 10.1111/j.1365-3156.2010.02632.x
9. Workneh MH, BJune GA, Yimer SA. Prevalence and associated factors of tuberculosis and diabetes mellitus comorbidity: A systematic review. *PLoS One*. 2017; 12(4): 1-25. doi: 10.1371/journal.pone.0175925
10. World Health Organization. *Weekly epidemiological update on COVID-19*. 6 July 2023; Edition 150. URL: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---6-july-2023> [date of access: 12.07.2023].
11. Lippi G, Henry BM, Favresse J, Plebani M. Addressing standardized definitions of post-COVID and long-COVID. *Clin Chem Lab Med*. 2023; 61(8): 1361-1362. doi: 10.1515/cclm-2023-0390
12. Комиссарова О.Г., Абдуллаев Р.Ю., Шорохова В.А. Особенности туберкулёза лёгких у больных, перенёвших инфекцию вызванную, SARS-CoV-2. *Современные проблемы науки и образования*. 2023; (4). [Komissarova OG, Abdullaev RYu, Shorokhova VA. Features of pulmonary tuberculosis in patients who have had an infection caused by SARS-CoV-2. *Modern Problems of Science and Education*. 2023; (4). (In Russ.)]. URL: <https://science-education.ru/article/view?id=32737> [дата доступа: 27.02.2024].
13. Абдуллаев Р.Ю., Комиссарова О.Г., Красникова Е.В., Багиров М.А., Эргешов А.Э. Показатели систем гемостаза и фибринолиза у больных туберкулёзом лёгких, перенёвших COVID-19, в пред- и после операционном периодах. *Вестник ЦНИИТ*. 2022; (2): 18-24. [Abdullaev RYu, Komissarova OG, Krasnikova EV, Bagirov MA, Ergeshov AE. Hemostasis and fibrinolysis parameters in pulmonary TB patients after COVID-19 infection before and after surgery. *CTRI Bulletin*. 2022; (2): 18-24. (In Russ.)]. doi: 10.7868/S2587667822020029
14. 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
15. Абдуллаев Р.Ю., Комиссарова О.Г., Рыбка М.М., Березовский Ю.С., Грецов Е.М., Семенова Л.А. Клинико-лабораторные проявления и патологоанатомическая картина тяжелого течения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) с летальным исходом. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2022; 11(4): 30-37. [Abdullaev RYu, Komissarova OG, Rybka MM, Berezovskiy YuS, Grekov EM, Semenova LA. Clinical and laboratory manifestations and pathological anatomical picture of a severe course of a new coronavirus infection COVID-19 with a fatal outcome. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2022; 11(4): 30-37. (In Russ.)]. doi: 10.33029/2305-3496-2022-11-4-30-37
16. Абдуллаев Р.Ю., Комиссарова О.Г., Коняева О.О., Романов В.В. Изменения показателей систем гемостаза и фибринолиза у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующим сахарным диабетом. *Туберкулез и социально значимые заболевания*. 2021; (1): 60. [Abdullaev RYu, Komissarova OG, Konyayeva OO, Romanov VV. Changes in the parameters of hemostasis and fibrinolysis systems in patients with pulmonary tuberculosis with concomitant diabetes mellitus. *Tuberculosis and Socially Significant Diseases*. 2021; (1): 60. (In Russ.)].
17. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции. 2022. [Temporary guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection. 2022. (In Russ.)]. URL: https://minzdrav.gov.ru/ministry/med_covid19 [дата доступа: 12.07.2023].

Сведения об авторах

Абдуллаев Ризван Юсифович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом патоморфологии, клеточной биологии и биохимии, ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза», e-mail: rizvan0403@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9105-9264>

Комиссарова Оксана Геннадьевна — доктор медицинских наук, заместитель директора по лечебной и научной работе, ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза»; профессор кафедры фтизиатрии лечебного факультета, ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, e-mail: oksana.komissarova.72@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4427-3804>

Шорохова Виолетта Андреевна — кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отдела патоморфологии, клеточной биологии и биохимии, ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулёза», e-mail: shelakova.07@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7143-3204>

Information about the authors

Rizvan Yu. Abdullayev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, e-mail: rizvan0403@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9105-9264>

Oksana G. Komissarova – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Medical and Scientific Work, Central Tuberculosis Research Institute; Professor at the Department of Phthisiology, Faculty of Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University, e-mail: oksana.komissarova.72@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4427-3804>

Violetta A. Shorokhova – Cand. Sc. (Med.), Junior Research Officer at the Department of Pathomorphology, Cell Biology and Biochemistry, Central Tuberculosis Research Institute, e-mail: shelakova.07@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7143-3204>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL CHANGES IN TWO NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE MODELS OF DIFFERENT SEVERITY

Brus T.V.,
Vasiliev A.G.

St. Petersburg State
Pediatric Medical University
(Litovskaya str. 2, Saint Petersburg 194100,
Russian Federation)

Corresponding author:
Tatiana V. Brus,
e-mail: bant.90@mail.ru

ABSTRACT

Background. One of the priority areas of modern medicine, which unites the interests of various specialists (therapists, cardiologists, gastroenterologists, endocrinologists), is the study of the pathogenesis and clinical manifestations of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), which is widespread and of unconditional social significance. The search for adequate experimental models of NAFLD that reflect the severity of liver damage is of paramount importance for studying its etiology and pathogenesis.

The aim of the study. To compare biochemical and histological changes in experimental models of NAFLD of varying severity.

Materials and methods. Two NAFLD model versions were used: a light one – non-alcoholic steatosis (NAS) and a severe variant – non-alcoholic steatohepatitis (NASH). The following biochemical parameters were measured: enzyme activity of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (AP), plasma glucose concentration, total protein (TP), total bilirubin (TBil) and its conjugate fraction (CB), plasma concentrations of homocysteine (HC), total cholesterol (TC), triacylglycerides (TG), catalase (Cat), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA).

Results. When used in a model of steatohepatitis, liver function was impaired to a significantly greater extent than in the model of steatosis; this difference was manifested in a statistically significant increase in ALT, AST, AP, TC, Tbil, MDA ($p < 0.001$) and a decrease in Cat, SOD ($p < 0.05$). This is confirmed by the development of more pronounced symptoms of disorders of pigment and lipid metabolism, cytolytic and cholestatic syndromes, significant activation of lipid peroxidation and depression of the antioxidant system when modeling non-alcoholic steatohepatitis. Various degrees of severity of morphological changes in the experimental groups were revealed.

Conclusion. The study showed the priority of determining biochemical markers, including the levels of ALT, AST, OBIL, TG, MDA and SOD to optimize laboratory methods for diagnosing the severity of liver dystrophy.

The practical originality of the results lies in the optimization of the methodology for laboratory diagnosis of the severity of the pathological process in NAFLD.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, hepatic steatosis, steatohepatitis, metabolism, rats, lipid peroxidation, malondialdehyde, superoxide dismutase

Received: 10.07.2023
Accepted: 13.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Brus T.V., Vasiliev A.G. Biochemical and histological changes in two non-alcoholic fatty liver disease models of different severity. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 230-238. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.23

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА ДВУХ МОДЕЛЯХ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

**Брус Т.В.,
Васильев А.Г.**

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный педиатрический
медицинский университет» Минздрава
России (194100, г. Санкт-Петербург,
ул. Литовская, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Брус Татьяна Викторовна,
e-mail: bant.90@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. Одним из приоритетных исследований современной медицины, объединяющих интересы различных специалистов (терапевтов, кардиологов, гастроэнтерологов, эндокринологов), является изучение патогенеза и заболеваний неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), для которой характерна распространённость и безусловная инновационность. Поиск адекватных экспериментальных моделей НАЖБП, отражающих степень тяжести повреждения печени, имеет первостепенное значение для изучения её этиологии и патогенеза.

Цель исследования. Определение биохимических маркеров для определения степени тяжести неалкогольной жировой болезни печени.

Материалы и методы. В эксперименте использовались два варианта модели НАЖБП: лёгкий – неалкогольный стеатоз (НАС), тяжёлый – неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). Измеряли следующие биохимические показатели: активность ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), глюкозы в плазме, общего белка (ОБ), общего билирубина (ОБил) и его прямых соединений (ПБ), состояния в плазме гомоцистеина, холестерина (ОХ), триацилглицеридов (ТГ), каталазы (Кат), супероксиддисмутазы (СОД) и малонового диальдегида (МДА).

Результаты. На моделях стеатогепатита функция печени нарушается в значительно большей степени, чем при стеатозе; этот фактор проявился в динамике повышения АЛТ, АСТ, ЩФ, ОХ, ОБил, МДА ($p < 0,001$) и снижения Кат, СОД ($p < 0,05$), что способствует развитию более выраженных проявлений пигментного и липидного обмена, цитолитических и холестатических синдромов, активации ПОЛ и депрессии антиоксидантной системы при моделировании неалкогольного стеатогепатита. Также выявлена различная степень выраженности морфологических изменений в экспериментальных группах.

Выводы. Исследование показало приоритетность определения биохимических маркеров, в том числе уровней АЛТ, АСТ, ОБил, ТГ, МДА и СОД, для оптимизации лабораторной методики диагностики степени тяжести дистрофии печени.

Практическая оригинальность результатов заключается в оптимизации методологии лабораторной диагностики степени тяжести патологического процесса при НАЖБП.

Ключевые слова: неалкогольная тяжёлая болезнь печени, стеатоз печени, стеатогепатит, обмен веществ, крысы, перекисное окисление липидов, малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза

Статья поступила: 10.07.2023

Статья принята: 13.06.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Брус Т.В., Васильев А.Г. Биохимические и гистологические изменения на двух моделях неалкогольной жировой болезни печени различной степени тяжести. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 230-238. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.23

INTRODUCTION

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a clinical and laboratory syndrome characterized by profound disorders of lipid metabolism, morphologically manifested by lipid deposition in hepatocytes [1]. The current classification of NAFLD includes three stages: non-alcoholic steatosis (NAS), non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and liver cirrhosis.

Currently, NAFLD is not only the predominant liver pathology in the world, but also a component of the metabolic syndrome [2]. Recent screening studies in Russia found NAFLD in 27 % of people, with 80 % of these patients diagnosed with NAS, 17 % with NASH, and 3 % with cirrhosis [3]. Up to 80 % of all cases of liver cirrhosis in Russia are directly caused by NAFLD [4]. Manifestations of NAFLD and metabolic syndrome occur in 30 % of all therapeutic patients in Russia [5]. The increased incidence of NAFLD directly correlates with increased cardiovascular and endocrine pathology [6, 7]. This high prevalence of NAFLD is associated with modern trends in nutrition and the prevalence of a sedentary lifestyle among the population [8].

One theory for excess lipid accumulation in hepatocytes is a decrease in the oxidation of free fatty acids (FFA) in mitochondria, as well as an increase in the delivery of FFA to the liver. Progressive accumulation of FFAs causes direct damage to cell membranes, activation of lipid peroxidation (LPO), oxidative stress, chronic inflammation (NASH), collagenogenesis and progressive fibrosis.

The lack of effective methods for the treatment and prevention of NAFLD is due to insufficient understanding of its etiology and pathogenesis. Liver biopsy is still the gold standard for diagnosing NAFLD. But its use is not always appropriate, and it cannot be used in all patients [9]. Thus, the relevance of the study lies in the validation of existing models of liver damage, as well as elucidation of aspects of the development of the pathological process over time using a number of biochemical indicators. Considering the above, we determined the purpose of this study: to identify biochemical markers to determine the severity of non-alcoholic fatty liver disease.

EXPERIMENTAL SECTION

Materials and methods

Prior to the experiment, the study plan, standardized operating procedures and accompanying documentation were subjected for ethical review and subsequently approved by the Local Ethical Committee of the Ministry of Health of Russian Federation (protocol No. 1/1 dated January 16, 2017).

The study involved 120 male albino rats with body mass 220–240 g divided into three groups:

1. Controls ($n = 24$) – intact healthy animals tested for reference blood parameters. They were fed with standard food rations and had free access to water.

2. “Liver steatosis” ($n = 48$) – rats that were fed with standard rations identical to those of the controls but received 10 % fructose solution instead of water [10].

3. “Steatohepatitis” ($n = 48$) – rats that throughout the entire study were fed with food briquettes consisting of 21 % protein, 5 % animal fat, 60 % fructose, 8 % cellulose, 5 % minerals and 1 % vitamins. This routine was shown in our previous morphologic studies to cause in 3–4 weeks severe hepatic fibrosis [11].

Restrictions on access to food, diets and drinking conditions were not introduced. Throughout the study, the control group (healthy, intact animals) was fed with a complete extruded and granulated food specially designed for feeding laboratory rodents (Laboratorkorm LLC, Russia). Before feeding the animals, the food was sterilized. Water for the animals was filtered and, after filling the drinking bottle, irradiated with ultraviolet light for 5 minutes.

Blood samples (6 ml) were collected into vacutainers through a transcutaneous heart puncture into Monovette vacuum systems, after which the animals were euthanized. Samples from control animals were taken on day 1 of the experiment and from the rats of “Liver steatosis” and “Steatohepatitis” groups – on days 21, 28 and 37 of the experiment. Previously, the animals of these groups were combined into three subgroups of 16 rats each.

Biochemical blood tests were carried out using generally accepted methods using a StatFax 3300 analyzer and a set of reagents from Parma LLC (Russia). Studies included: glucose concentration (Glu), total plasma proteins (TP), total bilirubin (TBil) and conjugate bilirubin (CB), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDG), alkaline phosphatase (AP), homocysteine (HC), total cholesterol (TC), triacylglycerides (TAG) levels. The intensity of LPO was judged by changes in the concentration of malondialdehyde (MDA), which was determined colorimetrically with thiobarbituric acid [12]. The state of the antioxidant system was assessed by catalase concentration, determined by the method of M.A. Korolyuk et al., 1988 [13] and superoxide dismutase (SOD) concentration, which was determined by the adrenaline autooxidation method [14].

Histological examination was carried out by light microscopy, hematoxylin-eosin staining, magnification 20 \times . A different degree of severity of morphological changes in the experimental groups was revealed. All experimental groups share signs of fatty degeneration of hepatocytes.

All the results were statistically processed with the help of SPSS for Windows 13.0 package. All the resulting data are presented as mean \pm standard error ($M \pm SE$). Kolmogorov – Smirnov criterion was used to determine the character of data distribution. To describe quantitative characteristics that do not correspond to the law of normal distribution, the nonparametric Mann – Whitney test was used. The obtained data are presented as median, lower and upper quartiles (Me, quartiles [25 %–75 %]). Using Friedman’s χ^2 test (with a distribution other than normal), $p < 0.05$ (probability of at least 95 %) was accepted as a significant level of difference, which is standard for biomedical experiments.

RESULTS AND DISCUSSION

Starting from day 21, the animals from “Steatohepatitis” group displayed total bilirubin blood plasma concentration increase due to direct bilirubin fraction that demonstrated a valid constant increase during the entire experiment ($p = 0.037$). This increase reflects a progressive hepatic dysfunction alongside steatohepatitis development. The absence of statistically valid parallel increase of total bilirubin blood concentration during the entire experiment in comparison to control group ($p = 0.363$) confirms this thesis.

Liver steatosis unlike steatohepatitis had caused moderate impairment of pigment metabolism with slow but reliable total bilirubin blood concentration increase ($p = 0.040$) without substantial fluctuations of conjugate bilirubin concentration testifying to mild hepatocytes dysfunction (Table 1).

The analysis of data on the activity of cellular enzymes characterizing cytolytic liver impairment in blood of animals with steatohepatitis (ALT and AST) had revealed a synchronous reliable increase reaching a statistically valid level of difference in comparison to the control group from the very beginning of the experiment (ALT: $p < 0.001$, AST: $p < 0.001$), with a continuous increment during the entire experiment (Fig. 1).

Hepatic transaminases activity in “Liver steatosis” group demonstrated a slow increase. It was only on day 37 that they have reached statistically valid difference from the control group (ALT: $p = 0.001$; AST: $p = 0.002$). Cytolytic syndrome intensity in case of steatosis was much lower which was confirmed by a lower ALT and AST level in the animals of this group in comparison with “Steatohepatitis” group (AST level lower by 8.5 IU/l ($p = 0.011$), ALT level – by 13.4 IU/l ($p = 0.004$)) (Fig. 1). This fact confirms validity of two chosen NAFLD models of varying severity.

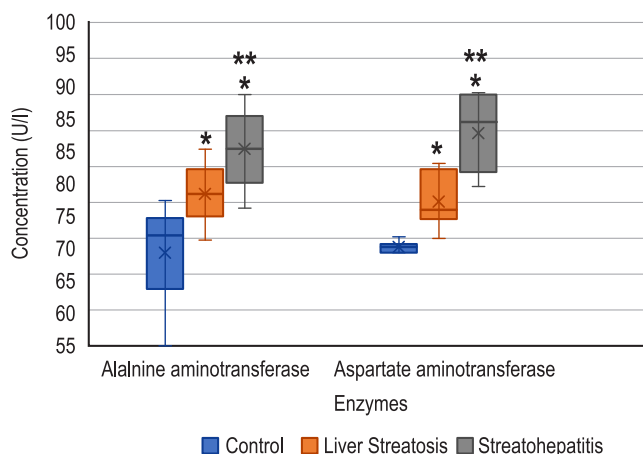


FIG. 1. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) level changes (IU/l) in rats with liver steatosis and steatohepatitis. Boxplots showing hormonal and metabolic differences between “Liver Steatosis” groups and “Control” group: * – differences from the “Control” group are statistically significant (Mann – Whitney test); ** – differences from the “Liver Steatosis” group are significant (Mann – Whitney test)

A significant discrepancy was revealed in the dynamics of biochemical blood parameters of experimental animals, characterizing the condition of the liver between groups with different severity of the process. Liver functions in the “Steatohepatitis” group were significantly more disturbed than in the “Liver steatosis” group: disorders of pigment and lipid metabolism, as well as cytolytic and cholestatic syndromes and hyperhomocysteinemia in the former group were much more pronounced than in the latter one. The evaluation supports the validity of fructose-induced NAFLD models.

The used high-carbohydrate (60 % fructose of the total feed mass – “Steatohepatitis” group) and lipid-rich

TABLE 1

INDICATORS OF PIGMENT METABOLISM IN RATS WITH NAFLD OF VARYING SEVERITY (ME [25 %; 75 %]) IN EXPERIMENTAL GROUPS

Groups	Observation period (days)	n	Indicators studied	
			Total bilirubin, $\mu\text{mol/l}$	Conjugate bilirubin, $\mu\text{mol/l}$
Control	0 ⁽¹⁾	24	10.0 [4.8; 15.1]	1.1 [0.69; 1.7]
	21 ⁽²⁾	16	12.2 [4.4; 22.1]	1.1 [0.62; 1.6]
Liver steatosis	28 ⁽³⁾	16	12.3 [8.9; 14.9]	1.6 [1.1; 2.0]
	37 ⁽⁴⁾	16	15.4 [13.7; 16.5]	1.1 [0.62; 1.6]
	21 ⁽⁵⁾	16	14.5 [12.8; 16.2]	1.0 [0.68; 1.2]
Steatohepatitis	28 ⁽⁶⁾	16	19.4 [10.1; 29.2]	1.3 [1.01; 2.0]
	37 ⁽⁷⁾	16	28.1 [24.2; 33.1]	1.6 [1.1; 2.0]

Note. ²⁻⁷ – measurements within groups on days 21, 28, 37 were made using the Friedman’s test ($p < 0.005$); ¹⁻², ¹⁻³, ¹⁻⁴, ¹⁻⁵, ¹⁻⁶, ¹⁻⁷ – measurements within groups on days 21, 28, 37 were made using the Mann – Whitney test; statistically significant differences ($p < 0.005$) were observed in the groups 1–4, 1–5, 1–6, 1–7 by the level of total bilirubin.

diet led to the rapid formation of pathological processes (5 weeks) compared to other used models [15–17]. However, such a diet also led to the formation of serious pathological conditions in the cardiovascular system and liver of rats, which is confirmed by the 30 % mortality of animals at the end of the study (day 37). In studies by other authors [18, 19], no mortality was reported.

Lethality rate, in our opinion, can be used as an integral parameter for assessing the severity of the pathological process and the intensity of the studied models. The high-carbohydrate (60 % fructose by weight), lipid-rich diet caused rapid development of pathological processes, leading to a 32 % mortality rate by the end of the experiment (day 37).

In studies by other authors, high levels of ALT and AST in the experimental groups were similar to our data [20–23]. However, the degree of disturbances in lipid and pigment metabolism is significantly higher according to our results.

LDG blood levels in “Steatohepatitis” group demonstrated a reliable moderate increase ($p < 0.001$). LDG blood levels in “Liver steatosis” group did not substantially differ from those of the control animals. Comparison of mean LDG blood levels in “Steatohepatitis” and “Liver steatosis” groups revealed that LDG values in rats with liver steatosis were reliably lower by 13.4 IU/l than in the animals with steatohepatitis ($p = 0.026$).

AP blood levels in “Steatohepatitis” group demonstrated a reliable moderate increase in comparison with the control group ($p < 0.001$) which is a cholestatic syndrome biochemical marker. Glucose levels in “Steatohepatitis” group grew slowly during the experiment and demonstrated a valid difference with control ($p = 0.015$), while Glu levels in “Liver Steatosis” group did not differ statistically from those in the control group (Fig. 2). Homocysteine blood concentration increase, an important hepatic and endothelial dysfunction marker, was statistically valid in “Steatohepatitis” group ($p = 0.001$), but not in “Liver steatosis” one.

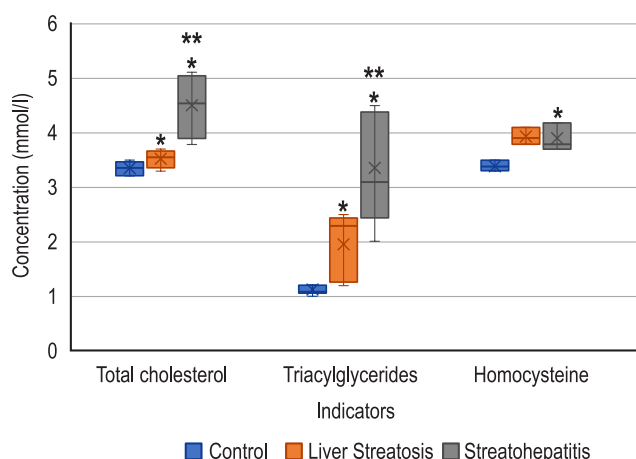


FIG. 2.

Total cholesterol, triacylglycerides and homocysteine level changes (mmol/l) in rats with liver steatosis and steatohepatitis. Box-plots showing hormonal and metabolic differences between “Hepatic Steatosis” groups and “Control” group: * – differences from the “Control” group are statistically significant (Mann – Whitney test); ** – differences from the “Liver Steatosis” group are statistically significant (Mann – Whitney test)

Fatty liver dystrophy in both experimental models was assessed in the present study is based on profound metabolic disorder with hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia (Fig. 2). Total cholesterol blood concentration in “Steatohepatitis” group increased considerably in comparison with control from the very beginning of the experiment ($p < 0.001$) with a parallel even more substantial rise of TAG blood levels ($p < 0.001$); TAG/TC ratio increasing from 0.53 on day 21 up to 9.79 on day 37 (TAG/TC ratio in control group was 0.52).

The rats in “Liver steatosis” group also demonstrated an increase of TC and TAG blood levels (Fig. 2). However, the increase was slower and not as high as in “Steatohepatitis” group (TC: $p = 0.003$; TAG: $p = 0.002$). TAG/TC ratio in this group changed from 0.46 on day 21 to 0.67 on day 37 of the experiment.

It is assumed that the pathogenesis of NAFLD is based on a pronounced imbalance of lipid metabolism with the formation of hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia [24, 25]. In our studies, on day 37 of observation, the TG level in the “Steatohepatitis” group became 300 % higher than in the “Control” group. This is slightly higher than in the experiment of Z. Ackerman [11]: on day 35 of observations, the indicator increased by 223 %. The level of TC by the end of the experiment increased by 167 %, while in studies by the same author this figure increased by 89 % [11].

Serious metabolic disorders accompanying the development of NAFLD in experimental animals were reflected by biochemical blood plasma changes causing lipid peroxidation and considerable antioxidant system depression. These disorders were represented by a progressive increase of MDA blood concentration in both NAS and NASH models with a parallel decrease of basic antioxidant system enzymes activity (catalase, SOD) (Table 2).

MDA blood concentration in “Steatohepatitis” group grew quickly and reliably ($p < 0.001$) from the very beginning of the experiment reflecting increased lipid peroxidation (Table 1). The intensity of LP in the rats from “Liver steatosis” group was way lower than in the animals with NASH: MDA blood concentrations in rats with NAS grew slowly ($p = 0.010$) but by the end of the study (day 37) MDA mean value was statistically higher by 9.8 mmol/l than in the control group ($p = 0.001$) although lower by 11 mmol/l than in rats with NASH.

Parallel to lipid peroxidation activation in both experimental groups basic antioxidant system enzymes (SOD and catalase) considerably decreased their concentration. SOD blood concentration in “Steatohepatitis” group demonstrated a precipitous drop ($p < 0.001$) with a synchronous decrease of blood catalase concentration from the very beginning of the experiment ($p = 0.001$).

The same enzymes’ blood concentration in “Liver steatosis” group decreased slower (SOD: at day 28 ($p = 0.002$); catalase: at day 37 ($p = 0.009$) and not as substantial.

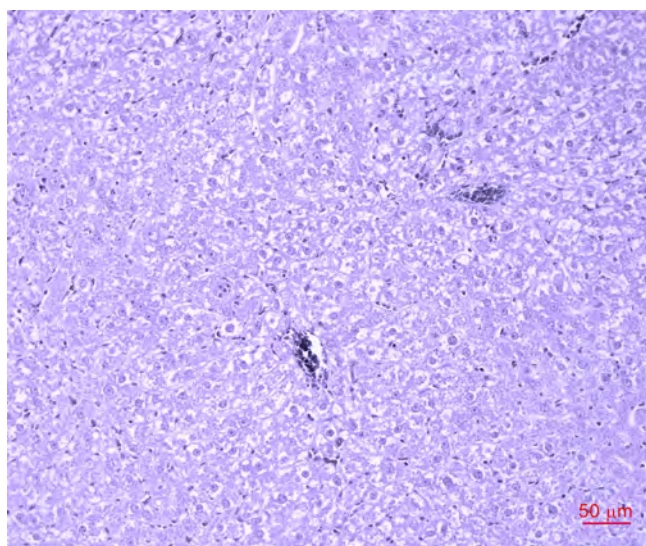
Metabolic disorders in animals that accompany the development of NAFLD in our studies lead to a decrease in the activity of the body’s antioxidant system and activation of LPO [26]. This is reflected in a progressive increase

TABLE 2

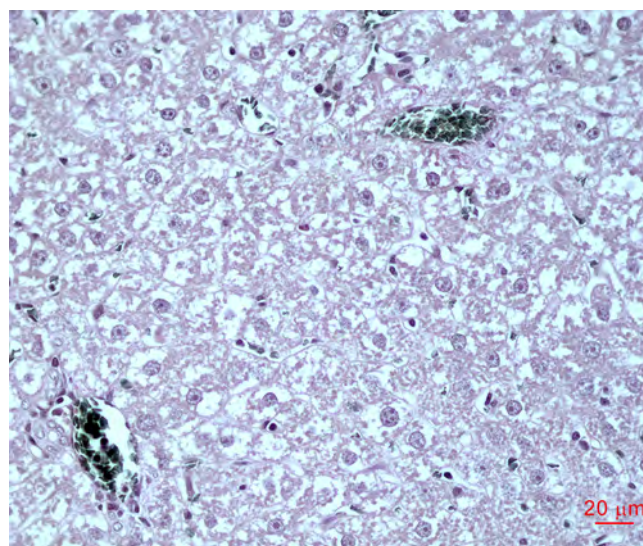
ANTIOXIDANT SYSTEM ENZYMES ACTIVITY AND PEROXIDATION INTENSITY IN RATS WITH TWO NAFLD MODELS, ME [25 %; 75 %]

Groups	Day of the experiment	n	Biochemical parameters		
			SOD, IU/ml	Catalase, mmol/l	MDA, mmol/l
Control	0 ⁽¹⁾	24	6.4 [6.4; 6.6]	0.15 [0.13; 0.17]	9.5 [9.1; 9.7]
	21 ⁽²⁾	16	5.9 [5.0; 7.5]	0.15 [0.14; 0.16]	13.9 [13.1; 14.7]
Liver steatosis	28 ⁽³⁾	16	5.8 [3.9; 7.3]	0.14 [0.13; 0.15]	16.8 [15.6; 17.0]
	37 ⁽⁴⁾	16	4.6 [4.4; 4.8]	0.13 [0.12; 0.14]	18.9 [18.4; 19.4]
Steatohepatitis	21 ⁽⁵⁾	16	5.8 [3.9; 7.3]	0.14 [0.13; 0.15]	15.5 [13.9; 17.1]
	28 ⁽⁶⁾	16	4.6 [3.7; 5.0]	0.1 [0.9; 0.11]	19.8 [16.7; 22.0]
	37 ⁽⁷⁾	16	4.0 [2.9; 4.9]	0.07 [0.06; 0.08]	29.9 [26.3; 33.5]

Note. ²⁻⁷ – measurements within groups on days 21, 28, 37 were made using the Friedman's test ($p < 0.005$); ^{1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7} – measurements within groups on days 21, 28, 37 were made using the Mann – Whitney test. Statistically significant differences ($p < 0.005$) were observed in the groups 1–3, 1–4, 1–5, 1–6, 1–7 by the level of superoxide dismutase; in the groups 1–4, 1–5, 1–6, 1–7 – by the level of catalase; in the groups 1–3, 1–4, 1–5, 1–6, 1–7 – by the level of malondialdehyde.



a



b

FIG. 3.

Histological changes in "Liver steatosis" group: **a** – hematoxylin and eosin staining, magnification 10x; **b** – hematoxylin and eosin staining, magnification 40x

in the level of MDA in the blood of rats in both models of NAFLD and a decrease in the content of the main antioxidant enzymes (catalase, SOD), which is comparable with the results of studies by other authors. [27]. Lujan P.V. et al. also observed a significant decrease in the level of antioxidant enzymes SOD and catalase against the background of NAFLD [28].

In the experimental "Liver steatosis" group, large droplet fatty degeneration is observed, which is characterized by the presence of large lipid droplets in the cytoplasm of hepatocytes with a displacement of the nucleus to the cell periphery (Fig. 3).

Signs of liver tissue degeneration are most pronounced in the "Steatohepatitis" group (Fig. 4). Signs of balloon dys-

trophy, apoptosis of hepatocytes are noticeable in comparison with the control (Fig. 5) and the "Liver steatosis" group. Small droplet fatty degeneration was revealed: there are a lot of small lipid droplets in hepatocytes, the nucleus is located in the center of the cell. Hepatocytes are also found in a state of balloon dystrophy. Focal centrilobular necrosis often develops with small droplet steatosis. Hyaline bodies of Mallory are detected with different frequency. The inflammatory infiltrate inside the lobules contains neutrophils, lymphocytes, and histiocytes.

The used models of steatosis and steatohepatitis were characterized by the development of fatty liver in experimental animals, bilirubinemia, cholesterolemia, activation lipid peroxidation and suppression of antioxidant mech-

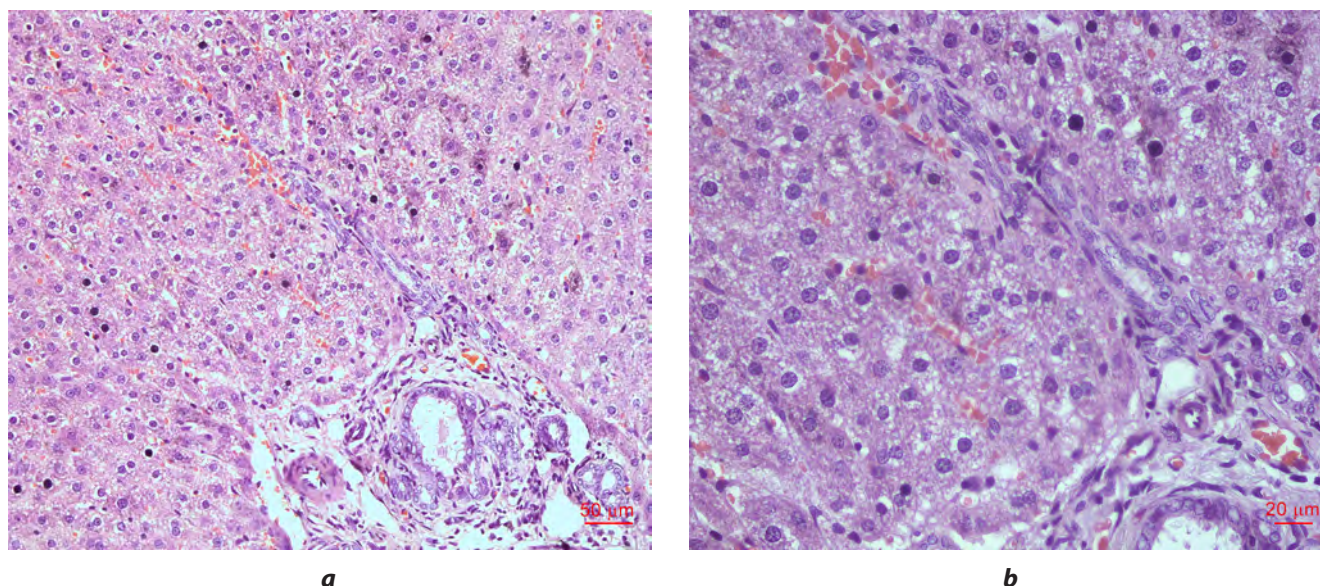


FIG. 4. Histological changes in "Steatohepatitis" group: **a** – hematoxylin and eosin staining, magnification 10x; **b** – hematoxylin and eosin staining, magnification 40x

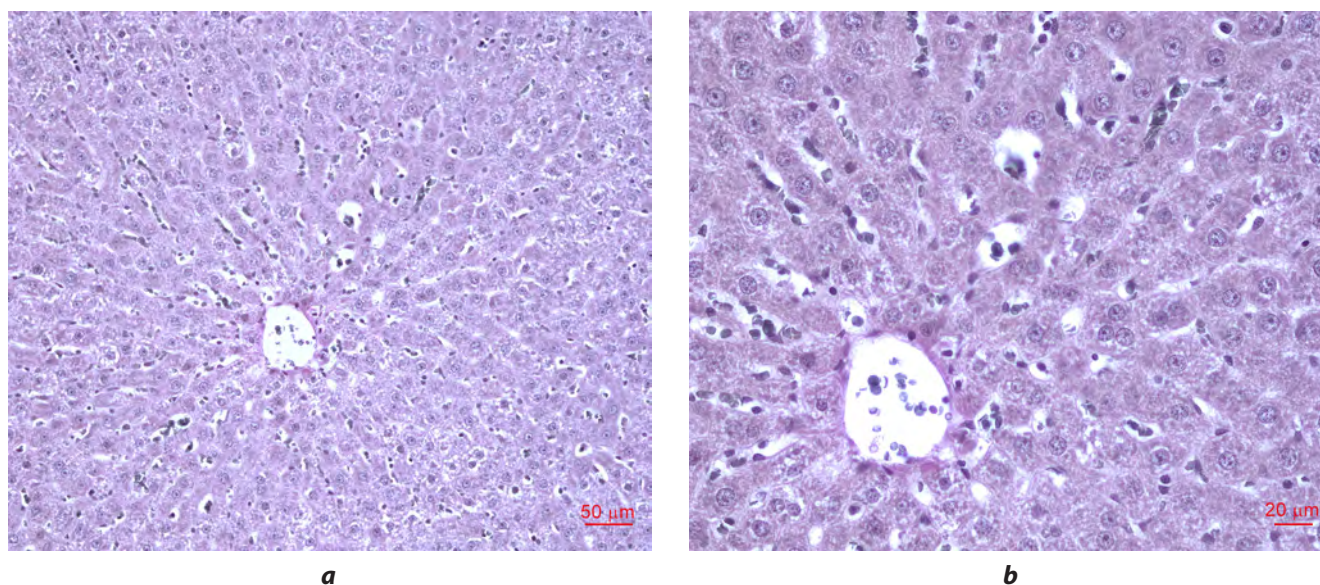


FIG. 5. Histological changes in the Control group: **a** – hematoxylin and eosin staining, magnification 10x; **b** – hematoxylin and eosin staining, magnification 40x

anisms, cytolytic and cholestatic syndromes. The severity of metabolic disorders depended on the severity of the disease being modeled.

The results of the study prove the possibility of using biochemical markers of NAFLD (ALT, AST, TC, TAG, MDA, SOD) for more accurate diagnosis of the severity and stage of development of liver pathology, as well as for monitoring the effectiveness of therapy.

CONCLUSIONS

1. Both NAFLD models studied caused disorders of the hepatobiliary, endocrine and cardiovascular systems.

The intensity of these disorders depended on the severity of the model used and was maximum when modeling steatohepatitis (60 % fructose in the diet) and less pronounced when modeling steatosis (10 % fructose solution instead of drinking water).

2. High mortality rates in both models of NAFLD confirm the adequate severity of both models of NAFLD, as well as a direct correlation of dysmetabolic changes and disorders of compensatory mechanisms.

3. In the model of steatohepatitis, liver functions were impaired to a much greater extent than in steatosis; this difference was manifested in more pronounced symptoms of disorders of pigment and lipid metabolism, the severity of cytolytic and cholestatic syndromes, significant acti-

vation of lipid peroxidation and depression of the antioxidant system.

Funding

This research received no external funding.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Gomez MR, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol.* 2020; 73: 202-209. doi: 10.1016/j.jhep.2020.03.039
2. Mitra S, De A, Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5: 16. doi: 10.21037/tgh.2019.09.08
3. Brus TV, Vasil'ev AG, Trashkov AP. Main biochemical markers in non-alcoholic fatty liver disease (experimental study). *Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2022; 66(1): 44-51. (In Russ.). doi: 10.25557/0031-2991.2022.01.44-51
4. Brus TV, Evgrafov VA. Pathophysiology of liver failure. *Pediatrician.* 2022; 13(3): 55-64. (In Russ.).
5. Vasil'eva AG, Vlasova TD, Galagudzy MM. *Textbook for medical students.* St. Petersburg; 2023. (In Russ.).
6. Chen F, Esmaili S, Rogers GB, Bugianesi E, Petta S, Marchesini G, et al. NAFLD: A distinct entity shaped by differential metabolic adaptation. *Hepatology.* 2020; 71(4): 1213-1227. doi: 10.1002/hep.30908
7. Shi YN, Liu YJ, Xie Z, Zhang WJ. Fructose and metabolic diseases: Too much to be good. *Chin Med J.* 2021; 134(11): 1276-1285. doi: 10.1097/CM9.0000000000001545
8. Schmidt NH, Svendsen P, Albarrán-Juárez J, Moestrup SK, Bentzon JB. High-fructose feeding does not induce steatosis or non-alcoholic fatty liver disease in pigs. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 2807. doi: 10.1038/s41598-021-82208-1
9. Chang Y, Cho YK, Kim Y, Sung E, Ahn J, Jung HS, et al. Non-heavy drinking and worsening of noninvasive fibrosis markers in nonalcoholic fatty liver disease: A cohort study. *Hepatology.* 2019; 69(1): 64-75. doi: 10.1002/hep.30170
10. Brus TV. *Modeling of non-alcoholic fatty liver disease of varying severity in laboratory rats and the possibility of its correction:* Dissertation of Cand. Sc. (Med.). 2018. (In Russ.).
11. Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O, Link G, et al. Fructose-induced fatty liver disease hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension.* 2005; 45: 1012-1018. doi: 10.1161/01.HYP.0000164570.20420.67
12. Asakawa T, Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test, for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids.* 1980; 15: 137-140.
13. Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG. Method for determining catalase activity. *Laboratornoe delo.* 1988; 1: 16-19. (In Russ.).

14. Makarevich OP, Golikov PP. Activity of superoxide dismutase in the blood during the acute period of various diseases. *Laboratornoe delo.* 1983; 6: 24-27. (In Russ.).
15. Brus TV, Pyurveev SS, Vasil'eva AV, Zabezinskiy MM, Kravtsova AA, Pakhomova MA, et al. Morphological changes in the liver in fatty degeneration of various etiologies. *Russian Biomedical Research.* 2021; 6(3): 21-26. (In Russ.).
16. Hernández-Díazcorder A, Romero-Nava R, Carbó R, Sánchez-Lozada LG, Sánchez-Muñoz F. High fructose intake and adipogenesis. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(11): 2787. doi: 10.3390/ijms20112787
17. Mai BH, Yan L-J. The negative and detrimental effects of high fructose on the liver, with special reference to metabolic disorders. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2019; 12: 821-826. doi: 10.2147/DMSO.S198968
18. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease – a global public health perspective. *J Hepatol.* 2019; 70(3): 531-544. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.033
19. Guo X, Yin X, Liu Z, Wang J. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) pathogenesis and natural products for prevention and treatment. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(24): 15489. doi: 10.3390/ijms232415489
20. Steenson S, Shojaee-Moradie F, Whyte MB, Jackson KG, Lovegrove JA, Fielding BA, et al. The effect of fructose feeding on intestinal triacylglycerol production and de novo fatty acid synthesis in humans. *Nutrients.* 2020; 12(6): 1781. doi: 10.3390/nu12061781
21. Perrar I, Buyken AE, Penczynski KJ, Remer T, Kuhnle GG, Herder C, et al. Relevance of fructose intake in adolescence for fatty liver indices in young adulthood. *Eur J Nutr.* 2021; 60(6): 3029-3041. doi: 10.1007/s00394-020-02463-2
22. Azevedo VZ, Dall'Alba V. Fructose intake is not associated to the risk of hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Clin Nutr.* 2021; 40(6): 4275-4283. doi: 10.1016/j.clnu.2021.01.022
23. Roeb E, Weiskirchen R. Fructose and non-alcoholic steatohepatitis. *Front Pharmacol.* 2021; 12: 634344. doi: 10.3389/fphar.2021.634344
24. Federico A, Rosato V, Masarone M, Torre P, Dallio M, Romeo M, et al. The role of fructose in non-alcoholic steatohepatitis: Old relationship and new insights. *Nutrients.* 2021; 13(4): 1314. doi: 10.3390/nu13041314
25. Simons N, Veeraiah P, Simons PIHG, Schaper NC, Kooi ME, Schrauwen-Hinderling VB, et al. Effects of fructose restriction on liver steatosis (FRUITLESS); a double-blind randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2021; 113(2): 391-400. doi: 10.1093/ajcn/nqaa332
26. Ribeiro A, Igual-Perez M-J, Silva ES, Sokal EM. Childhood fructose consumption and fructose liver disease. *Hepatol Comm.* 2019; 3(1): 44-51. doi: 10.1002/hep4.1291
27. DiStefano JK, Shaibi GQ. The relationship between excessive dietary fructose consumption and pediatric fatty liver disease. *Pediatr Obes.* 2021; 16(6): e12759. doi: 10.1111/ijpo.12759
28. Lujan PV, Esmel EV, Meseguer ES. Overview of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the role of sugary food consumption and other dietary components in its development. *Nutrients.* 2021; 13(5): 1442. doi: 10.3390/nu13051442587

Information about the authors

Tatiana V. Brus – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Pathological Physiology with the Course of Immunopathology. St. Petersburg State Pediatric Medical University, e-mail: bant.90@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7468-8563>

Andrei G. Vasiliev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathological Physiology with the course of Immunopathology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, e-mail: avas7@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8539-7128>

Сведения об авторах

Брус Татьяна Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии с курсом иммунопатологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, e-mail: bant.90@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7468-8563>

Васильев Андрей Глебович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии с курсом иммунопатологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, e-mail: avas7@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8539-7128>

Authors' contributions

Tatiana V. Brus – conceptualization; validation; investigation; resources; data curation; writing – original draft preparation; funding acquisition

Andrei G. Vasiliev – conceptualization; methodology; software; validation; formal analysis; investigation; writing – review and editing; visualization; supervision; project administration; funding acquisition

ВЛИЯНИЕ АЛЮМИНИЙ-, КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩЕГО ЭНТЕРОСОРБЕНТА НА КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ТИМУСА МЫШЕЙ, СОДЕРЖАВШИХСЯ ПРИ ДВУХНЕДЕЛЬНОМ КРУГЛОСУТОЧНОМ ОСВЕЩЕНИИ

Мирошниченко С.М.^{1,2},
Мичурина С.В.¹,
Ищенко И.Ю.¹,
Рачковская Л.Н.¹,
Серых А.Е.^{1,3},
Рачковский Э.Э.¹,
Летягин А.Ю.¹

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)

² Научно-исследовательский институт биохимии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)

³ Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Мирошниченко
Светлана Михайловна,
e-mail: svmiro@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Непрерывное освещение способствует развитию десинхронизации, что является стрессом для организма. Как следствие нарушается нормальная работа иммунной системы, что в свою очередь способно сдвигать физиологическое равновесие в сторону патологии и эндотоксикоза. Актуальна разработка инновационных лекарственных средств, в основе которых находится сорбентная матрица, которая может быть модифицирована биологически активными молекулами, пролонгированно покидающими поверхность сорбента. При этом сорбент сохраняет свойства детоксиканта, фиксируя на поверхности токсические агенты и выводя их из организма, что способствует восстановлению внутренней среды и нормализует общую реактивность организма в экстремальных условиях.

Цель исследования. Изучить влияние алюминий-, кремнийсодержащего энтеросорбента (на основе оксида алюминия и полидиметилсилоксана) на клеточный состав тимуса и распределение тимоцитов в органе по фазам клеточного цикла у мышей C57Bl/6, содержавшихся при круглосуточном освещении.

Материалы и методы. Животные получали сорбент (0,665 г на 1 кг веса тела в 200 мкл дистиллированной воды) через внутрижелудочный зонд 1 раз в день в течение 14 суток на фоне непрерывного освещения. Контролем служили интактные мыши и животные плацебо. Используя метод проточной цитометрии, оценивали процентное содержание $CD3^{hi}$ - и $CD3^{low}$ -лимфоцитов тимуса, соотношение $CD3^{low}/CD3^{hi}$, жизнеспособность и распределение клеток по фазам клеточного цикла.

Результаты. Круглосуточное освещение угнетало процессы дифференцировки и созревания молодых лимфоцитов $CD3^{low}$ в зрелые формы $CD3^{hi}$, снижало пролиферацию эпителиальных клеток тимуса, активировало апоптоз лимфоцитов и эпителиальных клеток в органе. Введение сорбента восстанавливало содержание и жизнеспособность молодых $CD3^{low}$ -лимфоцитов и способствовало сохранению жизнеспособности и пролиферации эпителиальных клеток тимуса.

Заключение. Применение энтеросорбента на основе оксида алюминия и полидиметилсилоксана в условиях непрерывного освещения способствует сохранению функциональной активности тимуса, препятствуя его инволюции, и целесообразно на фоне нарушения суточных ритмов режима освещения.

Ключевые слова: непрерывное двухнедельное освещение, алюминий-, кремнийсодержащий сорбент, $CD3^{hi}$ -лимфоциты, $CD3^{low}$ -лимфоциты, эпителиальные клетки тимуса, клеточный цикл, апоптоз, стресс

Для цитирования: Мирошниченко С.М., Мичурина С.В., Ищенко И.Ю., Рачковская Л.Н., Серых А.Е., Рачковский Э.Э., Летягин А.Ю. Влияние алюминий-, кремнийсодержащего энтеросорбента на клеточный состав тимуса мышей, содержавшихся при двухнедельном круглосуточном освещении. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 239-248. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.24

Статья поступила: 05.07.2023

Статья принята: 24.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

THE EFFECT OF ALUMINUM- AND SILICON-CONTAINING ENTEROSORBENT ON THE THYMIC CELLULAR COMPOSITION IN MICE KEPT UNDER TWO-WEEK ALL-NIGHT LIGHTING

Miroshnichenko S.M.^{1,2},
Michurina S.V.¹,
Ishchenko I.Yu.¹,
Rachkovskaya L.N.¹,
Serykh A.E.^{1,3},
Rachkovsky E.E.¹,
Letyagin A.Yu.¹

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (Timakova str. 2, Novosibirsk 630060, Russian Federation)

² Institute of Biochemistry, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (Timakova str. 2, Novosibirsk 630117, Russian Federation)

³ Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (Timakova str. 2, Novosibirsk 630060, Russian Federation)

Corresponding author:
Svetlana M. Miroshnichenko,
e-mail: svmiro@yandex.ru

ABSTRACT

Background. Continuous lighting contributes to the development of desynchronization, which is stressful for the body. As a result, the normal functioning of the immune system is disrupted, which in turn can shift the physiological balance towards pathology and endotoxemia. It is relevant to develop innovative drugs based on a sorbent matrix, which can be modified with biologically active molecules that extendedly leave the sorbent surface. At the same time, the sorbent retains the properties of a detoxifier, fixing toxic agents on the surface and removing them from the body, which helps restore the internal environment and normalizes the overall reactivity of the body in extreme conditions.

The aim. To study the effect of aluminum- and silicon-containing enterosorbent (based on aluminum oxide and polydimethylsiloxane) on the cellular composition of the thymus and the distribution of thymocytes in the organ according to the cell cycling state in C57Bl/6 mice kept under the all-night lighting.

Materials and methods. Animals received sorbent (0.665 g per 1 kg of body weight in 200 µl of distilled water) through an intragastric tube once a day for 14 days against the background of continuous lighting. Intact mice and placebo animals composed control group. We used flow cytometry to assess the percentage of CD3^{hi} and CD3^{low} lymphocytes of the thymus, the CD3^{low}/CD3^{hi} ratio, viability and distribution of cells across according to the cell cycling state.

Results. Continuous lighting inhibited the differentiation and maturation of young CD3^{low} lymphocytes into mature forms of CD3^{hi}, reduced the proliferation of thymic epithelial cells, and activated apoptosis of lymphocytes and epithelial cells in the organ. The introduction of the sorbent restored the content and viability of young CD3^{low} lymphocytes and contributed to the preservation of the viability and proliferation of thymic epithelial cells.

Conclusion. Using an enterosorbent based on aluminum oxide and polydimethylsiloxane under conditions of continuous lighting helps maintain the functional activity of the thymus, preventing its involution, and is advisable against the background of circadian disruption.

Key words: continuous two-week lighting, aluminum- and silicon-containing sorbent, CD3^{hi} lymphocytes, CD3^{low} lymphocytes, thymic epithelial cells, cell cycle, apoptosis, stress

Received: 05.07.2023

Accepted: 24.05.2024

Published: 15.07.2024

For citation: Miroshnichenko S.M., Michurina S.V., Ishchenko I.Yu., Rachkovskaya L.N., Serykh A.E., Rachkovsky E.E., Letyagin A.Yu. The effect of aluminum- and silicon-containing enterosorbent on the thymic cellular composition in mice kept under two-week all-night lighting. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 239-248. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.24

ВВЕДЕНИЕ

Циркадная десинхрония получает всё большее распространение в связи с изменившимися условиями в современном обществе, работающем круглосуточно, включая воздействие искусственного освещения, сменную работу и смену часовых поясов. Подавление синтеза мелатонина в результате длительного пребывания в условиях непрерывного освещения приводит к развитию светоиндуцированного функционального десинхроноза, что является стрессом для организма [1]. Несбалансированный ответ на сильное или длительное стрессовое воздействие способен сдвинуть физиологическое равновесие в сторону патологии и развития эндотоксикоза. Показано, что снижение или же блокада синтеза мелатонина сопровождают развитие многочисленных распространённых патологий – от старения и сахарного диабета 2-го типа до неврологических расстройств [2, 3]. Нейрогуморальным механизмам принадлежит основная роль в поддержании функциональной и биохимической устойчивости организма в изменяющихся условиях окружающей среды, а основой адаптационного ответа на стресс считают активность гипоталамо-надпочечниковой оси. Длительное и/или сильное воздействие активирует секрецию кортизола и кортикостерона надпочечниками, которые оказывают своё метаболическое влияние на клетки и органы, вызывая в том числе и снижение функциональной активности тимуса [4]. Основой инволюции вилочковой железы считают избыточный апоптоз и ингибирование пролиферации субпопуляции кортизол-чувствительных лимфоцитов [5].

Тимус является центральным органом лимфо-/иммунопоза, в котором пролиферация и селективный отбор антиген-специфичных и толерантных к антигенам хозяина лимфоцитов обеспечивает миграцию зрелых и наивных Т-клеток в кровяное русло и периферические лимфоидные органы, где Т-клетки обеспечивают как клеточный, так и гуморальный иммунный ответ, активируя В-лимфоциты. Инволюция тимуса может способствовать риску и рецидивам рака, росту восприимчивости к инфекциям [6], а потеря иммунокомпетентности может привести к развитию широкого спектра иммунных и тяжёлых инфекционных заболеваний, развитию ожирения и диабета [5, 7]. Старение и жировая дистрофия тимуса становятся фактором поддержания воспаления и развития болезней «старения» – артрита, сердечно-сосудистых заболеваний [8].

В связи с вышесказанным существует клиническая потребность в нетоксичных и доступных средствах, способных снизить воздействие стресса на организм. Научные исследования академика Ю.И. Бородина и его учеников показали, что методы сорбентного лечения напрямую связаны с возможностью преодоления синдрома эндотоксикоза. Введённый энтерально сорбент способен влиять на физиологические константы организма, не связанные даже напрямую с процессом энтеросорбции. При этом сорбент выступает как пусковой механизм каскада реакций от местного до организменного уровня. Наблюдается функциональная аналогия в действии

сорбирующего агента и регионарного лимфатического аппарата. В обоих случаях имеют место дренаж и детоксикация патологического очага [9, 10].

В настоящее время интерес исследователей направлен на разработку инновационных лекарственных средств, в основе которых находится сорбентная матрица, модифицированная биологически активными молекулами, пролонгированно покидающими поверхность сорбента. Сам сорбент (как энтеросорбент) сохраняет свойства детоксиканта, фиксируя на своей поверхности широкий класс веществ – от низкомолекулярных до высокомолекулярных, находящихся в избытке при различных заболеваниях и отравлениях (например, бактериальные токсины, билирубин, катехоламины, кинин, желчные кислоты), и выводя их из организма. С этой точки зрения перспективным является гидрофильно-гидрофобный алюминий-, кремнийсодержащий сорбент (энтеросорбент) на основе оксида алюминия и полидиметилсилоксана – $Al_2O_3@ПДМС$ с объёмом пор $0,2 \text{ см}^3/\text{г}$, способный связывать молекулы разного заряда и разного размера – от низко- до высокомолекулярных. Адсорбционная активность, например по отношению к низкомолекулярному метиленовому голубому, составляет 10 мг/г ; и он поглощает золотистого стафилококка из водной среды на 25 % от исходного их содержания. Этот сорбент, использованный в качестве носителя для лития, прошёл успешно доклинические исследования в составе лекарственного средства в рамках государственного задания. Сам энтеросорбент безопасен, относится к IV классу опасности. Этот легко сыпучий порошок белого цвета с размером частиц $0,04 \text{ мм}$ и величиной удельной поверхности $100 \text{ м}^2/\text{г}$ может быть использован в качестве составной части лекарственных средств. Представляет интерес исследование его биологических свойств по отношению к легко уязвимым клеткам тимуса в условиях нарушения естественных биоритмов смены дня и ночи.

Целью данной работы явилось изучение влияния алюминий-, кремнийсодержащего энтеросорбента $Al_2O_3@ПДМС$ на клеточный состав тимуса и распределение тимоцитов в органе по фазам клеточного цикла у мышей C57Bl/6, содержащихся при круглосуточном освещении.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на базе ЦКП «SPF-виварий» ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (ИЦИГ СО РАН) (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI62114X0010) и выполняли в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза о защите животных, используемых в научных целях, и правилами надлежащей лабораторной практики. Экспериментальный протокол одобрен этическим комитетом Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии (НИИКЭЛ) – филиала ИЦИГ СО РАН (протокол № 128 от 15.03.2017). Самцы мышей линии C57Bl/6 в возрасте 10–12 недель находились

в контролируемых барьерных помещениях с предоставлением свободного доступа к воде и пище.

Часть мышей содержались в условиях круглосуточного освещения (КО; $n = 6$), создаваемого лампами дневного света Philips 18 Вт (Philips, Нидерланды; фотопериод свет : темнота 24 : 0 ч) в течение 14 суток. Второй группе животных (КО + Сорбент; $n = 6$) ежедневно в течение 14 суток на фоне КО внутрижелудочно вводили сорбентную композицию из оксида алюминия и полиметилсилоксана (0,665 г на 1 кг веса тела в 200 мкл дистиллированной воды). В качестве группы плацебо были выбраны животные, ежедневно получавшие внутрижелудочно по 200 мкл дистиллированной воды на фоне постоянного освещения.

Третью группу составили интактные мыши (Контроль; $n = 6$), содержавшиеся при стандартном режиме освещения и питания (фотопериод свет : темнота 14 : 10 ч).

Из эксперимента животных выводили методом краниоцервикальной дислокации, забирали тимус и готовили суспензию клеток, которую исследовали на проточном цитофлуориметре CytoFlex S100 (Beckman Coulter, США).

Тимус гомогенизировали в холодном фосфатно-солевом буфере (PBS, phosphate-buffered saline) в стеклянном гомогенизаторе при 4 °C. Тимоциты осаждали центрифугированием (300 g, 5 мин) и использовали для окрашивания моноклональными антителами CD3e-APC (BioLegend, США) с целью определения молодых $CD3^{low}$ - и зрелых $CD3^{hi}$ -лимфоцитов. Для анализа распределения клеток по фазам клеточного цикла клетки тимуса (5×10^6) фиксировали в холодном 70%-м этаноле в течение 24 ч [11].

Пробы клеток (2×10^6) в 100 мкл окрашивали флуоресцентно мечеными антителами в течение 30 мин при комнатной температуре в темноте. Затем их дважды отмывали PBS и анализировали на проточном цитофлуориметре. Фиксированные 70%-м этанолом клетки центрифугировали (300 g, 7 мин), отмывали PBS и в течение 5 мин инкубировали в гипотоническом буфере экстракции для удаления низкомолекулярной ДНК с целью определения пика субдиплоидов. Отмытые буфером клетки инкубировали (30 мин, комнатная температура, темнота) в буфере окраски, содержащем 50 µg/mL йодида пропидия (PI, propidium iodide; Sigma-Aldrich, США) и 200 µg/mL РНКазы-А (Invitrogen, США). Флуоресценцию PI определяли на проточном цитофлуориметре ($\lambda_{Em} = 670$ нм). Оценивали количество клеток с различным содержанием ДНК в фазах клеточного цикла: SubG1, G0/G1, S, G2/M.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Определяли значения медианы, первого и третьего квартилей. Статистическую значимость различий сравниваемых величин между группами КО + Сорбент и КО, КО + Сорбент и Контроль вычисляли с помощью непараметрического *U*-критерия Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Влияние приёма сорбентной композиции на численную плотность $CD3^{low}$ - и $CD3^{hi}$ -лимфоцитов у животных с круглосуточным освещением

В предыдущей работе [12] было установлено, что постоянное освещение мышей в течение 14 суток привело к статистически значимому уменьшению относительного количества как молодых $CD3^{low}$ ($p = 0,0051$), так и зрелых $CD3^{hi}$ ($p = 0,0374$) Т-лимфоцитов тимуса по сравнению с контролем. При этом статистически значимо снизилось соотношение $CD3^{low}/CD3^{hi}$ ($p = 0,0131$). Развития акцидентальной инволюции тимуса у мышей с КО в нашем исследовании зарегистрировано не было. Внутрижелудочное введение энтеросорбента животным на фоне КО нормализовало относительное количество молодых $CD3^{low}$ -timoцитов, увеличив их содержание до 46,70 (45,88; 47,08) % (у интактных животных – 43,40 (41,85; 44,33) %). В результате значительно возросло соотношение $CD3^{low}/CD3^{hi}$ (по сравнению с контролем $p = 0,0202$; по сравнению с КО $p = 0,0051$) (рис. 1).

Вклад в такие перестройки может вносить как нарушение суточных биоритмов пролиферации и миграции клеток иммунной системы при изменённом световом режиме, так и длительный стресс, приводящий к угнетению пролиферации незрелых лимфоцитов в корковом веществе тимуса и к их повышенному апоптозу.

Для определения влияния сорбента на выживаемость и пролиферацию клеток тимуса в условиях 14-дневного круглосуточного освещения мы провели анализ клеточного цикла для всех клеток вилочковой железы.

2. Влияние введения сорбентной композиции на клеточный цикл клеток тимуса в условиях круглосуточного освещения

Анализ клеточного цикла всей популяции клеток тимуса мышей после КО показал значительное снижение относительного числа клеток в S-фазе до 3,4 (2,3; 6,8) % по сравнению с контролем – 7,3 (7,0; 11,1) % ($p = 0,0367$), более чем трёхкратное увеличение доли клеток в стадии апоптоза до 2,2 (1,8; 3,2) % по сравнению с контролем – 0,7 (0,63; 0,73) % ($p = 0,01997$).

Введение сорбента животным на фоне КО нормализовало клеточный цикл, увеличив процентное содержание клеток в S-фазе до 7,45 (6,5; 12,75) % и снизив количество клеток в стадии апоптоза до уровня контроля. Таким образом, сорбент поддерживает повышенный адаптационный уровень пролиферации клеток тимуса и предохраняет клетки от апоптоза в условиях длительного круглосуточного освещения.

Для более полного анализа пролиферации и жизнеспособности клеточных элементов тимуса на гистограммах проточной цитометрии все клетки были разделены на 3 группы (3 гейта – PLym, P2Lym, P3big) в зависимости от размера и скорректированы на клеточный цикл (рис. 2). Таким образом, гейт PLym был сформирован самыми мелкими клетками, часть из которых нахо-

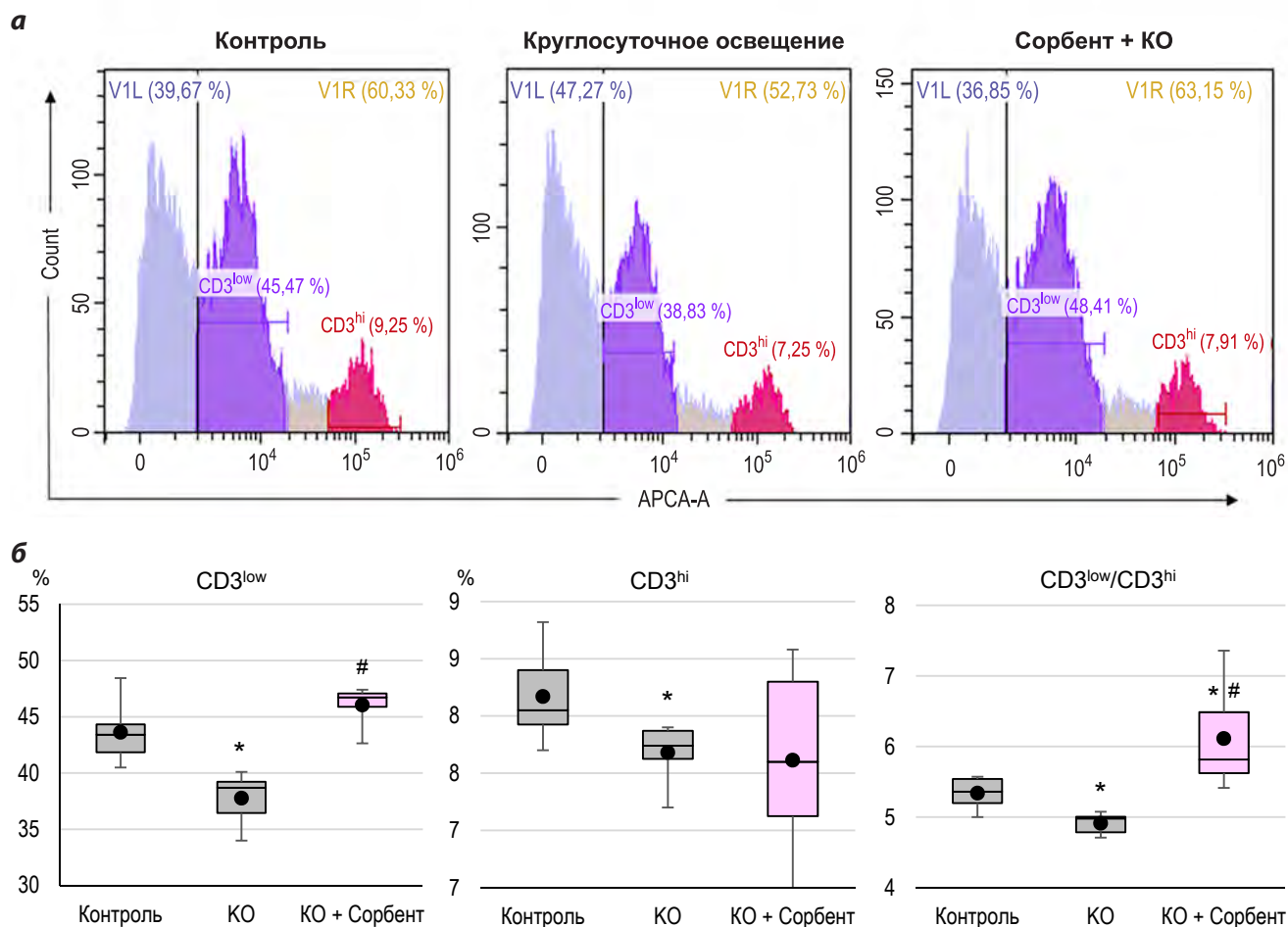


РИС. 1.

Тимус мышей линии C57Bl/6, получавших сорбент, на фоне двухнедельного круглосуточного освещения (КО): **а** – гистограммы распределения CD3^{low}- и CD3^{hi}-лимфоцитов; **б** – относительное количество CD3^{low}- и CD3^{hi}-лимфоцитов и соотношение CD3^{low}/CD3^{hi}; * – по сравнению с контролем; # – по сравнению с КО ($p < 0,05$)

FIG. 1.

Thymus of C57Bl/6 mice treated with sorbent against the background of continuous lighting (KO): **а** – histograms of distribution of CD3^{low} and CD3^{hi} lymphocytes; **б** – relative number of CD3^{low} and CD3^{hi} lymphocytes and CD3^{low}/CD3^{hi} ratio; * – compared to the control; # – compared to KO ($p < 0.05$)

дятся в фазах активного клеточного цикла (S + G2/M). Юные CD3^{low}-лимфоциты содержались преимущественно в этом гейте. В гейте P2Lym оказались зрелые неделящиеся лимфоциты, находящиеся в стадии G0/G1. Самые крупные клетки, большая часть которых активно делилась, составили гейт P3big. На рисунке 2 представлен клеточный цикл каждого из гейтов.

Гейт самых мелких клеток P1Lym, содержащий CD3^{low}-лимфоциты, имел наименьшее количество клеток по сравнению с другими группами; число клеток в фазе S составило 6,8 (6,28; 7,1) %, клеток на стадии апоптоза – 2,2 (1,5; 2,75) % у контрольных животных. Круглосуточное освещение ингибировало фазу S, в результате чего относительное число клеточных элементов снизилось до 6,05 (5,55; 6,10) %, а количество клеток гейта P1Lym в состоянии апоптоза статистически значимо возросло до 11,65 (9,05; 13,28) % ($p = 0,0051$). Введение сорбента на фоне КО способствовало восстановлению пролиферации лимфоцитов тимуса и повышению их жизнеспособности, в результате чего возросло относительное содержа-

ние клеточных элементов в фазе S до 8,85 (7,75; 11,75) % и снизилось процентное содержание клеток в стадии апоптоза до 4,5 (3,4; 4,85) % ($p = 0,0065$).

Из рисунка 2 можно увидеть, что длительное непрерывное освещение ингибировало относительное количество Т-лимфоцитов (гейт P1Lym) в фазе S, но не повлияло на содержание в фазе G2/M, т. е. по сути произошло торможение пролиферации (остаточная пролиферация). Сорбент же на фоне КО вызвал существенный рост числа клеток в обеих фазах S и G2/M (фаза G2/M в контроле – 0,85 (0,73; 1,05) %, в группе КО – 1,05 (0,63; 1,25) %, в группе КО + Сорбент – 1,7 (1,23; 2,63) %. Такие изменения, возможно, связаны с адаптационным ответом на стрессорное воздействие. Широкий разброс данных в присутствии сорбента косвенно свидетельствует о том, что его действие в данном случае не прямое и не направлено на конкретную мишень, однако помогает организму остаться на стадии адаптации и не сползая на стадию истощения, сорбируя и удаляя избыточное количество высокоактивных веществ.

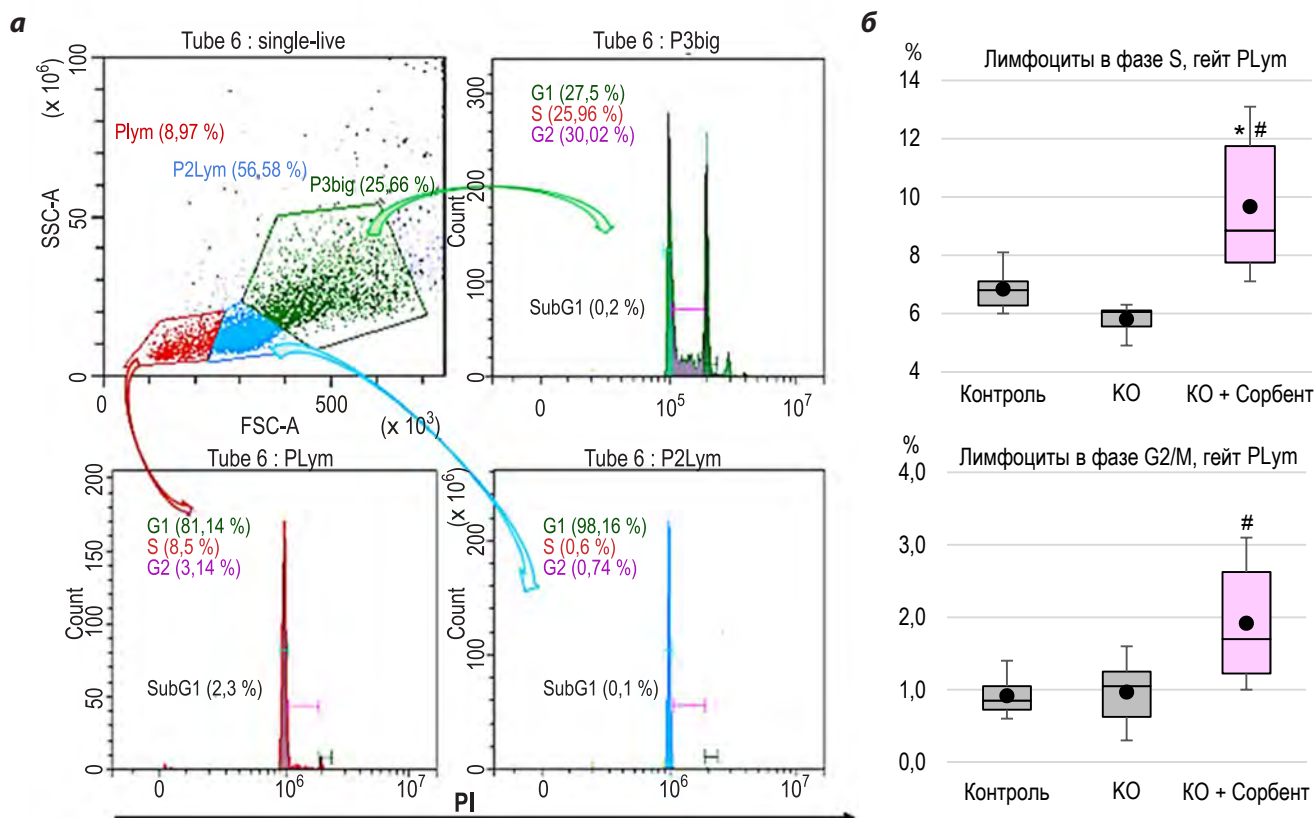


РИС. 2.

а – гистограммы проточной цитометрии клеточного цикла клеток тимуса мышей линии C57Bl/6: гейтирование клеток тимуса по размеру на гистограмме в координатах SSC/FSC; гистограммы клеточного цикла представлены для каждого выделенного региона клеток тимуса (показаны стрелками); по оси ординат – количество клеток; по оси абсцисс – интенсивность флуоресценции пропидия иодида. **б** – гистограммы процентного содержания лимфоцитов гейта PLym в стадиях клеточного цикла S и G2/M; * – по сравнению с контролем; # – по сравнению с KO ($p < 0,05$)

FIG. 2.

а – flow cytometry histograms of the thymus cell cycle of C57Bl/6 mice: gating the thymus cells by size on the histogram in SSC/FSC coordinates; cell cycle histograms are presented for each selected region of thymus cells (shown by arrows); ordinate axis – the number of cells; abscissa axis – the fluorescence intensity of propidium iodide. **б** – histograms of the percentage of PLym gate lymphocytes in the S and G2/M cell cycle stages; * – compared to the control, # – compared to continuous lighting (KO) group ($p < 0.05$)

3. Влияние сорбентной композиции на жизнеспособность и пролиферацию эпителиальных клеток тимуса на фоне непрерывного освещения

Пролиферация, дифференцировка и развитие иммуноtolерантных к хозяину лимфоцитов с широким набором TSR-антигенов происходит в тесном контакте с эпителиальными клетками тимуса. При этом в медуллярных нишах происходит отрицательная селекция Т-лимфоцитов за счёт экспрессии на поверхности молекул МНС-I (major histocompatibility complex) и МНС-II, а кортикальные эпителиальные клетки отвечают за положительную селекцию. Поддержание кортикальных и медуллярных эпителиальных ниш тимуса обеспечивается предшественниками эпителиальных клеток с долгосрочным обновлением и высокой скоростью пролиферации и дифференцировки с расчётным временем замены от одной до двух недель с первых недель жизни. Поддержание эпителия мозгового вещества тимуса

у взрослых обеспечивается эпителиальными предшественниками, имеющими более низкие показатели самообновления, но всё ещё сохраняющими высокую скорость пролиферации [13].

В нашем исследовании пролиферативный потенциал клеток гейта P3big оказался значительно более высоким, чем для клеток гейта PLym или P2Lym. Клеточные элементы группы P3big более крупные и могут быть макрофагами, дендритными клетками, эпителиальными клетками, которые составляют строму тимуса и обеспечивают соответствующее микроокружение для развивающихся лимфоцитов. Высокая скорость пролиферации указывает на то, что, вероятнее всего, эти клеточные элементы и есть эпителиальные клетки, являющиеся основными клетками ниш тимуса. Круглосуточное освещение негативно повлияло на строму органа, статистически значимо снизив численную плотность эпителиальных клеток в фазе S до 26,55 (19,40; 27,55)% по сравнению с контролем – 32,50 (31,68; 33,10)% ($p = 0,0202$). Введе-

ние сорбента на фоне КО нормализовало пролиферацию эпителиальных клеток тимуса, восстановив их процентное количество в фазе S до 31,70 (30,95; 32,83) % (рис. 3). Содержание эпителиальных клеток в фазе G2/M статистически значимо не изменилось по сравнению с остальными группами животных. Длительное и непрерывное освещение привело к повышению содержания эпителиальных клеток на стадии апоптоза до 0,9 (0,73; 1,18) % ($p = 0,0051$). Введение сорбента на фоне круглосуточного освещения способствовало снижению апоптоза до уровня контроля (0,23 (0,22; 0,29) %; $p = 0,0051$).

Следовательно, применение сорбента на фоне длительного воздействия непрерывного освещения целесообразно, поскольку сорбент поддерживает самообновление эпителиальных клеток тимуса, сохраняя высокую скорость пролиферации эпителиальных клеток и снижая апоптоз до значений интактных животных (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты настоящего исследования показали связь между длительным нарушением суточных ритмов, нарушением функционирования тимуса и нормализующей ролью сорбента для поддержания пролиферации и сохранения жизнеспособности ранних предшественников Т-лимфоцитов и эпителиальных клеток ниш тимуса. Снижение сопротивляемости организма при любом стресс-воздействии, в частности при КО, связывают с недостаточной функциональной активностью тимуса. Ранее нами было показано, что блокада синтеза мелатонина у мышей при постоянном освещении угнетает процессы дифференцировки и созревания молодых лимфоцитов CD3^{low} в зрелые формы CD3^{hi}, приводит к усилению апоптоза Т-лимфоцитов в тимусе и, как следствие, к лейкопении [12]. В этих условиях происходит активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (ГГН)

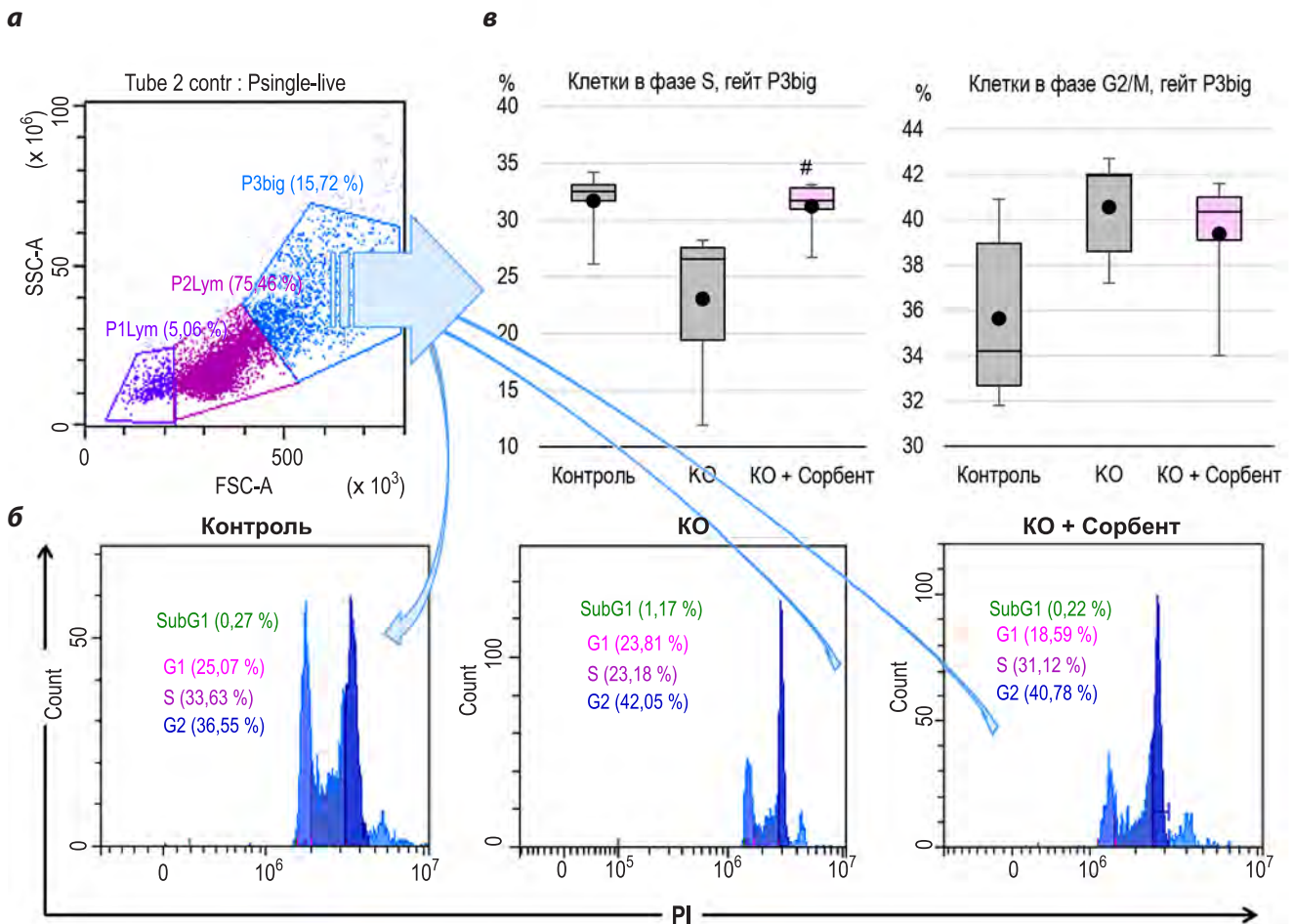


РИС. 3.

Гистограммы проточной цитометрии: **а** – гистограмма распределения клеток тимуса в координатах SSC/FSC, выделен гейт P3big; **б** – гистограммы распределения клеток гейта P3big по фазам клеточного цикла: по оси ординат – количество клеток, по оси абсцисс – пропидий йодид; **в** – графики относительного количества клеток гейта P3big в стадиях клеточного цикла S и G2/M: * – по сравнению с контролем, # – по сравнению с КО ($p < 0,05$)

FIG. 3.

Flow cytometry histograms: **а** – histogram of distribution of thymus cells in FSC/FSC coordinates, P3big gate is highlighted; **б** – histograms of distribution of P3big gate cells by phases of the cell cycle: ordinate axis – the number of cells, abscissa axis – propidium iodide; **в** – graphs of the relative number of P3big gate cells in the S and G2/M cell cycle stages: * – compared to the control, # – compared to continuous lighting (KO) group ($p < 0,05$)

оси как часть ответа на стресс, при котором гормоны гипофиза стимулируют кору надпочечника к высвобождению глюкокортикоидов, включая кортизол. Избыток кортизола вызывает апоптоз кортизол-чувствительных ранних лимфоцитов, что приводит к недостаточности Т-клеточного иммунитета. Это влияние кортизола считают драйвером инволюции тимуса [4, 5, 14]. Однако длительное непрерывное освещение затронуло не только снижение пролиферативной активности и апоптоз молодых CD3^{low}-лимфоцитов, но и снижение пролиферации эпителиальных клеток, являющихся основой как кортикальной, так и медуллярной ниш, важных для поддержания пролиферации и селекции Т-лимфоцитов. Применение сорбционной терапии на фоне круглосуточного освещения повлияло положительно на указанные параметры. Возможным защитным механизмом использования сорбента может быть как сорбция и удаление избытка кортизола, так и более глубокое воздействие, опосредованное состоянием и активностью кишечной микрофлоры. Ранее проведённые работы показали, что применение углерод-минерального сорбента СУМС-1 (на основе оксида алюминия) увеличивает количество ворсинок эпителия кишечника, нормализуя состояние микрофлоры [15]. Было показано, что у микробов существует тесная связь с осью ГГН [16]. Вмешательство в микробиоту кишечника может существенно повлиять на лечение заболеваний, связанных со стрессом. Стресс вызывает изменения в гормонах ГГН оси в сторону повышения кортизола у безмикробных мышей [17]. Кроме того, кишечные микробы регулируют метаболизм триптофана, продуцируют дофамин, γ-аминомасляную кислоту, гистамин и ацетилхолин, влияющие на функцию центральной нервной системы и стабильность оси ГГН [18]. С другой стороны, сам стресс может негативно влиять на микробиом кишечника, угнетая жизнедеятельность микробов, меняя их секреторируемый профиль [19]. По результатам данного исследования можно полагать, что сорбент, созданный на основе оксида алюминия и полиметилсилоксана, сорбируя оксиданты, токсичные метаболиты, оказывая детоксикационный и лимфодренажный эффект, способствует пролиферации и сохранению жизнеспособности ранних предшественников лимфоцитов и эпителиальных клеток тимуса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые исследования показали эффективность применения пористого гидрофильно-гидрофобного сорбента на основе оксида алюминия и полидиметилсилоксана Al₂O₃@ПДМС в условиях длительного воздействия стресса, обусловленного круглосуточным освещением в течение 14 суток. Применение сорбента позволило сохранить функции тимуса, поддерживая жизнеспособность и пролиферацию молодых лимфоцитов и эпителиальных клеток этого органа. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности профилактической сорбционной терапии на фоне нарушения суточных ритмов при смене часовых поясов у лиц, работаю-

щих в ночное время, или у жителей северных регионов со значительными колебаниями освещённости в течение года, помогающей поддерживать собственные защитные силы организма, нормализуя клеточный иммунитет.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование поддержано бюджетным проектом НИИКЭЛ – филиала ИЦиГ СО РАН (FWNR-2022-0009). В работе использовано оборудование Центра генетических ресурсов лабораторных животных (ИЦиГ СО РАН) и оборудования ЦКП ФИЦ ФТМ «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Koronowski KB, Sassone-Corsi P. Communicating clocks shape circadian homeostasis. *Science*. 2021; 37(6530): eabd0951. doi: 10.1126/science.abd0951
2. Arendt J. Melatonin: Countering chaotic time cues. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019; 10: 391. doi: 10.3389/fendo.2019.00391
3. Brown LA, Fisk AS, Potheary CA, Peirson SN. Telling the time with a broken clock: Quantifying circadian disruption in animal models. *Biology (Basel)*. 2019; 8(1): 18. doi: 10.3390/biology8010018
4. Taves MD, Ashwell JD. Glucocorticoids in T cell development, differentiation and function. *Nat Rev Immunol*. 2021; 21(4): 233-243. doi: 10.1038/s41577-020-00464-0
5. Cowan JE, Takahama Y, Bhandoola A, Ohigashi I. Postnatal involution and counter-involution of the thymus. *Front Immunol*. 2020; 11: 897. doi: 10.3389/fimmu.2020.00897
6. Kinsella S, Dudakov JA. When the damage is done: Injury and repair in thymus function. *Front Immunol*. 2020; 11: 1745. doi: 10.3389/fimmu.2020.01745
7. Miller JFAP. The discovery of thymus function and of thymus-derived lymphocytes. *Immunol Rev*. 2002; 185: 7-14. doi: 10.1034/j.1600-065x.2002.18502.x
8. Dai X, Zhang D, Wang C, Wu Z, Liang C. The pivotal role of thymus in atherosclerosis mediated by immune and inflammatory response. *Int J Med Sci*. 2018; 15(13): 1555-1563. doi: 10.7150/ijms.27238
9. Бородин Ю.И., Коненков В.И., Пармон В.Н., Любарский М.С., Рачковская Л.Н., Бгатова Н.П., и др. Биологические свойства сорбентов и перспективы их применения. *Успехи современной биологии*. 2014; 134(3): 236-248. [Borodin Yul, Konenkov VI, Parmon VN, Lyubarsky MS, Rachkovskaya LN, Bgatova NP, et al. Biological properties of sorbents and their application in practice. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2014; 134(3): 236-248. (In Russ.)]
10. Королев М.А., Рачковская Л.Н., Мадонов П.Г., Шурлыгина А.В., Рачковский Э.Э., Летягин А.Ю., и др. Оценка острой токсичности лекарственного средства на основе комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана, оксида алюминия. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40(5): 46-52. [Korolev MA, Rachkovskaya LN, Madonov PG, Shurlygina AV, Rachkovsky EE,

Letyagin AYu, et al. Estimation of acute toxicity of a drug based on the complex of lithium citrate, polymethylsiloxane, aluminum oxide. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40(5): 46-52. (In Russ.)). doi: 10.15372/SSMJ20200505

11. Шурлыгина А.В., Мичурина С.В., Рачковская Л.Н., Серых А.Е., Мирошниченко С.М., Рачковский Э.Э., и др. Влияние комплекса мелатонина, оксида алюминия и полиметилсилоксана на клеточный состав селезенки мышей, содержащихся в условиях круглосуточного освещения. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 252-264. [Shurlygina AV, Michurina SV, Rachkovskaya LN, Serykh AE, Miroshnichenko SM, Rachkovsky EE, et al. The effect of a complex of melatonin, aluminum oxide and polymethylsiloxane on the cellular composition of the mice spleen kept in round-the-clock lighting conditions. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 252-264. (In Russ.)). doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.23

12. Michurina SV, Miroshnichenko SM, Serykh AE, Ishchenko IYu, Letyagin AYu, Zavjalov EL. Light-induced functional pinealectomy. Effect on the thymus of C57BL/6 mice. *Bull Exp Biol Med*. 2022; 174(1): 152-158. doi: 10.1007/s10517-022-05665-2

13. Pinheiro RGR, Alves NL. The early postnatal life: A dynamic period in thymic epithelial cell differentiation. *Front Immunol*. 2021; 12: 668528. doi: 10.3389/fimmu.2021.668528

14. Qiao S, Li X, Zilioli S, Chen Z, Deng H, Pan J, et al. Hair measurements of cortisol, DHEA, and DHEA to cortisol ratio as biomarkers of chronic stress among people living with HIV in China: Known-group validation. *PLoS One*. 2017; 12(1): e0169827. doi: 10.1371/journal.pone.0169827

15. Бгатова Н.П., Рачковская Л.Н. Влияние длительного введения в рацион животных углеродминерального сорбента СУМС-1 на ультраструктурную организацию кишечной ворсинки. *Проблемы саногенного и патогенного эффектов экологических воздействий на внутреннюю среду организма: Материалы 2-го международного симпозиума (Чолпон-Ата, 1995)*. 1995: 14-15. [Bgatova NP, Rachkovskaya LN. The effect of long-term introduction of the carbon-mineral sorbent SUMS-1 into the diet of animals on the ultrastructural organization of the intestinal villi. *Problems of sanogenic and pathogenic effects of ecological impact on the internal environment of the body: Proceedings of the 2nd International Symposium (Cholpon-Ata, 1995)*. 1995: 14-15. (In Russ.)).

16. Huo R, Zeng B, Zeng L, Cheng K, Li B, Luo Y, et al. Microbiota modulate anxiety-like behavior and endocrine abnormalities in hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017; 7: 489. doi: 10.3389/fcimb.2017.00489

17. Moya-Pérez A, Perez-Villalba A, Benítez-Páez A, Campillo I, Sanz Y. Bifidobacterium CECT 7765 modulates early stress-induced immune, neuroendocrine and behavioral alterations in mice. *Brain Behav Immun*. 2017; 65: 43-56. doi: 10.1016/j.bbi.2017.05.01

18. Cohen Kadosh K, Basso M, Knytl P, Johnstone N, Lau JYF, Gibson GR. Psychobiotic interventions for anxiety in young people: A systematic review and meta-analysis, with youth consultation. *Transl Psychiatry*. 2021; 11(1): 352. doi: 10.1038/s41398-021-01422-7

19. Wong ML, Inserra A, Lewis MD, Mastronardi CA, Leong L, Choo J, et al. Inflammasome signaling affects anxiety- and depressive-like behavior and gut microbiome composition. *Mol Psychiatry*. 2016; 21(6): 797-805. doi: 10.1038/mp.2016.46

Сведения об авторах

Мирошниченко Светлана Михайловна – научный сотрудник лаборатории фармацевтических технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов межклеточных взаимодействий, Научно-исследовательский институт биохимии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: svmiro@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6740-8241>

Мичурина Светлана Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая группой экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: michurinasv3000@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3630-4669>

Ищенко Ирина Юрьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник группы экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: irenisch@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6281-0402>

Рачковская Любовь Никифоровна – кандидат химических наук, заведующая лабораторией фармацевтических технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: noolit@niikel.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9622-5391>

Серых Анастасия Евгеньевна – младший научный сотрудник группы экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»; младший научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов свободнорадикальных процессов, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», e-mail: rasiel1996@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5817-6055>

Рачковский Эдмунд Эдмундович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармацевтических технологий, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: reed@academ.org, <https://orcid.org/0000-0003-3756-4873>

Летягин Андрей Юрьевич – профессор, доктор медицинских наук, заместитель руководителя филиала по научной и клинической работе, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9293-4083>

Information about the authors

Svetlana M. Miroshnichenko – Research Officer at the Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Research Officer at the Laboratory of Molecular Mechanisms of Intercellular Interactions, Institute of Biochemistry, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: svmiro@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6740-8241>

Svetlana V. Michurina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Leading Research Officer, Head of the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: michurinasv3000@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3630-4669>

Irina Yu. Ishchenko – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: irenisch@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6281-0402>

Lubov N. Rachkovskaya – Cand. Sc. (Chem.), Head of the Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: noolit@niikel.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9622-5391>

Anastasiya E. Serykh – Junior Research Officer at the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences; Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Mechanisms of Free Radical Processes, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: rasiel1996@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5817-6055>

Edmund E. Rachkovsky – Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer at the Laboratory of Pharmaceutical Technology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: reed@academ.org, <https://orcid.org/0000-0003-3756-4873>

Andrey Yu. Letyagin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Head of the Branch for Scientific and Medical Work, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9293-4083>

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНОРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ 974ZH НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *TLR2* И *TLR4* В КЛЕТКАХ КРОВИ И СЕЛЕЗЁНКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ СОВМЕСТНОМ ВВЕДЕНИИ С *YERSINIA PESTIS* EV

Пятидесятникова А.Б.¹,
Дубровина В.И.¹,
Юрьева О.В.¹,
Корытов К.М.¹,
Иванова Т.А.¹,
Потапов В.А.²,
Мусалов М.В.²,
Балахонов С.В.¹

¹ 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)

² ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Пятидесятникова Анна Борисовна,
e-mail: 50anechka@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Одним из важных направлений повышения иммуногенных свойств вакцинных штаммов против особо опасных инфекций является поиск адъювантов, которые не только стимулируют иммунологическую эффективность вакцинации, но и могут оказывать метаболическую коррекцию вакцинального процесса. Селенорганические соединения обладают иммуностропными свойствами и антиоксидантным эффектом, в связи с чем изучение влияния селенорганического соединения 2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромида (974zh) на активность экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* клетками макроорганизма экспериментальных животных, иммунизированных вакцинным штаммом *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, является актуальным направлением исследований.

Цель работы. Оценка экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* клетками иммунофагоцитарной системы экспериментальных животных, иммунизированных вакцинным штаммом *Y. pestis* EV на фоне иммуномодуляции селенорганическим соединением 974zh.

Материалы и методы. Исследование проводили на 125 сертифицированных беспородных белых мышах. Биологический материал (кровь, селезёнка) обеззараживали, селезёнку гомогенизировали. Выделение РНК и обратную транскрипцию осуществляли с помощью коммерческих комплектов реагентов. Уровень экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* определяли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием специфических праймеров.

Результаты. При оценке врождённого иммунитета на примере клеток крови и селезёнки биомоделей выявлены особенности экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* в ответ на введение вакцинного штамма *Y. pestis* EV на фоне иммуномодуляции препаратом 974zh. Установлено, что данный препарат индуцирует статистически значимое повышение экспрессии генов *TLR2* при совместном введении с *Y. pestis* EV как в дозе 10^4 КОЕ, так и в дозе 10^3 КОЕ.

Заключение. Таким образом, *Y. pestis* EV на фоне иммуномодуляции препаратом 974zh стимулирует экспрессию генов *TLR2* и *TLR4*, что может свидетельствовать о повышении иммуногенных свойств вакцинного штамма *Y. pestis* EV под влиянием этого препарата.

Ключевые слова: экспрессия генов, *TLR*, селенорганическое соединение, иммунитет

Для цитирования: Пятидесятникова А.Б., Дубровина В.И., Юрьева О.В., Корытов К.М., Иванова Т.А., Потапов В.А., Мусалов М.В., Балахонов С.В. Влияние селенорганического соединения 974zh на экспрессию генов *TLR2* и *TLR4* в клетках крови и селезёнки экспериментальных животных при совместном введении с *Yersinia pestis* EV. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 249-255. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.25

Статья поступила: 16.02.2024

Статья принята: 22.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

EFFECT OF THE ORGANOSELENIUM COMPOUND 974ZH ON THE TLR2 AND TLR4 GENE EXPRESSION IN BLOOD AND SPLEEN CELLS OF EXPERIMENTAL ANIMALS WHEN CO-ADMINISTERED WITH YERSINIA PESTIS EV

Pyatidesyatnikova A.B.¹,
Dubrovina V.I.¹,
Yurieva O.V.¹,
Korytov K.M.¹,
Ivanova T.I.¹,
Potapov V.A.²,
Musalov M.V.²,
Balakhonov S.V.¹

¹ Irkutsk Antiplague Research Institute
of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor
(Trilissera str. 78, Irkutsk 664047,
Russian Federation)

² A.E. Favorsky Irkutsk Institute
of Chemistry, Siberian Branch
of the Russian Academy of Sciences
(Favorskogo str. 1, Irkutsk 664033,
Russian Federation)

Corresponding author:
Anna B. Pyatidesyatnikova,
e-mail: 50anechka@mail.ru

ABSTRACT

One of the important directions for increasing the immunogenic properties of vaccine strains against highly dangerous infections is the search for adjuvants that not only stimulate the immunological effectiveness of vaccination, but can also provide a metabolic correction of the vaccination process. Organoselenium compounds have immunotropic properties and an antioxidant effect, and therefore, the study of the effect of the organoselenium compound 2,6-dipyridinium-9-selenabicyclo[3.3.1]nonane dibromide (974zh) on the activity of the TLR2 and TLR4 gene expression by macroorganism cells of experimental animals immunized with *Yersinia pestis* EV NIEG vaccine strain, is a current area of research.

The aim of the work. To assess the TLR2 and TLR4 gene expression by cells of the immune phagocyte system of experimental animals immunized with the *Y. pestis* EV vaccine strain against the background of immunomodulation with the organoselenium compound 974zh.

Materials and methods. The study was carried out on 125 certified outbred white mice. Biological material (blood, spleen) was disinfected, and the spleen was homogenized. RNA isolation and reverse transcription were performed using commercial reagent kits. The expression level of the TLR2 and TLR4 genes was determined using real-time polymerase chain reaction with specific primers.

Results. When assessing innate immunity using the example of blood and spleen cells of animal models, features of the TLR2 and TLR4 gene expression were revealed in response to the introduction of the *Y. pestis* EV vaccine strain against the background of immunomodulation with the 974zh. It was found that 974zh induces a statistically significant increase in TLR2 gene expression when co-administered with *Y. pestis* EV at a dose of both 10^4 CFU and 10^3 CFU.

Conclusion. *Y. pestis* EV against the background of immunomodulation with 974zh, stimulates the expression of the TLR2 and TLR4 genes, which may indicate an increase in the immunogenic properties of the *Y. pestis* EV vaccine strain under the influence of this preparation.

Key words: gene expression, TLR, organoselenium compound, immunity

For citation: Pyatidesyatnikova A.B., Dubrovina V.I., Yurieva O.V., Korytov K.M., Ivanova T.I., Potapov V.A., Musalov M.V., Balakhonov S.V. Effect of the organoselenium compound 974zh on the TLR2 and TLR4 gene expression in blood and spleen cells of experimental animals when co-administered with *Yersinia pestis* EV. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 249-255. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.25

Received: 16.02.2024

Accepted: 22.05.2024

Published: 15.07.2024

ВВЕДЕНИЕ

Наибольший вклад в профилактику и борьбу с инфекционными заболеваниями внесла вакцинация, направленная на выработку иммунного ответа, который обеспечивает невосприимчивость к возбудителям инфекционных заболеваний. Больших успехов в борьбе и профилактике особо опасных инфекций достигли благодаря уже созданным вакцинам. Большая часть вакцин против особо опасных инфекций представляет собой аттенуированные штаммы возбудителей или инактивированные патогены, обладающие не только иммуногенной и протективной активностью, но также остаточной вирулентностью и реактогенностью. Химические, субъединичные и комбинированные вакцины не обладают достаточной иммуногенной активностью и не могут сравниться с живыми по эффективности [1]. Поэтому поиск неспецифических факторов, способных снижать степень негативного влияния живых вакцин на организм и повышать их иммуногенную активность, позволяя снизить дозу антигена, является актуальным. Адьюванты могут усиливать иммунный ответ на введение вакцины с помощью различных механизмов, в том числе за счёт активации гуморальных и клеточных факторов врождённого иммунитета [1]. Естественный иммунитет формирует раннюю линию защиты макроорганизма от микробов с дальнейшей инициацией адаптивного. Адьюванты способны инициировать иммунные реакции врождённой иммунной системы через паттерн-распознающие рецепторы (PRRs, pattern recognition receptors) [2].

К одному из семейств PRRs относятся Toll-подобные рецепторы (TLR, Toll-like receptors), которые осуществляют распознавание молекулярных структур патогенов и являются важным элементом в механизме как врождённого, так и адаптивного иммунного ответа [3]. На сегодняшний день установлено не менее 10 типов TLR у человека и 13 – у мышей. В основном TLR экспрессированы на клетках тканей, которые выполняют иммунные функции и непосредственно вступают в связь с патогенами. Рецепторы различаются по адаптерным белкам, локализуются как на клеточной мембране, так и внутри клетки, обеспечивая проведение внутриклеточного активационного сигнала [4].

Полагают, что Toll-подобные рецепторы 2-го и 4-го типов являются специфичными для ранней встречи патогенных бактерий с клетками хозяина. Рецепторы этих двух типов имеют широкий спектр активирующих их лигандов, локализованных на бактериях. *TLR2* и *TLR4* экспрессированы на моноцитах, макрофагах, нейтрофилах и миелоидных дендритных клетках, на эндотелии, эпителиальных клетках кишечника и гепатоцитах. При взаимодействии TLR с лигандами происходит индукция первостепенных провоспалительных факторов с последующим незамедлительным развитием механизмов как врождённого, так и приобретённого иммунитета.

Применение иммуномодулирующих адьювантов даёт возможность активировать врождённый иммунитет за счёт стимуляции TLR, что может быть использовано при разработке новых препаратов для лечения инфекционных заболеваний и создания вакцин для их про-

филактики [5]. В последние годы соединения синтетического происхождения, влияющие на иммуногенез, активно исследуются и внедряются в практику в качестве адьювантов [6, 7].

Ранее проведённые эксперименты на животных показали, что экспериментальный синтетический селенорганический препарат 2,6-дипиридиния-9-селенабицикло[3.3.1]нонандибромида (974zh) обладает иммуностропными свойствами. Сочетанное применение с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ позволяет сохранить его иммуногенность при снижении антигенной нагрузки на порядок (с 10^4 КОЕ до 10^3 КОЕ) и уменьшает аллергическую реакцию в процессе вакцинации [8, 9].

Учитывая положительное влияние данного соединения на макроорганизм, исследования экспериментального синтетического селенорганического соединения в сочетании с вакцинными штаммами в качестве адьюванта, который будет индуцировать повышение экспрессии генов Toll-подобных рецепторов, являются перспективными.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния селенорганического соединения 974zh на экспрессию генов *TLR2* и *TLR4* в клетках периферической крови и селезёнки экспериментальных животных при введении *Y. pestis* EV НИИЭГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе использовали синтетическое селенорганическое соединение 2,6-дипиридиния-9-селенабицикло[3.3.1]нонандибромида (974zh) (ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН) и вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ (ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора).

В эксперименте в качестве биомоделей использовали сертифицированных беспородных белых мышей (125 шт.) обоих полов, стандартных по весу (18–20 г) и условиям содержания. Работу с животными проводили в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях, и «Правил надлежащей лабораторной практики», утверждённых приказом Министерства здравоохранения № 199н от 01.04.2016. Исследование одобрено локальным этическим комитетом института (протокол № 3 от 01.06.2020; протокол № 7 от 15.11.2021).

Животных разделили на четыре опытные и одну контрольную группы (по 25 особей). Исследуемый препарат 974zh в дозе 2,5 мг/кг живого веса вводили животным подкожно в левую заднюю лапу в объёме 0,5 мл, культуру клеток – подкожно в заднюю правую лапу в объёме 0,5 мл. Биомоделей I опытной группы инокулировали вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ в дозе 10^3 КОЕ на особь, II опытной группы – в дозе 10^4 КОЕ, III опытной

группы – в дозе 10^3 КОЕ совместно с препаратом 974zh, IV опытной группы – в дозе 10^4 КОЕ в сочетании с 974zh. В контрольной (V) группе использовали интактных белых мышей. Наблюдения осуществлялись на протяжении 21 суток. Белых мышей из эксперимента выводили гуманным способом. Забор биологического материала проводили на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки. Селезёнку подвергали гомогенизации (растиранию). Кровь использовали цельную.

Обеззараживание материала проводили согласно методическим указаниям МУ 3.5.5.1034-01. Образцы в объёме 100 мкл помещали в микроцентрифужные пробирки типа «Eppendorf», смешивали с 300 мкл лизирующего буфера и прогревали при температуре 65 °C в течение 15 мин.

Выделение молекулы РНК проводили с использованием комплекта реагентов для выделения тотальной РНК из цельной крови, клеточных культур и образцов тканей РНК-ЭКСТРАН (ООО «Синтол», Москва). Для расщепления остаточной двуцепочной ДНК в пробах применяли фермент ДНКаз (ООО «Синтол», Москва) согласно прилагаемой инструкции.

Синтезирование первой цепи ДНК на РНК-матрице проводили при использовании набора реагентов для проведения реакции обратной транскрипции (ОТ) (ООО «Синтол», Москва).

Экспрессию *TLR2* и *TLR4* исследовали с помощью набора реагентов для проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) в присутствии SYBS Green 1 (ООО «Синтол», Москва). ПЦР-РВ проводили в амплификаторе, детектирующем ДТ-прайм (ООО «ДНК-технологии», Москва). Специфичные праймеры и их последовательность, используемые в реакции, представлены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПРАЙМЕРОВ МЫШИНЫХ TLR
ДЛЯ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ
TABLE 1
SEQUENCE OF MOUSE TLR PRIMERS FOR REAL-TIME PCR

№	Ген	Последовательность (5' → 3')	Размер (bp)
1	<i>TLR2</i>	F: 5'-CAGCTGGAGAACTCTGACCC-3' R: 5'-CAAAGAGCCTGAAGTGGGAG-3'	193
2	<i>TLR4</i>	F: 5'-CAA CAT CAT CCA GGA AGGC-3' R: 5'-GAA GGC GAT ACA ATT CCA CC-3'	206

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ MS Excel (Microsoft Corp., США). Статистическую значимость оценивали с использованием U-критерия Манна – Уитни. Относительную концентрацию (ОК) копий генов TLR рассчитывали в программе RealTime_PCR v. 7.7 (ООО «ДНК-технологии», Москва) и выражали в условных единицах (у. е.). Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

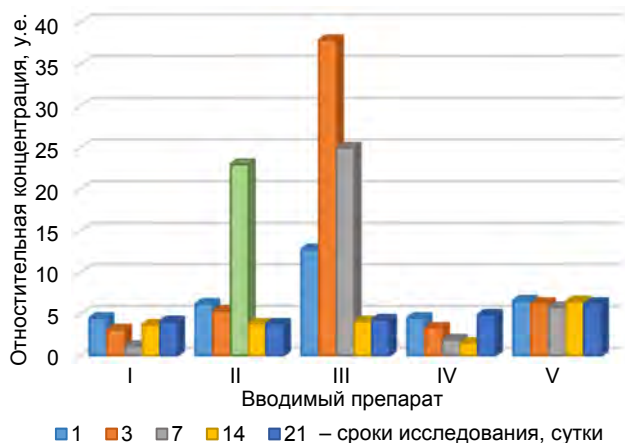
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что селенорганическое соединение 974zh индуцирует повышение экспрессии генов *TLR2* в крови на 1-е сутки с последующим увеличением к 3-м и 7-м суткам, а в селезёнке – на 3-и и 14-е сутки при введении данного препарата совместно с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV в дозе на порядок ниже общепринятой, т. е. 10^3 КОЕ. Так, в III группе животных относительная концентрация *TLR2* в крови составила на 1-е сутки исследования 12,8 у. е., на 3-и сутки – 37,9 у. е., на 7-е сутки – 25 у. е. Таким образом, медианные значения ОК *TLR2* в клетках крови были выше значений I группы в 2,8 раза на 1-е сутки исследования, в 12,3 раза – на 3-и, в 22,7 раза ($p < 0,05$) – на 7-е сутки. Значение медианы у животных III группы было в 2,1 раза больше на 1-е сутки и в 7,1 раза ($p < 0,05$) – на 3-и сутки по сравнению со II группой. Кроме того, уровень экспрессии генов *TLR2* у животных III группы статистически значимо возрастал по сравнению с таковым в IV группе и был в 2,8 раза выше на 1-е сутки, в 11,6 раза – на 3-и, в 13,2 раза – на 7-е, в 2,8 раза ($p < 0,05$) – на 14-е сутки исследования. В клетках крови животных I группы экспрессия данного типа Toll-подобного рецептора не увеличивалась и была ниже, чем в остальных группах экспериментальных животных (рис. 1а).

В клетках селезёнки белых мышей III группы ОК экспрессии генов *TLR2* была существенно выше по сравнению с этим же показателем в других опытных группах и в контроле. На 3-и сутки ОК составила 947 у. е., что в 4,7 раза ($p < 0,05$) выше, чем в I группе, в 1,7 раза ($p < 0,05$) выше, чем во II группе, и в 155,2 раза ($p < 0,05$) выше, чем в IV группе. На 14-е сутки наблюдений ОК III группы составила 501,1 у. е. и была статистически значимо выше этого же показателя во всех остальных группах экспериментальных животных (рис. 1б).

Уровень экспрессии генов *TLR4* в крови экспериментальных животных, иммунизированных *Y. pestis* EV (10^3 КОЕ) в сочетании с селенорганическим соединением (III группа), был статистически значимо выше в 5,5 раза ($p < 0,05$) экспрессии генов данного типа Toll-подобного рецептора у животных, которым вводили только вакцинный штамм *Y. pestis* EV в дозе 10^4 КОЕ (II группа), и в 2,4 раза ($p < 0,05$) выше по сравнению с мышами, иммунизированными *Y. pestis* EV в дозе 10^4 КОЕ совместно с препаратом 974zh (IV группа), на 1-е сутки наблюдений. Статистически значимое увеличение показателей медианы ОК экспрессии генов *TLR4* наблюдалось на 7-е сутки в пробах крови животных III группы относительно животных I группы и было выше в 3,9 раза ($p < 0,05$). В других случаях статистически значимого повышения экспрессии не возникало. На 3-и, 14-е, 21-е сутки статистически значимого повышения относительной концентрации экспрессии генов *TLR4* в клетках крови не отмечалось (рис. 2а).

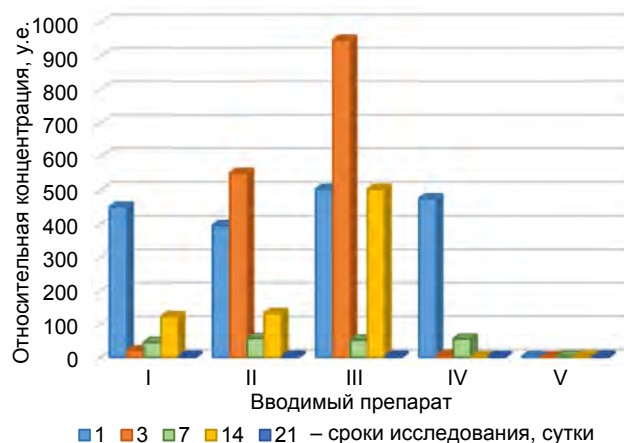
Введение биомоделям экспериментального препарата 974zh в комплексе с *Y. pestis* EV в дозе 10^3 КОЕ (III группа) вызывало повышение экспрессии генов *TLR4* в клетках селезёнки. На 1-е сутки наблюдалось увеличение концентрации по сравнению с V группой (контроль-



a

РИС. 1.

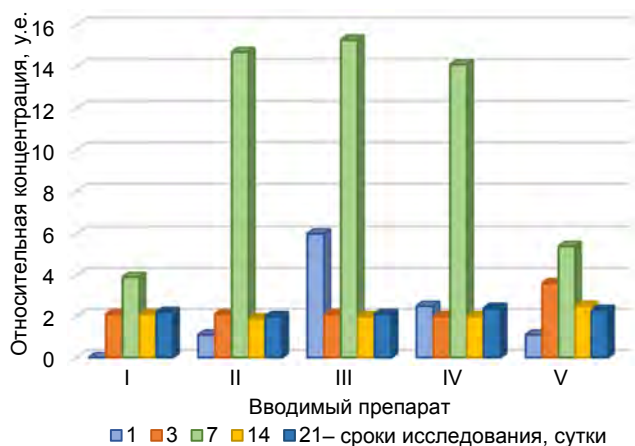
Относительная концентрация экспрессии генов *TLR2* в клетках крови (**a**) и селезёнки (**б**) белых мышей (y. e.): I – *Y. pestis* EV в дозе 10^3 KOE; II – *Y. pestis* EV в дозе 10^4 KOE; III – *Y. pestis* EV в дозе 10^3 KOE + 974zh; IV – *Y. pestis* EV в дозе 10^4 KOE + 974zh; V – контроль; * – $p < 0,05$



б

FIG. 1.

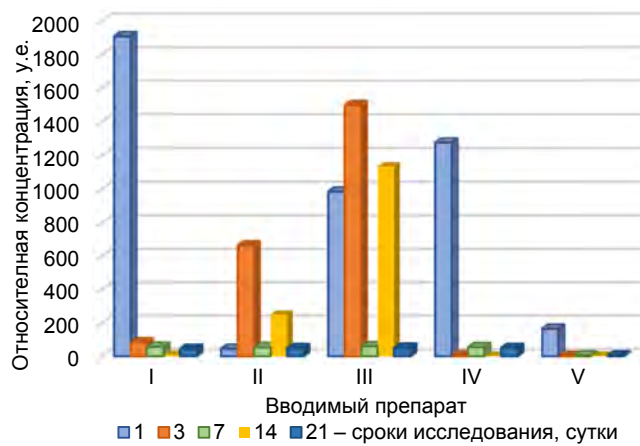
Relative concentration of *TLR2* gene expression in blood (**a**) and spleen (**б**) cells of white mice (c. u.): I – *Y. pestis* EV at a dose of 10^3 CFU; II – *Y. pestis* EV at a dose of 10^4 CFU; III – *Y. pestis* EV at a dose of 10^3 CFU + 974zh; IV – *Y. pestis* EV at a dose of 10^4 CFU + 974zh; V – control group; * – $p < 0,05$



a

РИС. 2.

Относительная концентрация экспрессии генов *TLR4* в клетках крови (**a**) и селезёнки (**б**) белых мышей (y. e.): I – *Y. pestis* EV в дозе 10^3 KOE; II – *Y. pestis* EV в дозе 10^4 KOE; III – *Y. pestis* EV в дозе 10^3 KOE + 974zh; IV – *Y. pestis* EV в дозе 10^4 KOE + 974zh; V – контроль; * – $p < 0,05$



б

FIG. 2.

Relative concentration of *TLR4* gene expression in blood (**a**) and spleen (**б**) cells of white mice (c. u.): I – *Y. pestis* EV at a dose of 10^3 CFU; II – *Y. pestis* EV at a dose of 10^4 CFU; III – *Y. pestis* EV at a dose of 10^3 CFU + 974zh; IV – *Y. pestis* EV at a dose of 10^4 CFU + 974zh; V – control group; * – $p < 0,05$

ная) и II группой, где белым мышам был введён только вакцинный штамм *Y. pestis* EV в дозе 10^4 KOE. По сравнению с другими экспериментальными группами на 1-е сутки экспрессия *TLR4* была ниже. Селенорганический препарат индуцировал экспрессию генов *TLR4* на 3-и и 14-е сутки. Относительная концентрация экспрессии генов в III группе на 3-и сутки составляла 1500 y. e., что в 17,8 раза ($p < 0,05$) выше концентрации в I группе, в 2,3 раза ($p < 0,05$) выше, чем во II группе, и в 256,4 раза ($p < 0,05$) выше, чем в IV группе. На 14-е сутки уровень экспрессии генов *TLR4* в клетках селезёнки животных III группы также был статистически значимо выше, чем

в I, II и IV группах, в 133,7, 4,5 и 283,8 раза соответственно. На 7-е и 21-е сутки статистически значимых различий между медианными значениями экспрессии генов *TLR4* у группы биомоделей, иммунизированных *Y. pestis* EV в дозе 10^3 KOE в сочетании с 974zh, и других опытных групп не регистрировалось (рис. 26).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявленные особенности экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* в клетках врождённого иммунитета

биомоделей в ответ на введение штаммов *Y. pestis* EV НИ-ИЭГ по уровню и кинетике зависят от количества введённого антигена (КОЕ) вакцинного штамма и наличия или отсутствия вводимого препарата 974zh. Данное экспериментальное селенорганическое соединение индуцирует повышение экспрессии генов *TLR2* при совместном введении с *Y. pestis* EV в дозе на порядок ниже общепринятой (10^3 КОЕ) на 1-е, 3-и и 7-е сутки наблюдения в клетках крови и на 3-и и 14-е сутки в клетках селезёнки.

В ответ на введение экспериментальным биомоделем препарата 974zh с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV зарегистрировано повышение экспрессии *TLR4* клетками крови на 1-е и 7-е сутки, в клетках селезёнки – на 1-е, 3-и и 14-е сутки эксперимента. Исследования показали, что при введении синтетического селенорганического соединения в сочетании с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV при снижении иммунизирующей дозы до 10^3 КОЕ происходит усиление экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* в клетках крови и селезёнки биомоделей практически во все сроки наблюдения.

Введение *Y. pestis* EV как в стандартной дозе (10^4 КОЕ), так и в дозе на порядок ниже (10^3 КОЕ), но без экспериментального селенорганического препарата, не вызывало значительных и статистически значимых изменений экспрессии генов исследуемых типов Toll-подобных рецепторов.

Всё вышеизложенное убеждает в том, что повышение экспрессии генов *TLR2* и *TLR4* может усиливать иммунный ответ на вакцину и способствовать эффективной борьбе с чумной инфекцией. Поэтому экспериментальное селенсодержащее соединение 2,6-дипиридиний-9-селенабицикло[3.3.1]нонан дибромид (974zh) можно рассматривать как перспективный адъювант.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Свитич О.А., Лавров В.Ф., Кукина П.И., Скандарян А.А., Ганковская Л.В., Зверев В.В. Перспективы использования агонистов рецепторов врожденного иммунитета и дефектных вирусных интерферирующих частиц в качестве адъювантов нового поколения. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 15(1): 76-86. [Svitich OA, Lavrov VF, Kukina PI, Iskandaryan AA, Gankovskaya LV, Zverev VV. Agonists of receptors of the innate immunity and defective viral particles as new generation of adjuvants. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2018; 17(1): 76-86. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-1-76-86

Сведения об авторах

Пятидесятникова Анна Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

2. Андреев Ю.Ю., Топтыгина А.П. Адъюванты и иммуномодуляторы в составе вакцин. *Иммунология*. 2021; 42(6): 720-729. [Andreev YuYu, Topytina AP. Adjuvants and immunomodulators in vaccines. *Immunologiya*. 2021; 42(6): 720-729. (In Russ.)]. doi: 10.33029/0206-4952-2021-42-6-720-729

3. Ковальчук Л.В., Хорева М.В., Никонова А.С. Распознающие рецепторы врожденного иммунитета (NLR, RLR и CLR). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011; 88(1): 93-100. [Koval'chuk LV, Khoreva MV, Nikonova AS. Recognition receptors of innate immunity (NLR, RLR, and CLR). *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2011; 88(1): 93-100. (In Russ.)].

4. Мамедова Л.Н., Тарасова Г.Н. Клинико-патогенетическая характеристика TLR. *Медицинский вестник Юга России*. 2012; (1): 12-15. [Mamedova LN, Tarasova GN. Clinical and pathogenetic TLR description. *Medical Herald of the South of Russia*. 2012; (1): 12-15. (In Russ.)].

5. Никонова А.А., Хаитов М.Р., Хаитов Р.М. Перспективы использования агонистов и антагонистов Toll-подобных рецепторов для профилактики и лечения вирусных инфекций. *Медицинская иммунология*. 2019; 21(3): 397-406. [Nikonova AA, Khaitov MR, Khaitov RM. Prospects of Toll-like receptor agonists and antagonists for prevention and treatment of viral infections. *Medical Immunology (Russia)*. 2019; 21(3): 397-406. (In Russ.)]. doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-397-406

6. Kostinov MP, Akhmatova NK, Khromova EA, Kostinova AM. Cytokine Profile in human peripheral blood mononuclear leukocytes exposed to immunoadjuvant and adjuvant-free vaccines against influenza. *Front Immunol*. 2020; 11(1351): 1-10. doi: 10.3389/fimmu.2020.01351

7. Talayev V, Zaichenko I, Svetlova M, Matveichev A, Babaykina O, Voronina E, et al. Low-dose influenza vaccine Grippol Quadrivalent with adjuvant Polyoxidonium induces a T helper-2 mediated humoral immune response and increases NK cell activity. *Vaccine*. 2020; 38(42): 6645-6655. doi: 10.1016/j.vaccine.2020.07.053

8. Дубровина В.И., Старовойтова Т.П., Юрьева О.В., Витязева С.А., Пятидесятникова А.Б., Иванова Т.А., и др. Структурная перестройка органов белых мышей, вакцинированных *Yersinia pestis* EV в сочетании с селенорганическим соединением 974zh. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 110-120. [Dubrovina VI, Starovoytova TP, Yur'eva OV, Vityazeva SA, Pyatidesyatnikova AB, Ivanova TA, et al. Structural rearrangement of organs of white mice vaccinated with *Yersinia pestis* EV in combination with organoselenium compound 974zh. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(3): 110-120. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.3.12

9. Dubrovina VI, Starovoytova TP, Yur'eva OV, Pyatidesyatnikova AB, Potapov VA, Musalov MV, et al. Effect of a synthetic organoselenium compound on post-vaccination immunopoiesis in the red bone marrow and cell composition of peripheral blood of white mice vaccinated with *Yersinia pestis* EV. *Bull Exp Biol Med*. 2021; 171: 651-655. doi: 10.1007/s10517-021-05287-0

Юрьева Ольга Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Корытов Константин Михайлович – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Иванова Татьяна Александровна – заведующая лабораторией экспериментальных животных, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: ita0707@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4738-8906>

Потапов Владимир Алексеевич – доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией халькогенорганических соединений, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, e-mail: amosova@irioch.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3151-6726>

Мусалов Максим Викторович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории халькогенорганических соединений, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, e-mail: musalov_maxim@irioch.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7638-8377>

Балахонov Сергей Владимирович – доктор медицинских наук профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Anna B. Pyatidesyatnikova – Junior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: dubrovinavalya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Olga V. Yurieva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Konstantin M. Korytov – Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Tatiana A. Ivanova – Head of the Laboratory of Experimental Animals, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6017-9610>

Vladimir A. Potapov – Dr. Sc. (Chem.), Professor, Head of the Laboratory of Chalcogen Organic Compounds, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: amosova@irioch.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3151-6726>

Maxim V. Musalov – Cand. Sc. (Chem.), Senior Researcher at the Laboratory of Chalcogen Organic Compounds, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: musalov_maxim@irioch.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7638-8377>

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

МОДИФИКАЦИЯ ПРОТОКОЛА ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ОТТАЯВШИХ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Сайдакова Е.В.^{1,2},
Королевская Л.Б.¹,
Пономарева В.Н.²,
Власова В.В.¹

¹ Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН –
филиал ФГБУН Пермского федерального
исследовательского центра УрО РАН
(614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

² ФГАОУ ВО «Пермский государственный
национальный исследовательский
университет» (614068, г. Пермь,
ул. Букирева, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сайдакова Евгения Владимировна,
e-mail: radimira@list.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Иммунологические исследования невозможны без длительного хранения биоматериала в условиях криоконсервации. Стандартные методики работы с мононуклеарными лейкоцитами, подвергавшимися криоконсервации, отсутствуют.

Цель исследования. Оптимизировать протокол культивирования оттаявших после криоконсервации Т-лимфоцитов по оценке их жизнеспособности и пролиферативной активности.

Методы. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из периферической крови относительно здоровых добровольцев ($n = 18$). Клетки подвергали контролируемому замораживанию до $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ и переносили в жидкий азот. Первый этап: после оттаивания клетки окрашивали CFSE (carboxyfluorescein succinimidyl ester), делили на две части и культивировали в присутствии/отсутствии интерлейкина 2 (ИЛ-2). Пролиферацию клеток стимулировали фитогемагглютинином-П. Клетки инкубировали в течение 7 суток. Анализ образцов проводили методом проточной цитофлуориметрии. Второй этап: оттаявшие клетки делили на три части. Две части ресуспендировали в полной питательной среде с ИЛ-2 и помещали в термостат ($+37\text{ }^{\circ}\text{C}$) для «отдыха» на 1 час или на ночь. После «отдыха» клетки окрашивали CFSE. Третью часть размороженных лейкоцитов окрашивали CFSE сразу после оттаивания. Клетки стимулировали, культивировали и анализировали единообразно на обоих этапах исследования.

Результаты. Установлено, что добавление ИЛ-2 в культуральную среду способствует лучшему выживанию клеток. Кроме того, в присутствии ИЛ-2 стимулированные CD4^{+} и CD8^{+} Т-лимфоциты производят больше дочерних генераций. По сравнению с пробами, сразу помещёнными в культуру, в пробах, прошедших «отдых», снижено число лейкоцитов по окончании 7-суточной инкубации. Количество дочерних генераций, формируемых стимулированными CD4^{+} и CD8^{+} Т-клетками, снижается при включении этапа «отдых» в протокол исследования.

Заключение. Внесение ИЛ-2 в культуральную среду может увеличить жизнеспособность и митотическую активность размороженных Т-клеток, приближая их состояние к таковому свежесделенных лимфоцитов. «Отдых» клеток после оттаивания оказывает негативный эффект на жизнеспособность и пролиферативную активность Т-лимфоцитов при их последующей недельной инкубации.

Ключевые слова: Т-лимфоциты, криоконсервация, культивирование, ИЛ-2, отдых

Статья поступила: 18.09.2023

Статья принята: 27.05.2024

Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Пономарева В.Н., Власова В.В. Модификация протокола исследования функциональной активности оттаявших после криоконсервации Т-лимфоцитов. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 256-265. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.26

ADAPTING THE PROTOCOL FOR STUDYING THE FUNCTIONAL CAPACITY OF T LYMPHOCYTES THAWED FROM CRYOPRESERVATION

Saidakova E.V.^{1,2},
 Korolevskaya L.B.¹,
 Ponomareva V.N.²,
 Vlasova V.V.¹

¹ Institute of Ecology and Genetics
 of Microorganisms UB RAS –
 Branch of the Perm Federal Research
 Center, Ural Branch of the Russian Academy
 of Sciences (Goleva str. 13, Perm 614081,
 Russian Federation)

² Perm State University (Bukireva str. 15,
 Perm 614068, Russian Federation)

Corresponding author:
 Evgeniya V. Saidakova,
 e-mail: radimira@list.ru

ABSTRACT

Background. Immunological studies are impossible without long-term storage of cryopreserved biomaterial. There are no standard procedures for working with cryopreserved mononuclear leukocytes.

The aim of the study. To optimize the protocol for culturing T lymphocytes thawed after cryopreservation by assessing their viability and proliferative capacity.

Methods. Mononuclear leukocytes were isolated from the peripheral blood of relatively healthy volunteers ($n = 18$). Cells were subjected to controlled freezing down to $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ and were transferred to liquid nitrogen. First step: after thawing, the cells were stained with CFSE (carboxyfluorescein succinimidyl ester), were divided into two parts and cultured in the presence/absence of interleukin 2 (IL-2). Cell proliferation was stimulated with phytohemagglutinin (type P). Cells were incubated for 7 days. Sample analysis was performed using flow cytometry. Second stage: thawed cells were divided into three parts. Two parts were resuspended in a full growth medium with IL-2 and were placed in a thermostat ($+37\text{ }^{\circ}\text{C}$) to “rest” for one hour or overnight. After “resting”, the cells were stained with CFSE. One third of the thawed leukocytes were stained with CFSE immediately after thawing. Cells were stimulated, cultured and analyzed the same way at both stages of the study.

Results. It has been established that adding IL-2 to the culture medium contributes to a better cell survival. In the presence of IL-2, stimulated CD4^{+} and CD8^{+} T lymphocytes produced more daughter cell generations. At the end of the 7-day incubation “rested” samples had reduced leukocyte counts compared to the samples that were cultured immediately after thawing. The number of daughter cell generations formed by stimulated CD4^{+} and CD8^{+} T cells decreased when the “rest” stage was included into the study protocol.

Conclusion. Adding IL-2 into culture medium can increase the viability and mitotic capacity of thawed T cells, making their state more similar to that of freshly isolated lymphocytes. Cell “rest” after thawing negatively affects the viability and proliferative activity of T lymphocytes during their weekly incubation.

Keywords: T lymphocytes, cryopreservation, primary cell culture, interleukin 2, rest

Received: 18.09.2023
 Accepted: 27.05.2024
 Published: 15.07.2024

For citation: Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Ponomareva V.N., Vlasova V.V. Adapting the protocol for studying the functional capacity of T lymphocytes thawed from cryopreservation. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 256-265. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.26

ОБОСНОВАНИЕ

Эффективные исследования в области иммунологии невозможны без постоянного доступа к биологическому материалу, что предполагает необходимость его сбора, накопления и хранения. На сегодняшний день единственным способом длительного хранения ядерных клеток периферической крови является их криоконсервация: содержание при очень низких температурах ($-80 \dots -196^\circ\text{C}$). Использование биобанков, позволяющих накапливать и хранить в жидком азоте биологические образцы, значительно облегчает проведение исследований, направленных на изучение причин развития различных заболеваний, разработку и апробацию лекарственных средств [1].

Следует отметить, что криоконсервация может влиять на экспрессию фенотипических маркеров и функциональную активность мононуклеарных клеток периферической крови [2, 3]. Для нивелирования эффектов криоконсервации рядом исследователей [4, 5] было предложено после проведения процедуры оттаивания ввести в протокол работы этап «отдыха»: помещение клеток в полную питательную среду (ППС) на период от 1 до 24 ч при температуре $+37^\circ\text{C}$. Было показано, что эта процедура оказывает позитивный эффект на клетки, в частности способствует восстановлению функциональности антигенспецифических Т-лимфоцитов при оценке методом ELISPOT [6–10]. Другие исследователи [11–14] предложили обогащать среду для культивирования добавками, такими как цитокины, в частности интерлейкин 2 (ИЛ-2), пируват натрия, заменимые аминокислоты, β -меркаптоэтанол и др., что должно способствовать лучшему выживанию Т-лимфоцитов в культуре и в конечном итоге повышению их функциональной активности. Однако на сегодняшний день методики работы с мононуклеарными лейкоцитами, подвергавшимися длительной (более 24 мес.) криоконсервации, не разработаны.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оптимизация протокола культивирования оттаявших после криоконсервации Т-лимфоцитов по оценке их жизнеспособности и пролиферативной активности.

МЕТОДЫ

Участники исследования. В качестве доноров периферической крови в исследовании приняли участие добровольцы ($n = 18$; 39% – женщины; средний возраст $37,4 \pm 1,2$ года). Критерием включения в исследование был возраст старше 18 лет. Критерии исключения: острые инфекционные заболевания менее чем за 4 недели до начала исследования; беременность.

Получение биоматериала. Забор крови осуществляли натошак из локтевой вены в вакуумные пробирки (Weihai Hongyu Medical Devices Co, Ltd., Китай), содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту. Мононукле-

арные лейкоциты выделяли стандартным методом путём центрифугирования двукратно разведённой крови раствором фосфатно-солевого буфера Дульбекко (DPBS, Dulbecco's phosphate-buffered saline; Gibco, США) в градиенте плотности Диаколл (1,077 г/мл; Диаэм, Россия). Изолированные клетки дважды отмывали в растворе DPBS и помещали в среду, содержащую 90 % инактивированной теплом эмбриональной сыворотки (ЭТС; Biowest, Колумбия) и 10 % внутриклеточного криопротектора диметилсульфоксида (AppliChem, Германия). Клетки, ресуспендированные в этой среде, переносили в пробирки и подвергали контролируемому замораживанию в коммерческих штативах CoolCell (Corning, США) с регулируемой скоростью снижения температуры ($-1^\circ\text{C}/\text{мин}$) в морозильной камере (-80°C) в течение суток, чтобы свести к минимуму повреждение клеток. Затем пробы переносили в резервуар с жидким азотом (-196°C) и хранили до последующего использования. Средняя продолжительность хранения образцов составила $40 \pm 1,4$ мес.

Перед проведением исследования мононуклеарные лейкоциты размораживали при $+37^\circ\text{C}$ в водяной бане в течение 1–2 мин. Клетки переносили в 15 мл пробирки, после чего к образцам капельно добавляли по 10 мл ППС: RPMI-1640, содержащей 25 мМ Хепеса и 2 мМ L-глутамина (Gibco, США), с добавлением 10 % ЭТС, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (Sigma, США). Образцы аккуратно перемешивали, наклоняя из стороны в сторону, и центрифугировали в течение 10 мин при 400 g. Клеточный осадок ресуспендировали в ППС. Жизнеспособность размороженных лейкоцитов при оценке с трипановым синим стандартным методом составила не менее 92 %.

Культивирование мононуклеарных лейкоцитов.

На первом этапе исследования приготовленные после оттаивания клетки окрашивали 5 мкМ 5,6-карбоксифлуоресцеина диацетат-N-сукцинимидилового эфира (CFSE, carboxyfluorescein succinimidyl ester; Biolegend, США), дважды отмывали средой RPMI-1640, содержащей 20 % ЭТС. Затем клетки подсчитывали в камере Горяева, делили на две части и ресуспендировали в концентрации $1 \times 10^6/\text{мл}$ в ППС с добавлением ИЛ-2 (100 нг/мл; Gibco, США) или без него (рис. 1а). Пролиферацию клеток стимулировали фитогемагглютинином-П (ФГА; Serva, Германия) в конечной концентрации 15 мкг/мл. В качестве контроля использовали нестимулированные клетки. Общая продолжительность культивирования лейкоцитов составила 7 суток с заменой на 3–4-е сутки культуральной среды в каждой пробе на среду аналогичного состава. Для поддержания постоянства pH среды клетки инкубировали в эксикаторе со свечой, помещёнными в термостат ($+37^\circ\text{C}$). По окончании времени инкубации клетки собирали, подсчитывали их количество и окрашивали анти-CD3-BV605, анти-CD4-PE и анти-CD8-BV510 антителами (Biolegend, США). Для оценки жизнеспособности мононуклеарных лейкоцитов применяли краситель Zombie UV (Biolegend, США).

На втором этапе исследования (рис. 1б) культивирование клеток проводили в ППС, содержащей 100 нг/мл ИЛ-2. Полученные после разморозки мононуклеарные лейкоци-

ты делили на три части, две из которых помещали в культуральную среду и убирали в термостат (+37 °C) для «отдыха» на 1 час (Ч) или на ночь (Н). После «отдыха» клетки окрашивали CFSE, стимулировали ФГА и культивировали, согласно описанному ранее протоколу. Третью часть размороженных лейкоцитов сразу после оттаивания (С) окрашивали CFSE и культивировали в присутствии ФГА, согласно указанному выше протоколу. Культивирование, смена среды, подсчёт клеток и анализ результатов проводились единообразно на протяжении всего исследования.

Проточная цитометрия. Анализ моноклеарных лейкоцитов проводили с использованием проточного цитофлюориметра CytoFLEX S (Beckman Coulter, США). Логика гейтирования представлена на рисунке 2.

Статистическая обработка данных. Статистический анализ и визуализацию данных проводили с помощью программного обеспечения «GraphPad Prism 8» (GraphPad Software, США). Количественные данные в тексте и таблицах представлены в виде средних и их стандартных ошибок. Для сравнения двух групп количественных данных использовали t-тест Стьюдента; нескольких групп – однофакторный дисперсионный анализ; множественные сравнения между группами проводили с помощью критерия Тьюки. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез приняли равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Модификация полной питательной среды внесением ИЛ-2. Проанализирована жизнеспособность моноклеарных лейкоцитов периферической крови, размороженных после длительной ($40 \pm 1,4$ мес.) криоконсервации и культивированных в течение 7 суток в различных условиях. Показано, что численность клеток резко снижается по окончании времени культивирования: в среднем в пробе оставалось 33 % от числа изначально внесённых клеток.

Вместе с тем было установлено, что добавление ИЛ-2 в культуральную среду способствует лучшему выживанию моноклеарных лейкоцитов (рис. 3). Наиболее выраженный позитивный эффект на жизнестойкость был отмечен среди клеток, стимулированных ФГА. Так, численность лейкоцитов в пробах, содержащих ИЛ-2, была существенно выше, чем в образцах без дополнительно внесённого цитокина ($p < 0,001$). Аналогичные результаты были получены при исследовании нестимулированных клеток. Однако в данных условиях культивирования различия в численности клеток между пробами, содержащими и не содержащими ИЛ-2, не достигли уровня статистической значимости ($p > 0,05$).

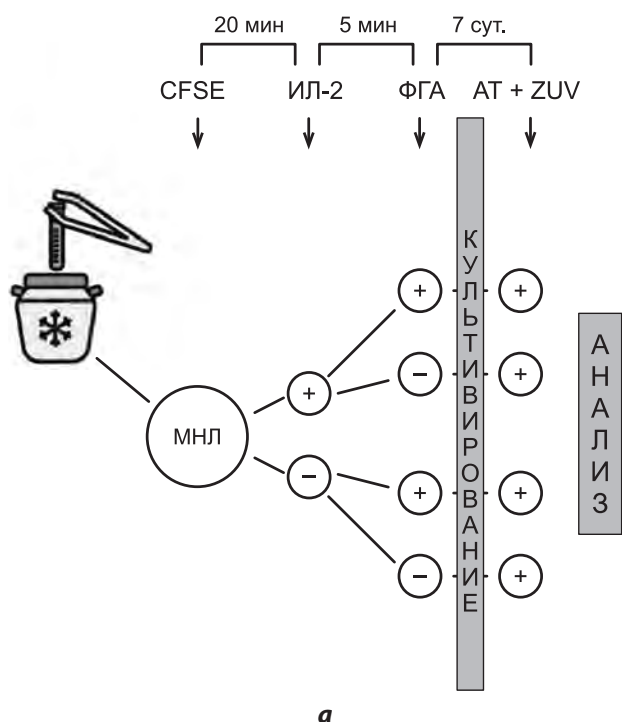


РИС. 1.
Общая схема исследования: **а** – первый этап исследования; **б** – второй этап исследования. МНЛ – моноклеарные лейкоциты; AT + ZUV – коктейль из анти-CD3-BV605, анти-CD4-PE, анти-CD8-BV510 антител и витального красителя Zombie UV. Типы «отдыха»: С – сразу после оттаивания (без «отдыха»); Ч – часовой «отдых»; Н – ночной «отдых»

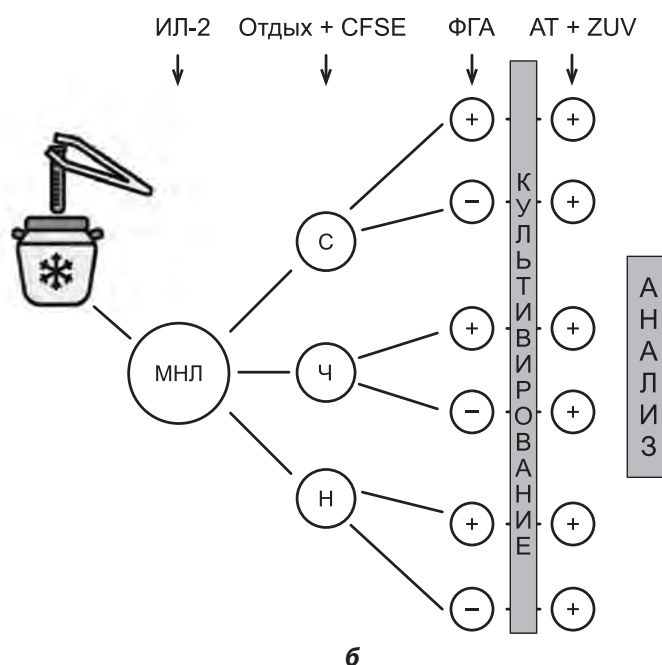


FIG. 1.
Study overview: **а** – first stage of the experiment; **б** – second stage of the experiment. МНЛ – mononuclear leukocytes; AT + ZUV – a cocktail of anti-CD3-BV605, anti-CD4-PE, anti-CD8-BV510 antibodies and Zombie UV vital stain. Types of “rest”: С – immediately after thawing (without “rest”); Ч – hourly “rest”; Н – overnight “rest”

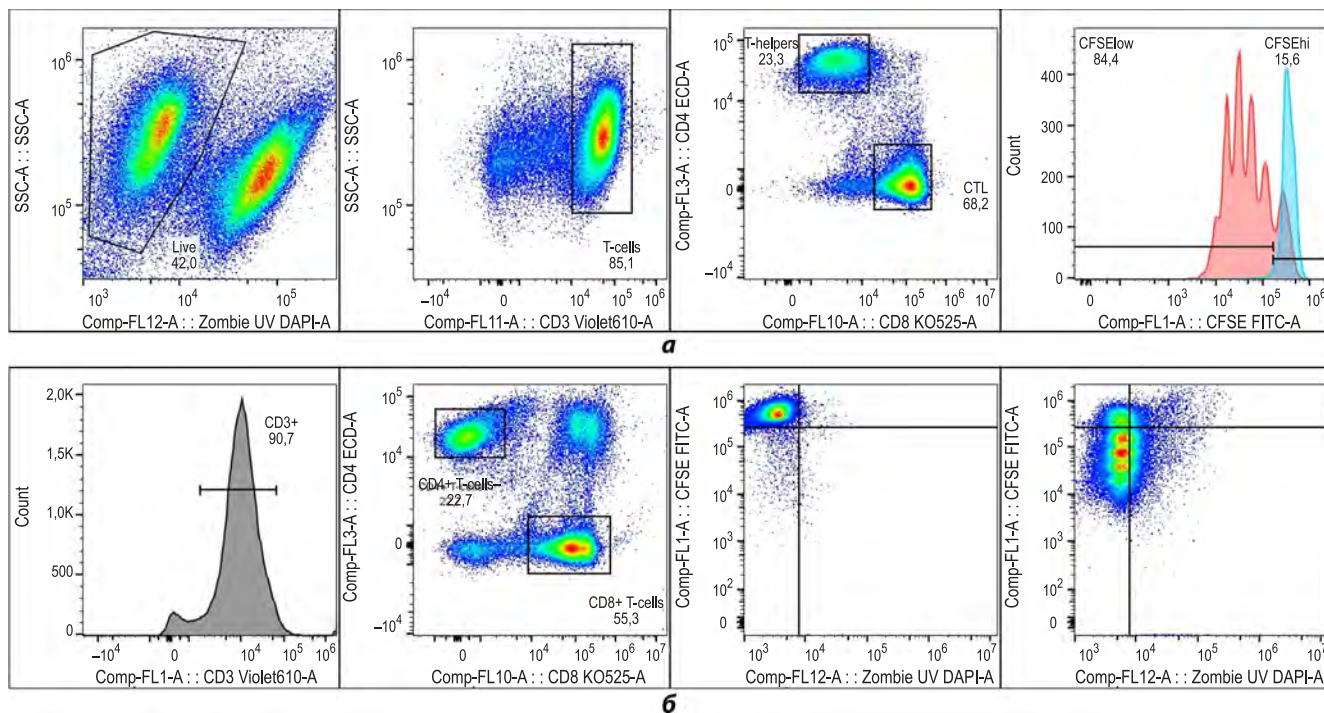


РИС. 2.

Логика гейтирования мононуклеарных лейкоцитов (типичные диаграммы светорассеяния). **а** – подсчёт числа дочерних генераций в пробах стимулированных Т-лимфоцитов: выделение пула жизнеспособных элементов с последующим гейтированием $CD3^+$ Т-клеток, их разделением на $CD4^+$ и $CD8^+$ субпопуляции и анализом окрашивания трекинговым красителем CFSE в каждой из субпопуляций. **б** – определение жизнеспособности делящихся Т-лимфоцитов: выделение $CD3^+$ Т-клеток с последующим разделением на субпопуляции $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов, установкой границ квадрантов по нестимулированной пробе и анализом одновременного окрашивания витальным красителем Zombie UV и трекинговым красителем CFSE стимулированного образца

FIG. 2.

The gating approach used to distinguish mononuclear leukocytes (typical scatter diagrams). **a** – enumeration of daughter cell generations in stimulated T lymphocyte samples: viable elements isolation followed by $CD3^+$ T cells gating, subsequent $CD4^+$ and $CD8^+$ subsets isolation, and CFSE staining analysis. **б** – determination of the dividing T lymphocytes viability: $CD3^+$ T cells isolation with subsequent dividing into $CD4^+$ and $CD8^+$ T lymphocytes subsets, gating of unstimulated sample, following the simultaneous analysis of vital Zombie UV and CFSE staining of stimulated sample

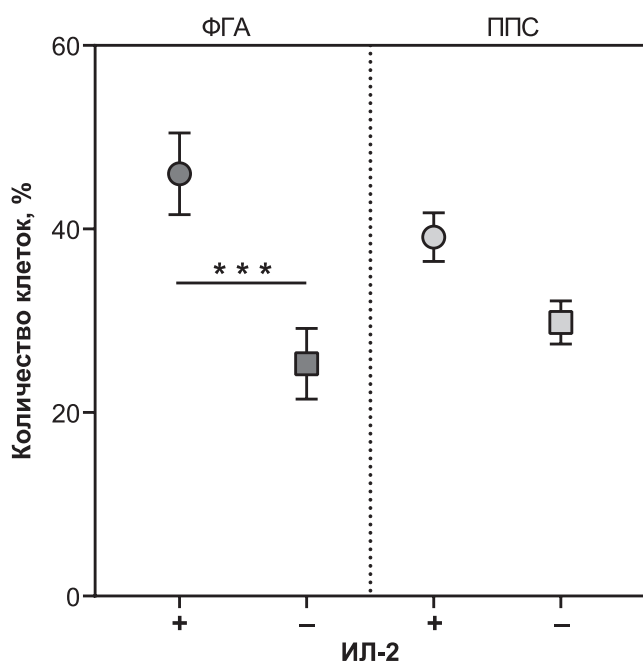


РИС. 3.

Влияние внесения в культуральную среду ИЛ-2 на численность мононуклеарных лейкоцитов после инкубации в течение 7 суток. Представлены средние и стандартные ошибки средних ($n = 18$ в каждой группе). Для сравнения групп количественных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ; множественные сравнения между группами проводили с помощью критерия Тьюки; *** – $p < 0,001$

FIG. 3.

The impact of adding IL-2 to the growth medium on the mononuclear leukocytes count following 7 days of incubation. The means and standard errors of the means are presented ($n = 18$ in each group). One-way analysis of variance was used to compare groups of quantitative data; multiple comparisons between groups were performed using Tukey's test; *** – $p < 0.001$

Выявлен положительный эффект экзогенно добавленного ИЛ-2 на пролиферативную способность Т-клеток, размороженных после длительной криоконсервации. Было показано, что в присутствии этого цитокина *in vitro* сти-

мулированные CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоциты производят больше дочерних генераций (рис. 4).

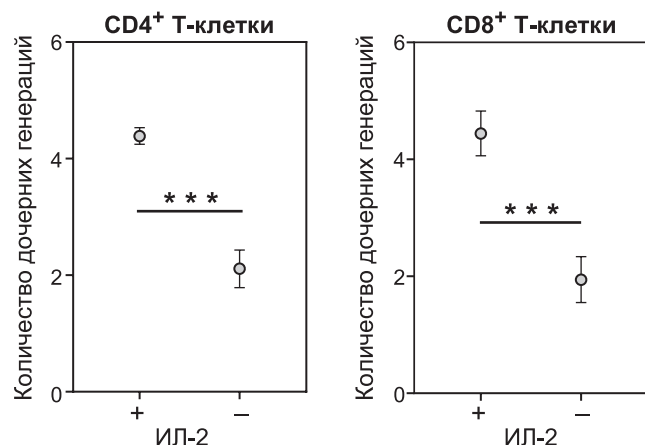


РИС. 4.

Влияние содержания в культуральной среде ИЛ-2 на пролиферативную способность CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, стимулированных в условиях *in vitro* в течение 7 суток. Представлены средние и стандартные ошибки средних ($n = 18$ в каждой группе). Для сравнения двух групп количественных данных использовали парный *t*-тест; *** – $p < 0,001$

FIG. 4.

The impact of adding IL-2 to the growth medium on the proliferation of CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes during 7 days of *in vitro* stimulation. The means and standard errors of the means are presented ($n = 18$ in each group). Paired *t*-test was used to compare two groups of quantitative data; *** – $p < 0.001$

Таким образом, было определено, что добавление ИЛ-2 в среду для культивирования повышает как жизнеспособность, так и пролиферативную способность Т-лимфоцитов, прошедших длительную криоконсервацию.

Модификация протокола разморозки мононуклеарных лейкоцитов введением этапа «отдыха» клеток. Проведено исследование трёх протоколов разморозки клеток: без «отдыха», с часовым или ночным «отдыхом». В каждом случае культуральная среда содержала в своём составе ИЛ-2.

Установлен негативный эффект «отдыха» на жизнеспособность мононуклеарных лейкоцитов в культуре. Подсчёт клеток через 7 суток инкубации с ФГА показал, что по сравнению с пробами «С» число лейкоцитов в пробах «Ч» ($p < 0,05$) и «Н» ($p < 0,001$) было снижено (рис. 5а). Важно отметить, что длительность «отдыха» существенно влияла на жизнеспособность стимулированных клеток: различия между пробами «Ч» и «Н» были статистически значимыми ($p < 0,05$). При этом в пробах «Н» доля сохранившихся клеток была снижена более чем в 2 раза по сравнению с таковой в пробах «С». Кроме того, оказалось, что стимулированные клетки были более чувствительными к негативным эффектам «отдыха», чем покоящиеся элементы. В культурах без добавления ФГА различия численности клеток выявлены только между пробами «С» и «Н» ($p < 0,05$).

Анализ пролиферативной способности CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов подтвердил, что «отдых» является негативным фактором. Так, было показано, что количество дочерних генераций, формируемых стимулированными CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами, снижается при включении этапа «отдых» любого временного режима в протокол исследования (рис. 5б).

Примечательно, что относительное количество вступивших в деление CFSE^{low} клеток среди стимулированных CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов не зависело от типа «отдыха» ($p > 0,05$; рис. 5в).

Введение в протокол разморозки ночного «отдыха» существенно увеличивало процентное содержание гибнущих клеток среди вступивших в деление CD4⁺ Т-лимфоцитов, стимулированных в условиях *in vitro* в течение 7 суток (рис. 5г). Этот феномен не был отмечен при анализе CD8⁺ Т-клеток.

Таким образом, включение этапа «отдых» в протокол разморозки мононуклеарных лейкоцитов с последующим культивированием стимулированных клеток в течение 7 суток негативно сказывается на жизнеспособности и пролиферативной способности CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов. Рекомендуется приступать к работе с культурами клеток сразу после оттаивания криоконсервированных мононуклеарных лейкоцитов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее исследование поднимает ряд фундаментальных вопросов, касающихся особенностей изучения функциональной активности Т-лимфоцитов с применением клеток, прошедших криоконсервацию.

При проведении исследования нами было определено, что через 7 суток культивирования оттаявших после длительной ($40 \pm 1,4$ мес.) криоконсервации клеток в среднем в пробе сохраняется лишь треть от их изначально внесённого количества. Ранее при культивировании мононуклеарных лейкоцитов, не подвергавшихся заморозке, нами не было отмечено такого существенного снижения их численности. Анализ литературных источников подтвердил, что высокая склонность к гибели является характерной чертой клеток, прошедших процедуры криоконсервации и оттаивания [15].

Известно, что замораживание и размораживание запускают процессы, ведущие к клеточной смерти – некрозу и апоптозу. Некроз является следствием повреждения мембран внутриклеточными кристаллами льда и осмотическим стрессом. Причиной апоптоза могут быть различные факторы, в том числе физический стресс, вызванный изменением морфологии клетки; активация рецепторов смерти; накопление в цитозоле свободных радикалов; активация каскада каспаз [16, 17]. При использовании оптимального протокола криоконсервации основной причиной гибели размороженных клеток в культуре является апоптоз [15]. Было показано, что значительное количество Т-лимфоцитов постоянно запускает программу гибели, что приводит к статистически значимому сокращению доли жизнеспособных клеток уже через сутки

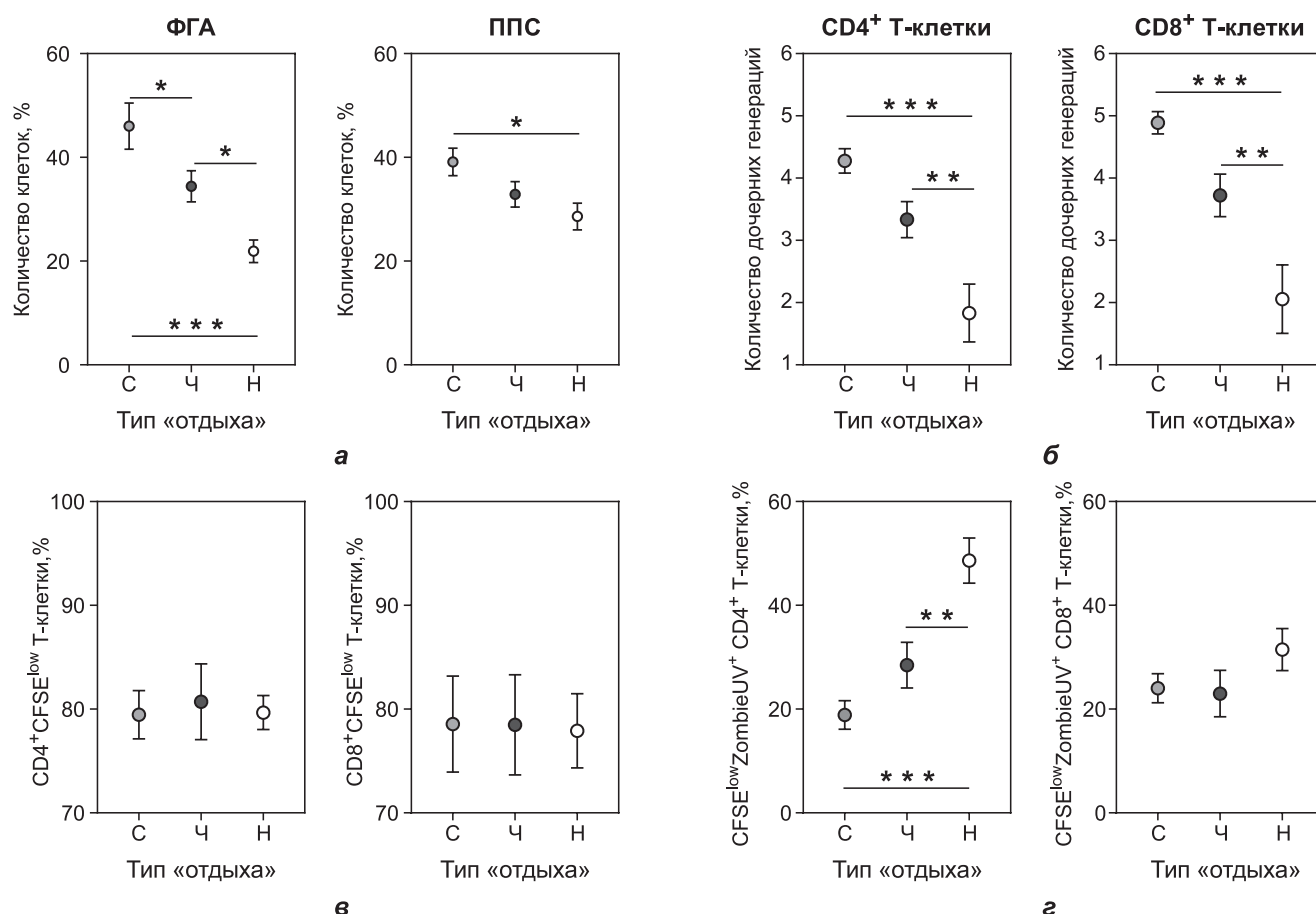


РИС. 5.

Влияние типа «отдыха» оттаявших после криоконсервации на параметры клеток в 7-суточной культуре (представлены средние и стандартные ошибки средних): **а** – численность мононуклеарных лейкоцитов в стимулированных и контрольных пробах; **б** – количество дочерних генераций стимулированных Т-лимфоцитов; **в** – доля пролиферирующих Т-лимфоцитов; **г** – процент Т-лимфоцитов, гибнущих в процессе деления. Типы «отдыха»: С – сразу после оттаивания (без «отдыха»; n = 18); Ч – часовой «отдых» (n = 18); Н – ночной «отдых» (n = 18). Для сравнения групп количественных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ; множественные сравнения между группами проводили с помощью критерия Тьюки; * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001

FIG. 5.

Effect of the type of "rest" on the thawed cells parameters in a 7-day culture (the means and standard errors of the means are presented). **a** – number of mononuclear leucocytes in stimulated and control samples; **b** – number of daughter T cell generations in stimulated samples; **v** – number of proliferating T lymphocytes; **g** – number of T cells dying while dividing. Types of "rest": C – immediately after thawing (without "rest"; n = 18); Ч – hourly "rest" (n = 18); Н – overnight "rest" (n = 18). One-way analysis of variance was used to compare groups of quantitative data; multiple comparisons between groups were performed using Tukey's test; * – p < 0.05; ** – p < 0.01; *** – p < 0.001

после начала инкубации. Исходя из того, что стимуляция оттаявших клеток цитокинами может значительно повысить жизнеспособность культивируемых клеток [15], мы исследовали эффект внесения ИЛ-2 в культуральную среду на функциональность Т-лимфоцитов, размороженных после длительной криоконсервации.

ИЛ-2, как и другие цитокины с общей гамма-цепью, принято рассматривать в качестве фактора выживания Т-лимфоцитов *in vivo* и *in vitro* [18, 19]. Известно, что под воздействием ИЛ-2 активируются тирозинкиназы Янус-киназы (Jak) 1 и Jak3, примыкающие к цитоплазматическим фрагментам цепей цитокиновых рецепторов [20]. Эти ферменты фосфорилируют остатки тирозина, локализованные в цепях рецепторов, что созда-

ёт сайты для связывания и фосфорилирования адаптерного белка Shc и транскрипционного фактора STAT5 (преобразователь сигнала и активатор транскрипции 5) [21]. Фосфорилированный Shc активирует несколько сигнальных путей, минимум один из которых – PI3K/Akt (путь фосфатидилинозитол-3-киназы/протеинкиназы B) – играет важную роль в пролиферации Т-клеток [22]. В свою очередь фосфорилирование молекул STAT5, их димеризация и транслокация в ядро стимулируют экспрессию генов, участвующих в делении и защищающих лимфоциты от апоптоза [23].

В наших исследованиях было подтверждено позитивное влияние внесённого в культуральную среду ИЛ-2 на жизнеспособность и пролиферативную ак-

тивность размороженных после криоконсервации Т-клеток. В присутствии этого цитокина мы наблюдали менее выраженное сокращение численности лейкоцитов в культуре и увеличение количества дочерних генераций при стимуляции Т-лимфоцитов. Однако культивируемые клетки по-прежнему массово умирали: их количество существенно сократилось после 7 суток инкубации.

Наиболее выраженный эффект ИЛ-2 оказывал на стимулированные CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоциты. По-видимому, более высокая чувствительность этих клеток обусловлена особенностью экспрессии рецептора, связывающего цитокин. Высокоаффинный рецептор к ИЛ-2 является комплексом трёх цепей: CD25, CD122 и CD132 [24]. На покоящихся Т-клетках в ограниченном количестве экспрессируются только две из них – CD122 и CD132. Связывая ИЛ-2, они могут формировать промежуточный по аффинности комплекс, способный передавать сигнал внутрь клетки. Стимулированные Т-лимфоциты в свою очередь индуцируют экспрессию CD25, что позволяет активированным Т-клеткам формировать примерный высокоаффинный рецептор, делающий стимулированные лимфоциты более чувствительными к действию цитокина.

Также в настоящем исследовании мы оценили, как введение в протокол разморозки клеток этапа «отдыха» влияет на функциональность прошедших криоконсервацию Т-лимфоцитов. Ранее несколько исследований [7–10], хотя и не все [25], продемонстрировали позитивные эффекты «отдыха»: снижение неспецифической продукции цитокинов Т-клетками; увеличение количества активных и доли полифункциональных Т-лимфоцитов. Все перечисленные феномены были обнаружены с использованием метода ELISPOT. Представленные авторами результаты, по-видимому, связаны с гибелью склонных к апоптозу Т-клеток в процессе «отдыха», что способствует увеличению доли истинно жизнеспособных лимфоцитов в анализируемом образце [9]. Это актуально ввиду того, что присутствие апоптотических клеток может снижать функциональность живых CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов [26] и препятствовать процессингу антигенов [27].

Как было отмечено выше, при культивировании оттаявшие после криоконсервации Т-клетки постоянно запускают процессы программируемой гибели [15], что проявилось в постепенном увеличении количества мёртвых и умирающих Т-лимфоцитов в поставленной нами 7-суточной культуре моноклеарных лейкоцитов. Можно предположить, что накопление апоптотических клеток при многосуточном культивировании оказывает негативный эффект на функциональную способность оставшихся Т-лимфоцитов, что не было отмечено при непродолжительных по времени исследованиях методом ELISPOT. Действительно, в нашем исследовании дополнительный «отдых» клеток (как часовой, так и ночной) приводил к существенному снижению численности лейкоцитов и увеличению доли апоптотических Т-лимфоцитов после 7 суток инкубации. Более того, мы отметили уменьшение количества дочерних

генераций среди прошедших «отдых» стимулированных Т-лимфоцитов без изменения доли CFSE^{low} клеток. Вероятно, в таких культурах по сравнению с образцами, где этап «отдыха» был исключён из протокола работы, большее число клеток вступают в деление, однако они совершают меньше митозов.

Следует отметить некоторые ограничения настоящего исследования. Во-первых, мы не воспроизвели результаты других научных групп и потому можем лишь предполагать, что «отдых» оказывает положительное влияние при последующих кратковременных исследованиях (например, методом ELISPOT), но негативное при дальнейшем более продолжительном культивировании клеток (в нашей работе – 7 суток). Во-вторых, для модификации ППС нами был использован единственный цитокин – ИЛ-2, эффектами которого могут быть не только стимулирование пролиферации Т-лимфоцитов, но также индукция регуляторных Т-клеток и запуск активационно-индуцированного апоптоза эффекторных элементов [28]. В дальнейших исследованиях мы предполагаем вносить в культуральную среду другие цитокины семейства ИЛ-2, в т. ч. ИЛ-7 и ИЛ-15, которые, как известно, эффективно поддерживают жизнеспособность и пролиферацию Т-лимфоцитов [29].

Невзирая на ограничения, следует подчеркнуть, что в настоящем исследовании мы впервые оценили влияние «отдыха» на результаты оценки пролиферативной способности и жизнеспособности при культивировании прошедших длительную (40 ± 1,4 мес.) криоконсервацию Т-лимфоцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные побуждают к созданию новых протоколов работы с оттаявшими после криоконсервации моноклеарными лейкоцитами. Очевидно, что внесение экзогенных цитокинов может увеличить жизнеспособность и функциональную активность размороженных Т-клеток, приближая их состояние к таковому свежесыведенных лимфоцитов. Подбор оптимального сочетания компонентов среды для культивирования клеток позволит получать данные, более объективно отражающие процессы, происходящие *in vivo*. Обращает на себя внимание и то, что «отдых» моноклеарных лейкоцитов после оттаивания оказывает негативный эффект на жизнеспособность и пролиферативную активность стимулированных Т-лимфоцитов при недельной инкубации. Это ещё раз подчёркивает необходимость оптимизации исследовательских протоколов.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания № 124021900006-5.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Исследования материалов и вещества» ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН.

Соблюдение этических норм

План исследования был утверждён этическим комитетом (рег. № IRB00008964; протокол № 31 от 03.03.2017). Каждый донор крови предоставил письменное информированное согласие. Все процедуры, выполненные в рамках исследований с участием людей, соответствовали этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 1964 г. и её последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Annaratone L, De Palma G, Bonizzi G, Sapino A, Botti G, Berrino E, et al. Basic principles of biobanking: From biological samples to precision medicine for patients. *Virchows Arch.* 2021; 479(2): 233-246. doi: 10.1007/s00428-021-03151-0
- Capelle CM, Ciré S, Ammerlaan W, Konstantinou M, Balling R, Betsou F, et al. Standard peripheral blood mononuclear cell cryopreservation selectively decreases detection of nine clinically relevant T cell markers. *Immunohorizons.* 2021; 5(8): 711-720. doi: 10.4049/immunohorizons.2100049
- Li B, Yang C, Jia G, Liu Y, Wang N, Yang F, et al. Comprehensive evaluation of the effects of long-term cryopreservation on peripheral blood mononuclear cells using flow cytometry. *BMC Immunol.* 2022; 23(1): 30. doi: 10.1186/s12865-022-00505-4
- Freer G, Rindi L. Intracellular cytokine detection by fluorescence-activated flow cytometry: Basic principles and recent advances. *Methods.* 2013; 61(1): 30-38. doi: 10.1016/j.jmeth.2013.03.035
- Horton H, Thomas EP, Stucky JA, Frank I, Moodie Z, Huang Y, et al. Optimization and validation of an 8-color intracellular cytokine staining (ICS) assay to quantify antigen-specific T cells induced by vaccination. *J Immunol Methods.* 2007; 323(1): 39-54. doi: 10.1016/j.jim.2007.03.002
- Santos R, Buying A, Sabri N, Yu J, Gringeri A, Bender J, et al. Improvement of IFNg ELISPOT performance following overnight resting of frozen PBMC samples confirmed through rigorous statistical analysis. *Cells.* 2015; 4(1): 1-18. doi: 10.3390/cells4010001
- Janetzki S, Panageas KS, Ben-Porat L, Boyer J, Britten CM, Clay TM, et al. Results and harmonization guidelines from two large-scale international ELISPOT proficiency panels conducted by the Cancer Vaccine Consortium (CVC/SVI). *Cancer Immunol Immunother.* 2008; 57(3): 303-315. doi: 10.1007/s00262-007-0380-6
- Britten CM, Gouttefangeas C, Welters MJ, Pawelec G, Koch S, Ottensmeier C, et al. The CIMT-monitoring panel: A two-step approach to harmonize the enumeration of antigen-specific CD8⁺ T lymphocytes by structural and functional assays. *Cancer Immunol Immunother.* 2008; 57(3): 289-302. doi: 10.1007/s00262-007-0378-0
- Kutscher S, Dembek CJ, Deckert S, Russo C, Körber N, Bogner JR, et al. Overnight resting of PBMC changes functional signatures of antigen specific T cell responses: Impact for immune monitoring within clinical trials. *PLoS One.* 2013; 8(10): 76215. doi: 10.1371/journal.pone.0076215
- Boaz MJ, Hayes P, Tarragona T, Seamons L, Cooper A, Birungi J, et al. Concordant proficiency in measurement of T-cell immunity in human immunodeficiency virus vaccine clinical trials by peripheral blood mononuclear cell and enzyme-linked immunospot assays in laboratories from three continents. *Clin Vaccine Immunol.* 2009; 16(2): 147-155. doi: 10.1128/CVI.00326-08
- Wang H, Tsao ST, Gu M, Fu C, He F, Li X, et al. A simple and effective method to purify and activate T cells for successful generation of chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells from patients with high monocyte count. *J Transl Med.* 2022; 20(1): 608. doi: 10.1186/s12967-022-03833-6
- Mora-Buch R, Tomás-Marín M, Enrich E, Antón-Iborra M, Martorell L, Valdivia E, et al. Virus-specific T cells from cryopreserved blood during an emergent virus outbreak for a potential off-the-shelf therapy. *Transplant Cell Ther.* 2023; 29(9): 572.e1-572.e13. doi: 10.1016/j.jtct.2023.06.001
- Herda S, Heimann A, Obermayer B, Ciraolo E, Althoff S, Ruß J, et al. Long-term *in vitro* expansion ensures increased yield of central memory T cells as perspective for manufacturing challenges. *Int J Cancer.* 2021; 148(12): 3097-3110. doi: 10.1002/ijc.33523
- Clarkson BD, Johnson RK, Bingel C, Lothaller C, Howe CL. Preservation of antigen-specific responses in cryopreserved CD4(+) and CD8(+) T cells expanded with IL-2 and IL-7. *J Transl Autoimmun.* 2022; 5: 100173. doi: 10.1016/j.jtauto.2022.100173
- Sarkar S, Kalia V, Montelaro RC. Caspase-mediated apoptosis and cell death of rhesus macaque CD4⁺ T-cells due to cryopreservation of peripheral blood mononuclear cells can be rescued by cytokine treatment after thawing. *Cryobiology.* 2003; 47(1): 44-58. doi: 10.1016/s0011-2240(03)00068-3
- Baust JM, Buskirk RV, Baust JG. Cell viability improves following inhibition of cryopreservation-induced apoptosis. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2000; 36(4): 262. doi: 10.1290/1071-2690(2000)036<0262:cvifio>2.0.co;2
- Fu Y, Dang W, He X, Xu F, Huang H. Biomolecular pathways of cryoinjuries in low-temperature storage for mammalian specimens. *Bioengineering (Basel).* 2022; 9(10): 545. doi: 10.3390/bioengineering9100545
- Benczik M, Gaffen SL. The interleukin (IL)-2 family cytokines: Survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes. *Immunol Invest.* 2004; 33(2): 109-142. doi: 10.1081/imm-120030732
- Abbas AK. The surprising story of IL-2: From experimental models to clinical application. *Am J Pathol.* 2020; 190(9): 1776-1781. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.05.007
- Leonard WJ, O'Shea JJ, Jaks and STATs: Biological implications. *Annu Rev Immunol.* 1998; 16: 293-322. doi: 10.1146/annurev.immunol.16.1.293
- Friedmann MC, Migone TS, Russell SM, Leonard WJ. Different interleukin 2 receptor beta-chain tyrosines couple to at least two signaling pathways and synergistically mediate interleukin 2-induced proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996; 93(5): 2077-2082. doi: 10.1073/pnas.93.5.2077
- Lali FV, Crawley J, McCulloch DA, Foxwell BM. A late, prolonged activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway is required for T cell proliferation. *J Immunol.* 2004; 172(6): 3527-3534. doi: 10.4049/jimmunol.172.6.3527

23. Mui AL, Wakao H, O'Farrell AM, Harada N, Miyajima A. Interleukin-3, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interleukin-5 transduce signals through two forms of STAT5. *J Leukoc Biol.* 1995; 57(5): 799-803. doi: 10.1002/jlb.57.5.799
24. Malek TR, Castro I. Interleukin-2 receptor signaling: At the interface between tolerance and immunity. *Immunity.* 2010; 33(2): 153-165. doi: 10.1016/j.immuni.2010.08.004
25. Kuerten S, Batoulis H, Recks MS, Karacsony E, Zhang W, Subbramanian RA, et al. Resting of cryopreserved PBMC does not generally benefit the performance of antigen-specific T cell ELISPOT assays. *Cells.* 2012; 1(3): 409-427. doi: 10.3390/cells1030409
26. Smith JG, Joseph HR, Green T, Field JA, Wooters M, Kaufhold RM, et al. Establishing acceptance criteria for cell-mediated-immunity assays using frozen peripheral blood mononuclear cells stored under optimal and suboptimal conditions. *Clin Vaccine Immunol.* 2007; 14(5): 527-537. doi: 10.1128/0014-8177.14.5.527
27. Lenders K, Ogunjimi B, Beutels P, Hens N, Van Damme P, Berneman ZN, et al. The effect of apoptotic cells on virus-specific immune responses detected using IFN-gamma ELISPOT. *J Immunol Methods.* 2010; 357(1-2): 51-54. doi: 10.1016/j.jim.2010.03.00128
28. Zorn E, Nelson EA, Mohseni M, Porcheray F, Kim H, Litsa D, et al. IL-2 regulates FOXP3 expression in human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells through a STAT-dependent mechanism and induces the expansion of these cells *in vivo*. *Blood.* 2006; 108(5): 1571-1579. doi: 10.1182/blood-2006-02-004747
29. Oh S, Berzofsky JA, Burke DS, Waldmann TA, Perera LP. Coadministration of HIV vaccine vectors with vaccinia viruses expressing IL-15 but not IL-2 induces long-lasting cellular immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100(6): 3392-3397. doi: 10.1073/pnas.0630592100

Сведения об авторах

Сайдакова Евгения Владимировна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН; профессор биологического факультета, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: radimira@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4342-5362>

Королевская Лариса Борисовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории экологической иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: bioqueen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9840-7578>

Пономарева Валерия Николаевна – студент биологического факультета, ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», e-mail: ponomarevav@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0000-9863-8907>

Власова Виолетта Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1656-7277>

Information about the authors

Evgeniya V. Saidakova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS – Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; Professor at the Biological Faculty, Perm State University, e-mail: radimira@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4342-5362>

Larisa B. Korolevskaya – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Ecological Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS – Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: bioqueen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9840-7578>

Valeria N. Ponomareva – Student, Perm State University, e-mail: ponomarevav@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0000-9863-8907>

Violetta V. Vlasova – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Immunology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS – Branch of the Perm Federal Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: violetbaudelaire73@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1656-7277>

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ EPIDEMIOLOGY

ПАРЕНТЕРАЛЬНЫЕ ХРОНИЧЕСКИЕ ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ В АРКТИЧЕСКОЙ ЗОНЕ РЕСПУБЛИКИ САХА (ЯКУТИЯ) КАК ВАЖНЕЙШАЯ МЕДИКО-СОЦИАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА

Слепцов С.С.¹,
Слепцова С.С.²

¹ ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем» (677000, г. Якутск, ул. Ярославского, 6/3, Россия)

² ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (677000, г. Якутск, ул. Белинского, 58, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Слепцова Снежана Спиридоновна,
e-mail: sssleptsova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. Тяжёлое течение парентеральных вирусных гепатитов и дальнейшая их хронизация связаны с наличием иммунодефицитных состояний, частота которых значительно возрастает в условиях сурового климата. В данной статье рассматривается распространение парентеральных вирусных гепатитов в Арктической зоне Республики Саха (Якутия) (РС(Я)) и вопросы организации медицинской помощи больным хроническими вирусными гепатитами (ХВГ) на уровне региона.

Цель исследования. Провести анализ показателей заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами в арктических районах Якутии для совершенствования мероприятий системы здравоохранения на примере труднодоступных отдалённых территорий.

Методы. В работе использованы материалы официальной статистики территориального управления Роспотребнадзора по РС(Я) за 2000–2022 гг. и сведения из регистра «Хронические вирусные гепатиты в РС(Я)».

Результаты. В арктических районах Якутии отмечается неблагоприятное по хроническим формам вирусных гепатитов В, С и D, а также по их исходам, таким как цирроз и рак печени, приводящим к ранней инвалидизации и смертности. В общей структуре преобладает инфекция, вызванная вирусом гепатита В, что свидетельствует о наличии семейных очагов инфекции. Всё это требует комплекса не только лечебных, но и углублённых противоэпидемиологических мероприятий.

Заключение. Сложная эпидемиологическая ситуация по парентеральным вирусным гепатитам, обусловленная экстремальными природно-климатическими условиями, генетическими особенностями коренного населения и отсутствием медучреждений, специализирующихся на лечении ХВГ, диктует необходимость усиления в Арктической зоне Якутии систематических выездных мониторинговых исследований и телемедицинских консультаций. Благодаря этому жители труднодоступных районов Арктической зоны РС(Я) смогут получать целевую субсидированную помощь для лечения ХВГ без выезда в Якутск.

Ключевые слова: парентеральные вирусные гепатиты, цирроз, рак, Якутия, Арктическая зона, организация здравоохранения

Статья поступила: 09.01.2024
Статья принята: 03.06.2024
Статья опубликована: 15.07.2024

Для цитирования: Слепцов С.С., Слепцова С.С. Парентеральные хронические вирусные гепатиты в Арктической зоне Республики Саха (Якутия) как важная медико-социальная проблема. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 266-273. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.27

PARENTERAL CHRONIC VIRAL HEPATITIS IN THE ARCTIC ZONE OF THE REPUBLIC OF SAKHA (YAKUTIA) AS THE MOST IMPORTANT MEDICAL AND SOCIAL PROBLEM

Sleptsov S.S.¹,
Sleptsova S.S.²

¹ Yakutsk Scientific Center
for Complex Medical Problems
(Yaroslavskogo str. 6/3, Yakutsk 677000,
Russian Federation)

² North-Eastern Federal University
(Belinskogo str. 58, Yakutsk 677000,
Russian Federation)

Corresponding author:
Snezhana S. Sleptsova,
e-mail: sssleptsova@yandex.ru

ABSTRACT

Background. The severe course of parenteral viral hepatitis and their further chronicity are associated with the presence of immunodeficiency disorders, frequency of which increases significantly in harsh climate. The article discusses the spread of parenteral viral hepatitis in the Arctic zone of the Republic of Sakha (Yakutia) and the issues of organizing medical care for patients with chronic viral hepatitis at the regional level.

The aim of the study. To analyze the incidence rates of parenteral viral hepatitis in the Arctic regions of Yakutia in order to improve the health care system using the example of remote areas of hard access.

Methods. The work uses materials from official statistics of the territorial department of Rospotrebnadzor for the Republic of Sakha (Yakutia) for 2000–2022 and information from the “Chronic viral hepatitis in the Republic of Sakha (Yakutia)” register.

Results. In the Arctic regions of Yakutia, problems are observed in chronic forms of viral hepatitis B, C and D, as well as in their outcomes, such as cirrhosis and liver cancer, leading to early disability and mortality. In the general structure, hepatitis B infection prevails, which indicates the presence of family foci of infection. All this requires a complex of not only therapeutic, but also advanced anti-epidemiological measures.

Conclusion. The difficult epidemiological situation regarding parenteral viral hepatitis, caused by extreme natural and climatic conditions, genetic characteristics of the indigenous population and the lack of medical institutions specializing in the treatment of chronic viral hepatitis, dictates the need to strengthen systematic on-site monitoring studies and telemedicine consultations in the Arctic zone of Yakutia. Thanks to this, residents of hard-to-reach areas of the Arctic zone of the Republic of Sakha (Yakutia) will be able to receive targeted subsidized care for the treatment of chronic hepatitis without traveling to Yakutsk.

Key words: parenteral viral hepatitis, cirrhosis, cancer, Yakutia, Arctic zone, health-care organization

Received: 09.01.2024
Accepted: 03.06.2024
Published: 15.07.2024

For citation: Sleptsov S.S., Sleptsova S.S. Parenteral chronic viral hepatitis in the Arctic zone of the Republic of Sakha (Yakutia) as the most important medical and social problem. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(3): 266-273. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.27

ОБОСНОВАНИЕ

Вирусные гепатиты В, С и D остаются одной из актуальных проблем практического здравоохранения. В Российской Федерации (РФ) общее число больных хроническим гепатитом В (ХГВ) составляет более 3 млн чел., хроническим гепатитом С (ХГС) – от 1,5 до 2,5 млн чел., гепатит D зафиксирован более чем у 10 млн чел. [1–3].

Общее количество больных хроническим вирусным гепатитом (ХВГ) в регионе составляет почти 15 тыс. чел., из которых около 1,4 тыс. чел. (9,5 %) проживают в Арктической зоне (АЗ). При этом значительную часть населения в АЗ составляют представители коренных малочисленных народов Севера.

АЗ Якутии характеризуется суровейшими природно-климатическими условиями, низким уровнем социальной инфраструктуры (в т. ч. недостаточным развитием системы здравоохранения) и слабо развитой транспортной доступностью [4]. Всё это обуславливает тяжёлое течение данных заболеваний и высокую их хронизацию [5]. Важно отметить, что вирусы гепатита В, С и D являются важными этиологическими факторами для развития первичного рака [6–8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести анализ показателей заболеваемости вирусными гепатитами в арктических районах Республики Саха (Якутия) для совершенствования мероприятий системы здравоохранения в условиях труднодоступных отдалённых территорий Якутии.

МЕТОДЫ

В работе использованы материалы официальной статистики территориального управления Роспотребнадзора по Республике Саха (Якутия) (РС(Я)) за 2000–

2022 гг. и сведения из регистра больных вирусными гепатитами, разработанного Референс-центром по мониторингу за вирусными гепатитами на базе ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Арктическая зона РС(Я) характеризуется в первую очередь экстремальными климатическими условиями, крайне обширной территорией (1,6 млн км²), очаговым характером промышленно-хозяйственного освоения, значительной долей малых и средних сельских поселений (с количеством жителей до 1 тыс. чел.) и слабо развитой социальной и транспортной инфраструктурой. Всё это создаёт значительные проблемы при организации медицинской помощи. В настоящее время в АЗ РС(Я) входят 13 районов (Абыйский, Аллаиховский, Анабарский, Булунский, Верхнеколымский, Верхоянский, Жиганский, Момский, Нижнеколымский, Оленёкский, Среднеколымский, Усть-Янский и Эвено-Бытантайский), в которых проживает около 64 тыс. чел., то есть 6,4 % от населения региона.

Заболеваемость острым гепатитом В (ОГВ) в Якутии, в т. ч. и в Арктической зоне, неуклонно идёт на спад. С начала 2000-х гг. по настоящее время данный показатель снизился до величин, не вызывающих особо беспокойства (рис. 1). Безусловно, это заслуга проводимой широкомасштабной вакцинопрофилактики населения. Так, если в 2000 г. от гепатита В в регионе были вакцинированы 2,6 % граждан, подлежащих вакцинации (до 55 лет), то с 2011 г. этот показатель не снижался менее 95 %. Например, в 2022 г. вакцинировали 764 238 чел. (96,6 %).

За весь период наблюдения наибольший подъём заболеваемости ОГВ был отмечен в 2002 г. В этот период ОГВ регистрировался практически во всех районах, за исключением Анабарского и Среднеколымского, хотя в 2003–2005 и 2008–2009 гг. заболеваемость также превышала общереспубликанские показатели.

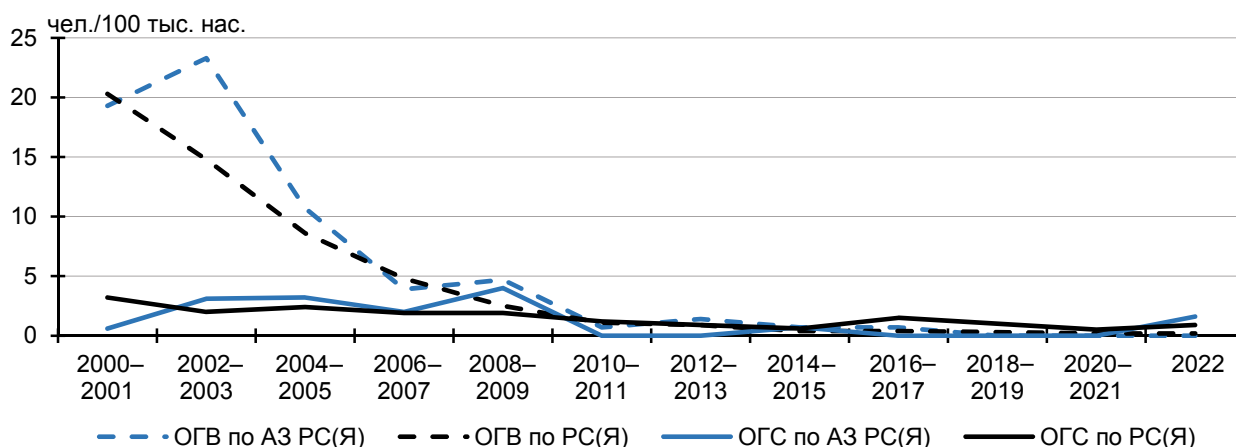


РИС. 1.
Заболеваемость острым гепатитом В (ОГВ) и С (ОГС)
за 2000–2022 гг.

FIG. 1.
Incidence of acute hepatitis B (OGB) and acute hepatitis C (OGC)
in 2000–2022

Заболеваемость острым гепатитом С (ОГС) в РС(Я) также снизилась. ОГС редко протекает в манифестной форме, когда может быть выявлен в фазе заболевания, а хроническое течение характеризуется латентными формами, выявляемыми только при специфической диагностике. Таким образом, в силу недостаточно полного обследования населения Арктики официальные показатели по ОГС могут быть несколько занижены.

Как отмечалось выше, заболеваемость ХГВ в Якутии в течение многолетнего периода, а в особенности в Арктической зоне, значительно выше, чем в среднем по стране (рис. 2). Так, в 2016–2017 гг. этот показатель в АЗ РС(Я) составил 63,5 чел./100 тыс. нас., тогда как по РФ данное значение находилось на уровне 10,2 чел./100 тыс. нас. ($p < 0,05$). В настоящее время в АЗ РС(Я) проживает около 64 тыс. чел., т. е. около 6,4 % от всего населения региона. Тем не менее, из 101 нового случая ХГВ, выявленного в регионе за 2022 г., 15,2 % зафиксированы именно среди жителей Арктики.

В 2023 г. высокую частоту выявляемости маркера гепатита В среди местного населения АЗ РС(Я) в очеред-

ной раз подтвердили сотрудники ГБУ РС(Я) «Республиканский центр общественного здоровья и медицинской профилактики». В результате анализа данных экспресс-тестирования ($n = 1776$) ХГС выявили в 0,6 % случаев, ХГВ – в 3,4 %. Ухудшение течения болезни и высокую степень хронизации при гепатите В вызывает суперинфицирование вирусом гепатита D.

К сожалению, официальная статистика не учитывает данные о заболеваемости хроническим гепатитом D (ХГД), хотя его хронизация приводит к стадии цирроза значительно быстрее, чем при других формах данного заболевания. Проведённые исследования в разных районах Якутии показали исключительно высокую частоту (17,2–31,7 %) обнаружения антител к вирусу гепатита дельта [10]. Вследствие этого приблизительную оценку распространённости ХГД в регионе можно дать лишь по данным инфекционных отделений в Якутии и результатам отдельных скрининговых исследований.

Интенсивность эпидемического процесса ХГС в РС(Я) сильно варьирует. Тем не менее, почти ежегодно регио-

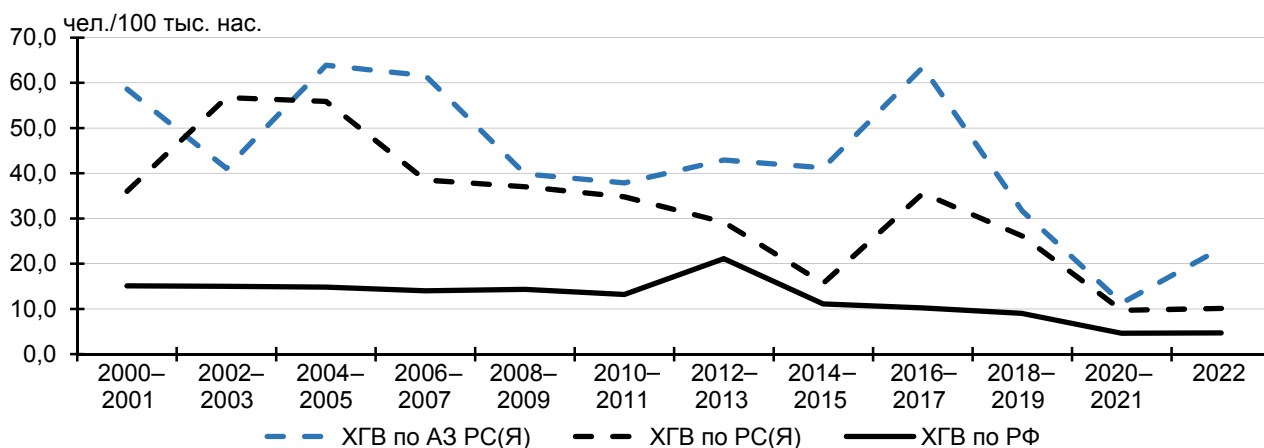


РИС. 2.
Заболеваемость хроническим гепатитом В в Якутии (РС(Я)) и России (РФ)

FIG. 2.
Incidence of chronic hepatitis B in Yakutia (РС(Я)) and Russia (РФ)

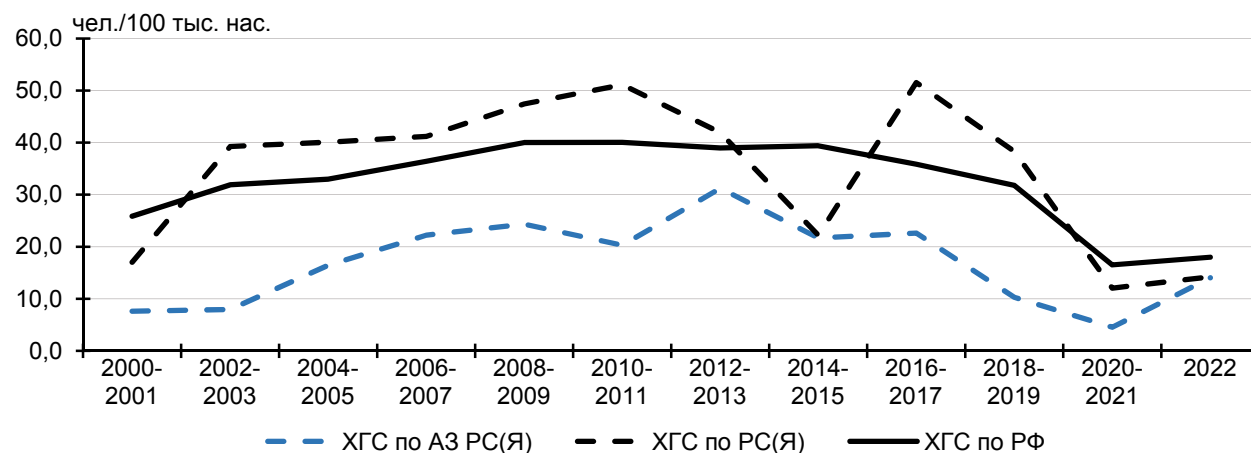


РИС. 3.
Заболеваемость хроническим гепатитом С в Якутии (РС(Я)) и России (РФ)

FIG. 3.
Incidence of chronic hepatitis C in Yakutia (РС(Я)) and Russia (РФ)

нальные показатели заболеваемости гепатитом С превышают аналогичные показатели по стране (рис. 3).

Важно отметить, что относительно низкое количество впервые выявляемых случаев ХГС в АЗ РС(Я) объясняется главным образом тем, что у большинства инфицированных болезнь протекает латентно, а широкомасштабный скрининг на этих территориях не проводился. Не отображают истинной картины и данные по заболеваемости ХГС за 2020–2021 гг., и причиной этого является пандемия COVID-19.

Почти у половины больных ХГС активация иммунитета приводит к хроническому воспалительному состоянию, которое может затронуть ряд органов за пределами печени [11]. Согласно более ранним нашим исследованиям, внепечёночные проявления чаще диагностируются у женщин (58,8 %), представителей коренных национальностей (67,4 %), а также у больных, не получавших противовирусного лечения (65,6 %) [12]. Наиболее часто встречались: суставной синдром – у 56,4 %; когнитивные нарушения – у 35,2 %; сахарный диабет 2-го типа – у 31,7 %; поражение сердечно-сосудистой системы (ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия) – у 37,6 %, и т. д. (рис. 4).

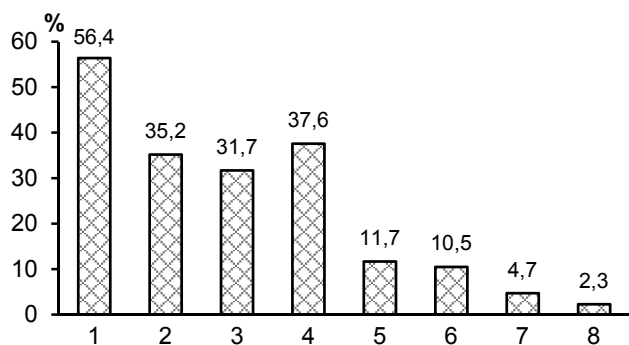


РИС. 4.

Внепечёночные осложнения у пациентов с инфекцией, вызванной вирусом гепатита С: 1 – суставной синдром; 2 – когнитивные нарушения; 3 – сахарный диабет 2-го типа; 4 – поражение сердечно-сосудистой системы; 5 – гипо- и гипертиреоз; 6 – нарушение зрения; 7 – нарушение слуха; 8 – гломерулонефрит

FIG. 4.

Extrahepatic complications in patients with HCV infection: 1 – joint syndrome; 2 – cognitive impairment; 3 – diabetes mellitus type 2; 4 – cardiovascular disease; 5 – hypo- and hyperthyroidism; 6 – vision impairment; 7 – hearing impairment; 8 – glomerular nephritis

В 2001–2003 гг. исследования по изучению распространённости вирусных гепатитов В, дельта и С в Арктической зоне проведены сотрудниками ФГНУ «Институт здоровья». Были обследованы школьники, призывники, а также работники образовательных и медицинских учреждений ($n = 4049$) из Абыйского, Верхоянского, Жиганского и Эвено-Бытантайского улусов. Больше всего HBsAg-позитивных лиц было выявлено в Эвено-

Бытантайском ($n = 128$) и Жиганском ($n = 96$) улусах. Из 1150 обследованных антитела к гепатиту С обнаружены у 23 (2 %) человек, в основном из Жиганского района (12 чел.). Из общей массы обследованных с гепатитом D ($n = 106$) антитела выявлены у 8,5 %, преимущественно у обследованных из Жиганского и Абыйского районов. Согласно мнению автора, полученные данные свидетельствуют о неблагополучии по гепатиту D в Арктической зоне [10].

Одним из достижений инфекционной службы РС(Я) является запуск электронного регистра (ЭР) «Хронические вирусные гепатиты РС(Я)», внедрённого в систему здравоохранения региона в качестве пилотного проекта в ноябре 2012 г. В отличие от имеющихся статистических форм учёта, ЭР даёт возможность для более полноценного анализа заболеваемости и неблагоприятных исходов ХВГ как в целом по республике, так и отдельно по районам. Всё это позволяет существенно усовершенствовать систему оказания медицинской помощи.

По состоянию на октябрь 2023 г. ЭР содержит сведения о 14 781 чел. (табл. 1). С циррозом печени вирусной этиологии по региону состоят на учёте 484 пациента, из них с ХГВ без дельта-агента – 75 (15,5 %), с ХГД – 207 (42,8 %), с ХГС – 186 (38,4 %), с микст-инфекцией – 16 (3,3 %). С первичным раком печени на учёте состоят 47 человек, из них с ХГВ – 9 (19,1 %), с ХГД – 10 (21,3 %), с ХГС – 26 (55,3 %), с микст-инфекцией – 2 (4,3 %).

Из общего количества людей в ЭР 9,5 % являются жителями АЗ. Наибольшее число лиц с ХВГ в АЗ зарегистрировано в Булунском, Жиганском, Верхоянском, Оленекском и Среднеколымском районах, наименьшее – в Момском, Нижнеколымском и Эвено-Бытантайском районах. Цирроз печени зафиксирован у 54 (11,2 %) чел.; в Жиганском районе также выявлен больной с гепатоцеллюлярной карциномой в исходе гепатита D. В целом, как показали исследования, осложнения ХВГ развиваются чаще у мужчин (76,0 %). Цирроз печени в 51,8 % (28 чел.) вызван вирусом гепатита D, в 27,8 % (15 чел.) – вирусом гепатита В, в 16,7 % (9 чел.) – вирусом гепатита С. Микст-гепатиты вызвали развитие цирроза печени в 3,7 % (2 чел.). Чаще всего циррозы диагностированы у пациентов из Верхоянского, Жиганского и Оленекского районов. Нет случаев цирроза в Аллаиховском, Анабарском, Нижнеколымском и Эвено-Бытантайском районах.

Среди лиц, состоящих на учёте в АЗ РС(Я), за 2021–2022 гг. от гепатита и его осложнений умерли 22 человека, в том числе 9 чел. от гепатита В, 7 чел. от гепатита С, 6 чел. от гепатита D. Значительная часть умерших являлись жителями Среднеколымского (6 чел.), Верхоянского (4 чел.), Абыйского (4 чел.) и Жиганского (3 чел.) улусов.

В структуре ХВГ по АЗ наибольший удельный вес занимает гепатит В (66,4 %), затем – гепатит С (21,7 %). Интересно, что соотношение инфекции, вызванной вирусами гепатитов В и С в среднем по региону одинаковое. Этот факт косвенно свидетельствует об эпидемиологической актуальности гепатита В для популяции коренного населения республики. В распространении инфекции, вызванной вирусом гепатита В, основным является внутрисемейный путь передачи. Исходя из этого необхо-

ТАБЛИЦА 1
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ
ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ ПО ЭТИОЛОГИИ
ПО ДАННЫМ РЕГИСТРА

Диагноз	РС(Я)		АЗ РС(Я)		
	чел.	%	чел.	%	в % от количеств людей в регистре
Гепатит В	6260	42,4	910	66,4	14,5
Гепатит С	6779	45,9	296	21,7	4,4
Гепатит D	1241	8,4	125	9,1	10,1
Микст-гепатит	501	3,3	37	2,8	7,4
Всего	14781	100	1368	100	9,5

TABLE 1
DISTRIBUTION OF PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL
HEPATITIS BY ETIOLOGY ACCORDING TO THE REGISTRY
DATA

димо корректировать проводимые профилактические и противоэпидемические мероприятия, а также усилить в труднодоступных населённых пунктах Арктики комплексные мониторинговые исследования.

Таким образом, АЗ РС(Я) является одной из неблагоприятных территорий региона по заболеваемости хроническими вирусными гепатитами, и это напрямую связано с условиями быта населения, генетическими особенностями коренного населения, а также с отдалённостью их проживания от крупных населённых пунктов. Всё это затрудняет полную лабораторную и инструментальную диагностику и обеспечение комплексом медико-социальной помощи.

Значимым вопросом является неравенство в отношении доступности медицинской помощи в регионе. Например, недостаточное укомплектование медицинских организаций инфекционистами и эпидемиологами в РС(Я) является одним из наиболее проблемных вопросов регионального здравоохранения. По состоянию на 1 января 2023 г. в Якутии насчитывается 89 инфекционистов, из которых только 31 чел. работает в улусах. Важно, что из 13 арктических улусов, где насчитывается около 100 населённых пунктов на общей площади более 1,6 млн км², только в 5 районах есть врачи-инфекционисты (Верхнеколымский, Верхоянский, Жиганский, Нижнеколымский, Оленекский). Ограниченный доступ к медицинским услугам, недостаток медицинского оборудования и персонала в настоящее время являются серьёзной преградой к обеспечению должного уровня здравоохранения для всех жителей Арктики.

Исходя из вышеизложенного с целью снижения заболеваемости и смертности от вирусных гепатитов Министерством здравоохранения РС(Я) подготовлен проект целевой региональной программы «Совершенствование методов оказания медицинской помощи больным хроническими гепатитами В, С и D на 2022–2024 гг. в РС(Я)». С 2021 г. на базе ГБУ РС(Я) «Якутская республиканская клиническая больница» действует Республиканский гепатологический центр, через который прошли курс лечения пациенты с ХВГ со всей территории Якутии (по состоянию на 01.01.2024 – 870 чел.). Лечение

больных гепатитом в РС(Я) занимаются также ряд других медицинских учреждений региона, но все они расположены вне АЗ РС(Я). Поэтому оказание помощи пациентам из отдалённых и труднодоступных территорий Якутии требует более пристального внимания. Исходя из этого с 2024 г. специально для жителей АЗ РС(Я) впервые в регионе выделены целевые субсидии на приобретение противовирусных препаратов для лечения хронического гепатита С. В настоящее время отбор пациентов происходит посредством телемедицинских консультаций, проводимых главным внештатным инфекционистом Минздрава РС(Я). В течение 2024 г. планируется провести лечение 150 жителей АЗ РС(Я).

Учитывая крайне специфичные условия региона, принцип децентрализации является ключевым для повышения доступности и качества оказываемых медицинских услуг в АЗ РС(Я). Также в первую очередь, необходимо внедрить систематическое проведение специфических серологических и вирусологических обследований населения и уделить должное внимание обеспечению АЗ высококвалифицированными специалистами из числа выпускников Медицинского института ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» как основной кузницы кадров республики. Стоит отметить, что только за 2022 г. в республиканской гепатошколе в рамках программы непрерывного медицинского образования прошли обучение 80 врачей, в том числе из арктических районов – 5 человек. Данное мероприятие проводится ежегодно в течение 22 лет с приглашением ведущих российских специалистов. Особое внимание в регионе уделяется повышению осведомлённости по вопросам вирусных гепатитов не только среди медицинских работников, но и среди пациентов и их родственников.

ВЫВОДЫ

Сложная эпидемиологическая ситуация по хроническим вирусным гепатитам, обусловленная экстремальными природно-климатическими условиями, генети-

ческими особенностями коренного населения и отсутствием медучреждений, специализирующихся на лечении ХВГ, диктует необходимость усиления в Арктической зоне Якутии систематических выездных мониторинговых исследований и телемедицинских консультаций. Благодаря этому жители труднодоступных районов АЗ РС(Я) смогут получать целевую субсидированную помощь для лечения ХВГ без выезда в Якутск.

Важными мероприятиями являются устранение кадрового дефицита с повышением престижа профессии врача-инфекциониста, создание комфортных условий труда, повышения заработной платы, совершенствование системы подготовки кадров по инфекционным болезням, увеличение числа целевых направлений. Необходимо также проведение медико-социальных опросов населения по удовлетворённости граждан медицинской помощью с целью оценки и корректировки проводимых Минздравом России мероприятий по улучшению эпидемиологической обстановки и оказываемых населению услуг.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного контракта № 7161 на выполнение НИР «Эффективность системы здравоохранения Арктической зоны Республики Саха (Якутия) в контексте инновационного развития: анализ и прогноз. Этап 1».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Абдурахманов Д.Т., Есмембетов К.И., Никулкина Е.Н., Розина Т.П., Танащук Е.Л., Бурневич Э.З., и др. Хронический гепатит дельта: современное состояние проблемы и перспективы лечения. *Клиническая фармакология и терапия*. 2019; 1(28): 26-34. [Abdurakhmanov DT, Esmembetov KI, Nikulkina EN, Rozina TP, Tanashchuk EL, Burnevich EZ, et al. Chronic hepatitis D: Current state of the art and emerging treatment. *Clinical Pharmacology and Therapy*. 2019; 1(28): 26-34. (In Russ.). doi: 10.32756/0869-5490-2019-1-26-34]
2. Исаева О.В., Кюрегян К.К. Вирусный гепатит дельта: недооцененная угроза. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2019; 2(8): 72-79. [Isaeva OV, Kyuregyan KK. Viral hepatitis delta: An underestimated threat. *Infectious diseases: News, Opinions, Training*. 2019; 2(8): 72-79. (In Russ.). doi: 10.24411/2305-3496-2019-12010]
3. Михайлов М.И., Ющук Н.Д., Малинникова Е.Ю., Кюрегян К.К., Исаева О.В., Знойко О.О., и др. Проект программы по контролю и ликвидации вирусных гепатитов как проблемы общественного здоровья в Российской Федерации. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2018; 7(2): 52-58. [Mikhaylov MI, Yushchuk ND, Malinnikova EYu, Kyuregyan KK, Isaeva OV, Znoyko OO, et al. The design of the program for control and elimination of viral hepatitis as public health problem in the Russian Federation. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2018; 7(2): 52-58. (In Russ.). doi: 10.24411/2305-3496-2018-12005]

4. Полешкина И.О. Транспортная система Республики Саха (Якутия): анализ состояния и проблемы развития. *Мир транспорта*. 2021; 19(4): 82-91. [Poleshkina IO. Transport system of the Republic of Sakha (Yakutia): Analysis of the state and development challenges. *World of Transport and Transportation*. 2021; 19(4): 82-91. (In Russ.). doi: 10.30932/1992-3252-2021-19-4-9]
5. Петрова П.Г. Эколого-физиологические аспекты адаптации человека к условиям Севера. Якутск: Дани АлмаС; 2011. [Petrova PG. *Ecological and physiological aspects of human adaptation to the conditions of the North*. Yakutsk: Dani AlmaS; 2011. (In Russ.).]
6. Кузнецов О.Е., Цыркунов В.М. Вирус-ассоциированный гепатоцеллюлярный рак печени. *Гепатология и гастроэнтерология*. 2021; 5(1): 17-24. [Kuznetsov OE, Tsyркunov VM. Virus-associated hepatocellular liver cancer. *Hepatology and Gastroenterology*. 2021; 5(1): 17-24. (In Russ.). doi: 10.25298/2616-5546-2021-5-1-17-24]
7. Лизонов Д.А., Дунаева Н.В., Чунг Н.Х., Горчакова О.В., Антонова Т.В. Хронический гепатит С: современное состояние проблемы. *Нефрология*. 2019; 23(4): 36-46. [Lioznov DA, Dunaeva NV, Chung NH, Gorchakova OV, Antonova TV. Chronic hepatitis C: Modern condition of the problem. *Nephrology (Saint-Petersburg)*. 2019; 23(4): 36-46. (In Russ.). doi: 10.24884/1561-6274-2019-23-4-36-46]
8. Малов С.И., Орлова Л.С., Степаненко Л.А., Огарков О.Б., Малов И.В., Ющук Н.Д. Оценка некоторых предикторов прогрессирования фиброза печени у больных гепатитом С после успешной элиминации вируса. *Инфекционные болезни*. 2022; 20(1): 64-73. [Malov SI, Orlova LS, Stepanenko LA, Ogarkov OB, Malov IV, Yushchuk ND. Evaluation of predictors of liver fibrosis progression in patients with hepatitis C after successful virus elimination. *Infectious Diseases*. 2022; 20(1): 64-73. (In Russ.). doi: 10.20953/1729-9225-2022-1-64-73]
9. Регистр больных вирусными гепатитами: система мониторинга больных вирусными гепатитами. [Register of patients with viral hepatitis: A monitoring system for patients with viral hepatitis. (In Russ.). URL: <https://hepreg.ru/start.html> [дата доступа: 08.01.2024].]
10. Семенов С.И. Вирусные гепатиты в Республике Саха (Якутия): достижения и результаты изучения на современном этапе. М.; 2023. [Semenov SI. *Viral hepatitis in the Republic of Sakha (Yakutia): Achievements and results of study at the present stage*. Moscow; 2023. (In Russ.).]
11. Чуланов В.П., Пименов Н.Н., Мамонова Н.А., Сагалова О.И., Шестакова И.В., Покровский В.И. Хронический гепатит С как проблема здравоохранения России сегодня и завтра. *Терапевтический архив*. 2015; 87(11): 5-10. [Chulanov VP, Pimenov NN, Mamonova NA, Sagalova OI, Shestakova IV, Pokrovsky VI. Chronic hepatitis C in Russia: Current challenges and prospects. *Terapevticheskii arkhiv*. 2015; 87(11): 5-10. (In Russ.). doi: 10.17116/terarkh201587115-10]
12. Слепцова С.С., Слепцов С.С., Семенова В.К. Сравнительная оценка стратегий оказания медицинской помощи лицам с хроническим гепатитом С в Республике Саха (Якутия). *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*, 2021; 13(1): 88-96. [Sleptsova SS, Sleptsov SS, Semenova VK. Comparative evaluation of various strategies medical care for chronic hepatitis C in the Republic of Sakha (Yakutia). *HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*. 2021; 13(1): 88-96. (In Russ.). doi: 10.22328/2077-9828-2021-13-1-88-96]

Сведения об авторах

Слепцов Спиридон Спиридонович – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории клинко-популяционных и медико-социальных исследований, ФГБНУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем», e-mail: sachaja@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2482-2928>

Слепцова Снежана Спиридоновна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой инфекционных болезней, фтизиатрии и дерматовенерологии, Медицинский институт, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», e-mail: sssleptsova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0103-4750>

Information about the authors

Spiridon S. Sleptsov – Cand. Sc. (Biol.), Docent, Senior Research Officer at the Laboratory of Clinical Population and Medical and Social Research, Yakutsk Scientific Center for Complex Medical Problems, e-mail: sachaja@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2482-2928>

Snezhana S. Sleptsova – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Department of Infectious Diseases, Phthisiology and Dermatovenereology Medical Institute, North-Eastern Federal University, e-mail: sssleptsova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0103-4750>

Формат А4 (60х84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 24.06.2024.
Подписано в печать 10.07.2024, дата выхода в свет 15.07.2024.
Печ. л. 32,5. Усл. печ. л. 31,9. Уч. изд. л. 29.9,9. Зак. 025-24. 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

