

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

16+

# ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 9  
№ 5  
2024





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



# ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Tom 9  
№ 5  
2024

**Главный редактор**

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

**Зам. главного редактора**

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

Сорокиных 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**

Жовкляя 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)

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

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

Подписной индекс 243447. Свободная цена.

ISSN 2541–9420 (Print)

ISSN 2587–9596 (Online)

Ключевое название: Acta Biomedica Scientifica

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



# ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 9  
N 5  
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 № 5 (2024)

**Колесников  
Сергей Иванович**

**Академик РАН**

Большая часть статей очередного выпуска нашего журнала посвящены основным фронтам медицинской науки. Группа авторов из Астрахани и Москвы под руководством академика Д.А. Сычева (Абдуллаев М.А. и соавт.) рассмотрела использование искусственного интеллекта в фармакогенетических исследованиях. О.Б. Кулешова, Э.А. Домонова и академик В.Г. Акимкин (Москва) провели ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости раком шейки матки с 2008 по 2021 г. в России и доказали эффективность принятых профилактических мер борьбы с заболеванием.

Серия статей посвящена как COVID-19, так и постковидному синдрому. Это обзор литературы В.А. Белобородова и соавт. (Иркутск), в котором обращается внимание на необходимость профилактики клинико-неврологических нарушений при тяжёлом течении COVID-19 уже в палате интенсивной терапии. Примыкает к этой работе исследование Е.А. Бейгель и др. (Иркутск, Ангарск), выявивших у пациентов с коморбидной патологией вовлечение в патологический процесс сердечно-сосудистой, нервной и эндокринной систем с ведущим поражением центральной нервной системы и психической сферы. Продолжает эту серию статья Н.А. Ишутиной и И.А. Андриевской (Благовещенск), показавших, что наиболее значимыми факторами, увеличивающими риск осложнений беременности у женщин со среднетяжёлым течением COVID-19, явились высокий уровень арахидоновой кислоты, циклооксигеназы 2 и простагландина E2 в крови. Л.С. Щёголевой и соавт. (Архангельск) показано, что у женщин, переболевших COVID-19, на протяжении 12 месяцев сохраняются клеточно-опосредованная цитотоксичность (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) и активация моноцитарной системы. Завершает этот цикл работа крымских учёных (Белоглазов В.А. и соавт.), успешно применивших наборы эфирных масел для реабилитации нарушений обоняния после COVID-19.

Близки по тематике работы по исследованию заболеваемости и вирусозоонозного спектра. Так, Т.А. Баяновой и соавт. выявлена неблагоприятная ситуация в Иркутской области по заболеваемости респираторными инфекциями и низкий охват населения прививками против гриппа. В совместной работе иркутских и казанских учёных (Козлова И.В. и соавт.) впервые показано сходство геномов и потенциальные детерминанты вирулентности штаммов вируса клещевого энцефалита европейского субтипа, выделенных от больных азиатской части России и Европы. В работе Н.А. Ляпуновой и соавт. (Иркутск) разработана перспективная для применения количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени с обратной транскрипцией для оценки экспрессии генов «домашнего хозяйства» *ACTB* и *SDHA*, что важно для оценки экспрессии генов млекопитающих-хозяев зоонозных инфекций в норме и при патологии.

Ряд работ связаны с особенностями здоровья и заболеваний у жителей Севера. В статье И.В. Аверьяновой и О.О. Алёшиной (Магадан) показано, что у мужчин-северян при переходе температурной кривой через ноль в октябре-ноябре на фоне относительного «гиперкортицизма» наблюдаются активация инсулярного аппарата, повышение уровня инсулина и развитие инсулинорезистентности. В работе Л.И. Копыловой, А.А. Таппахова и Т.Я. Николаевой (Якутск) на материале мужчин-северян с болезнью Паркинсона (БП) предложена прогностическая формула определения уровня качества жизни пациентов с БП. В этой же серии привлекает внимание актуальная экспериментальная работа Е.П. Антоновой и соавт. (Петрозаводск) по оценке влияния фотопериодических условий Северо-Запада России и экзогенного мелатонина на психоэмоциональный статус сирийского хомяка. Это важно не только для понимания поведения сезонно размножающихся видов, но и для регуляции фотопериодики у человека на Севере.

В номер включены очень актуальные исследования, касающиеся здоровья женщин, детей и подростков, что важно для понимания демографических проблем. Причём это волнует не только российских, но и зарубежных исследователей. В работе Мохинур Усмановой и соавт. из Узбекистана (Андижан) подчёркнута важность контроля функции щитовидной железы во время беременности, установлена связь между гипертензией и возрастом, уровнем активности железа и ожирения. В статье М.А. Даренской и соавт. (Иркутск) выявлено, что у русских женщин сочетанный метаболический синдром с синдромом поликистозных яичников в сравнении с моносиндромом сопровождается большим количеством изменений, чем у женщин бурятской этнической группы. Интересна для клинической практики статья белорусских учёных Н.М. Шепетько и соавт. (Минск) по успешному применению аллогенной плазмы крови, обогащённой растворимыми факторами тромбоцитов, для лечения термических ожогов кожи у детей.

Т.А. Астахова и соавт. (Иркутск) посвятили статью актуальной, но редко исследуемой проблеме расстройств пищевого поведения (РПП) у сельских подростков, причём предпосылки формирования РПП выявлены как у мальчиков, так и у девочек. В статье С.Е. Большаковой и соавт. (Иркутск) на большом материале показано, что несоблюдение гигиены сна девочками-подростками нарушает циркадный ритм, регулирующий менструальный цикл. Это поможет ранней диагностике и профилактике нарушений сна и менструальной дисфункции. Этот раздел включает также обзор литературы М.В. Гомелли и соавт. (Иркутск, Москва) показавших, что маркеры антифосфолипидного синдрома выявляются при всех вариантах ювенильного идиопатического артрита.

Несколько статей посвящено проблемам офтальмологии, в частности устройствам и принципам кератометрии (Бойко Э.В. и соавт., Санкт-Петербург). Е.С. Таскина и соавт. показали нарушение баланса между параметрами системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита», зависимость перекисного окисления липидов от аутоиммунного воспаления в орбите при эндокринной офтальмопатии. Неожиданностью для меня оказалось отсутствие зависимости окислительного стресса и тканевой гипоксии. В другой статье А.О. Диреев и Е.В. Егорова (Новосибирск) описали часто встречающиеся при имплантации ущемление и отрыв гаптики интраокулярной линзы, а также способы их хирургической коррекции.

Важна для неинвазивной диагностики состояния миокарда работа коллектива из Ярославля, Белгорода и Москвы, возглавляемого академиком А.Л. Хохловым. Получены прямые положительные корреляционные связи изменения энергетического обмена в лейкоцитах крови и клетках сердца под влиянием цитопротекторов.

Н.Н. Омельчук и соавт. (Москва) разработали экспериментальную модель (молодь рыб *Danio rerio*) оценки защитного действия радиопротекторов. Это важно для апробации действия медпрепаратов при поражениях радиацией, а также для оценки возможности их применения при лучевой терапии.

Перспективно исследование В.В. Быкова и соавт. (Пушино) по получению метионин аминокептидазы (МАП) на базе генома бактерии *Thermus thermophiles* и подтверждению функциональной активности МАП. Фермент может быть использован в различных отраслях биотехнологии.

С.Н. Стяжкина и соавт. (Ижевск, Удмуртия) подтвердили в эксперименте антимикробный эффект отечественного антисептика для применения в хирургической практике.

Многим будет интересен обзор П.О. Фёдоровой (Москва), в котором рассматриваются достоинства и недостатки метода CAR НК-терапии и методы активации и экспансии НК-клеток, а также аспекты создания полноценного биомедицинского клеточного продукта.

**Для цитирования:** Колесников С.И. Предисловие главного редактора к № 5 (2024). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.1

**EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 5, 2024****Sergey I. Kolesnikov****Member of the RAS**

Most of the articles in this issue are devoted to the main frontiers of medical science. A group of authors from Astrakhan and Moscow under the leadership of Member of the RAS D.A. Sychev (Abdullaev M.A. et al.) considered the use of artificial intelligence in pharmacogenetic studies. O.B. Kuleshova, E.A. Domonova and Academician V.G. Akimkin (Moscow) conducted a retrospective epidemiological analysis of the incidence of cervical cancer from 2008 to 2021 in Russia and proved the effectiveness of the preventive measures taken to combat the disease.

A series of articles focuses on both COVID-19 and post-COVID syndrome. This is a review of the literature by V.A. Beloborodov et al., (Irkutsk), where attention is drawn to the need to prevent clinical and neurological disorders in severe COVID-19 in the intensive care unit. This work is related to the study of E.A. Beygel et al. (Irkutsk, Angarsk), who revealed the involvement of the cardiovascular, nervous and endocrine systems in the pathological process in patients with comorbid pathology, with the leading damage to central nervous system and psychic sphere. This series continues with the article by N.A. Ishutina and I.A. Andrievskaya (Blagoveshchensk), who showed that the most significant factors increasing the risk of pregnancy complications in women with moderate COVID-19 were high levels of arachidonic acid, cyclooxygenase 2 and prostaglandin E2 in the blood. L.S. Shchegoleva et al. (Arkhangelsk) showed that women who have had COVID-19 have cell-mediated cytotoxicity (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) and activation of the monocytic system for 12 months. This series is completed by the work of Crimean scientists (Beloglazov V.A. et al.), who have successfully used sets of essential oils to rehabilitate smell disorders after COVID-19.

Similar in subject are the works on the study of morbidity and viruses of the zoonotic spectrum. Thus, T.A. Bayanova et al. revealed an unfavorable situation in the Irkutsk region in terms of the incidence of respiratory infections and low coverage of the population with influenza vaccinations. For the first time, the similarity of genomes and potential determinants of virulence of strains of the tick-borne encephalitis virus of the European subtype isolated from patients in the Asian part of Russia and Europe were shown. In the work of N.A. Liapunova et al. (Irkutsk), a promising quantitative polymerase chain reaction was developed to assess the expression of the "household" genes *ACTB* and *SDHA*, which is important for assessing the gene expression of mammalian hosts of zoonotic infections in normal and pathological conditions.

A number of works are related to the peculiarities of health and diseases in the inhabitants of the North. In the article by I.V. Averyanova and O.O. Alyoshina (Magadan) it is shown that northern men, when the temperature curve crosses zero in October-November express relative "hypercortisism", activation of the insular apparatus, an increase in insulin levels and the development of insulin resistance are observed. L.I. Kopylova, A.A. Tappakhova and T.Ya. Nikolaeva (Yakutsk) based on the studying of northern men with Parkinson's disease proposed a prognostic formula for determining the level of quality of life of patients with the studied pathology. In the same sector, attention is drawn to the actual experimental work of E.P. Antonova et al. (Petrozavodsk) on the assessment of the effect of North-West of Russia photoperiodic conditions and administration of exogenous melatonin on the Syrian hamster psycho-emotional status. This is important not only for understanding the behavior of seasonally breeding species, but also for the regulation of photoperiodicity in humans in the North.

The issue contains studies of great relevance related to the health of women, children and adolescents, which is important for understanding demo-

graphic issues. Moreover, this is of concern not only to Russian, but also to foreign researchers. In the work of M.D. Usmanova et al. from Uzbekistan (Andijan) the importance of controlling the function of the thyroid gland during pregnancy is emphasized, the relationship between hypertension and age, the level of activity of the gland and obesity has been established. M.A. Darenskaya et al. (Irkutsk) found that in Russian women the combined metabolic syndrome with polycystic ovary syndrome in comparison with monosyndrome is accompanied by a greater number of changes than in Buryat women. The article of Belarusian scientists N.M. Shapetska et al. (Minsk) on the successful use of allogeneic blood plasma enriched with soluble platelet factors for the treatment of the skin thermal burns in children is interesting for clinical practice.

T.A. Astakhova et al. (Irkutsk) devoted the article to the current, but rarely studied problem of eating disorders in rural adolescents, and the prerequisites for the formation of eating disorders were revealed in both boys and girls. In the article by S.E. Bolshakova et al. (Irkutsk), using a large amount of material, it is shown that failure to observe sleep hygiene in teenage girls disrupts the circadian rhythm that regulates the menstrual cycle. This will help in the early diagnosis and prevention of sleep disorders and menstrual dysfunction. In this section, there is a review of the literature by M.V. Gomellya et al. (Irkutsk, Moscow), who showed that markers of antiphospholipid syndrome are detected in all variants of juvenile idiopathic arthritis.

Several articles are devoted to the problems of ophthalmology, in particular, the devices and principles of keratometry (Boiko E.V. et al., Saint Petersburg). E.S. Taskina et al. showed a violation of the balance between the parameters of the system "lipid peroxidation – antioxidant protection", the dependence of lipid peroxidation on autoimmune inflammation in the orbit in endocrine ophthalmopathy. In another article, A.O. Direev and E.V. Egorova (Novosibirsk) described the common entrapment and tear of the intraocular lens haptic during implantation, as well as the methods of their surgical correction.

The work of a team from Yaroslavl, Belgorod and Moscow, headed by the Member of the RAS A.L. Khokhlov, is important for non-invasive diagnostics of the myocardial condition. Direct positive correlations of changes in energy metabolism in blood leukocytes and heart cells under the influence of cytoprotectors have been obtained.

N.N. Omelchuk et al. (Moscow) developed an experimental model (*Danio rerio* juvenile fish) for assessing the protective effect of radioprotectors. This is important for testing the effect of medications in radiation injuries, as well as assessing the possibility of their use in radiation therapy.

The study by V.V. Bykov et al. (Pushchino) on obtaining methionine aminopeptidase (MAP) based on the genome of the bacterium *Thermus thermophilus* and confirming of the functional activity of MAP is very promising. The enzyme can be used in various branches of biotechnology.

S.N. Styazhkina et al. (Izhevsk, Udmurtia) confirmed in an experiment the antimicrobial effect of a domestic antiseptic for use in surgical practice.

Many specialists will be interested in the review by P.O. Fedorova (Moscow), which examines the advantages and disadvantages of the method of CAR natural killer cell therapy and methods of activation and expansion of natural killer cells, as well as the aspects of creating a full-fledged biomedical cell product.

## СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ  
ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ,  
НОВЫЕ ТRENДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

Перспективы использования искусственного интеллекта в фармакогенетических исследованиях: литературный обзор. *Абдуллаев М.А., Кантемирова Б.И., Башкина О.А., Сычев Д.А., Иванчук О.В., Романова А.Н.*

Эпидемиологическая характеристика рака шейки матки в Российской Федерации. *Кулешова О.Б., Домонова Э.А., Акимкин В.Г.*

## АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Метаболические процессы обмена простагландинов у женщин при COVID-19 на сроке 28–30 недель беременности. *Ишутина Н.А., Андриевская И.А.*

Оценка клинического течения гипертензивных расстройств на фоне субклинического гипотиреоза у беременных женщин в Андижанской области. *Усманова М.Д., Насирова Ф.Ж., Усманов Ш.К.*

## БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

CAR НК-терапия: методы активации и экспансии НК-клеток. *Фёдорова П.О.*

Показатели оксидативного стресса и тканевой гипоксии при различных фазах активности эндокринной офтальмопатии. *Таскина Е.С., Харинцева С.В., Караваяева Т.М.*

## ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА

Клонирование гена метионин-аминопептидазы бактерии *Thermus thermophilus* и подтверждение функциональной активности фермента. *Быков В.В., Вологжанникова А.А., Трунилина М.В., Кудряшов Т.А., Соколов А.С., Лаптева Ю.С.*

Разработка ОТ-рвПЦР для оценки экспрессии генов «домашнего хозяйства» *ACTB* и *SDHA* в культурах клеток млекопитающих-хозяев зоонозных инфекций. *Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Соловаров И.С.*

## ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Иммунный статус у женщин после COVID-19, проживающих в субарктическом регионе. *Щёголева Л.С., Шашкова Е.Ю., Каббани М.С., Филиппова О.Е.*

Опыт применения эфирных масел с целью реабилитации нарушений обоняния у пациентов, перенёвших новую коронавирусную инфекцию. *Белоглазов В.А., Буртсева Е.В., Ятсков И.А., Бублей К.В.,*

## CONTENTS

## EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

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

DISCUSSION PAPERS, LECTURES,  
NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

Artificial intelligence in pharmacogenetics: A narrative review of current and future applications. *Abdullaev M.A., Kantemirova B.I., Bashkina O.A., Sychev D.A., Ivanchuk O.V., Romanova A.N.*

Current epidemiological characteristics of cervical cancer in the Russian Federation. *Kuleshova O.B., Domonova E.A., Akimkin V.G.*

## OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

Metabolic processes of prostaglandin metabolism in women at 28–30 weeks of gestation with COVID-19. *Ishutina N.A., Andrievskaya I.A.*

Evaluation of the clinical course of hypertensive disorders against the background of subclinical hypothyroidism in pregnant women. *Usmanova M.D., Nasirova F.Zh., Usmanov Sh.K.*

## BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

CAR natural killer cell therapy: Natural killer cell activation and expansion. *Fedorova P.O.*

Indicators of oxidative stress and tissue hypoxia in various phases of Graves' orbitopathy activity. *Taskina E.S., Kharintseva S.V., Karavaeva T.M.*

## GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

Cloning of the *Thermus thermophilus* methionine aminopeptidase gene and confirmation of the enzyme functional activity. *Bykov V.V., Vologzhannikova A.A., Trunilina M.V., Kudryashov T.A., Sokolov A.S., Lapteva Yu.S.*

Development of RT-qPCR assay for assessing the expression of *ACTB* and *SDHA* housekeeping genes in the cell cultures of mammalian hosts of zoonotic infections. *Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A., Solovarov I.S.*

## INFECTIOUS DISEASES

Immune status in women after COVID-19 living in the subarctic region. *Shchegoleva L.S., Shashkova E.Yu., Kabbani M.S., Filippova O.E.*

Using essential oils in rehabilitation of olfactory disorders in patients who have had a new coronavirus infection. *Beloglazov V.A., Burtseva E.V., Yatskov I.A., Bublely K.V.,*

логлазов В.А., Бурцева Е.В., Яцков И.А., Бублей К.В., Новосад А.С., Шадчнева Н.А.

107

**КАРДИОЛОГИЯ**

Leukocyte as an adequate model for studying changes in energy metabolism in heart cells under the influence of cardiocytoprotectors in myocardial ischemia. *Khokhlov A.L., Romashchenko O.V., Gorbach T.V., Rumbesht V.V., Yakunchenko T.I., Zhernakova N.I., Zakirova L.R., Kukes V.G.*

114

**МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ**

Сравнительный анализ штаммов вируса клещевого энцефалита европейского субтипа, изолированных от больных людей из Восточной Сибири и из Восточной и Северной Европы. *Козлова И.В., Сунцова О.В., Ткачёв С.Е., Парамонов А.И., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Охотина Ю.С.*

122

Экспериментальное подтверждение бактерицидного действия отечественного антисептика «Анолит» в хирургической практике. *Стяжкина С.Н., Ку克林 Д.Н., Тихонова В.В., Гуцин С.Г., Бажина Ю.С., Гайнетдинова И.И., Тулынин С.Б.*

135

**МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ**

Динамика основных показателей углеводного обмена и возможные причины его нарушения в осенний и зимний периоды года у современных жителей-северян. *Аверьянова И.В., Алёшина О.О.*

142

Метаболический синдром, ассоциированный с гиперандрогенией в репродуктивном возрасте. Гормональный профиль у женщин различных этносов. *Даренская М.А., Беленькая Л.В., Колесников С.И., Шолохов Л.Ф., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., Колесникова Л.И.*

150

Экспериментальная модель для оценки эффективности радиопротекторов в биомедицинских исследованиях. *Омельчук Н.Н., Симаков Ю.Г., Волкова Л.В., Попадюк В.И., Анисимова О.В., Хилько Т.Н., Чернова О.Э.*

159

**НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ**

Клинико-неврологические проявления COVID-19 и других коронавирусных инфекций: обзор литературы. *Белобородов В.А., Степанов И.А., Кельчевская Е.А., Воробьев В.А., Фролов А.П., Кожевников М.А., Тухиев А.Р., Борисов В.Э., Саакян З.С.*

168

Клинические предикторы низкого уровня качества жизни пациентов с болезнью Паркинсона. *Копылова Л.И., Тарпахов А.А., Николаева Т.Я.*

178

Особенности поражения центральной нервной системы и психической сферы у пациентов при коморбидном течении постковидного синдрома.

*Novosad A.S., Shadchneva N.A.*

**CARDIOLOGY**

Лейкоцит как адекватная модель изучения характера изменений энергетического обмена в клетках сердца под влиянием кардиоцитопротекторов при ишемии миокарда. *Хохлов А.Л., Ромащенко О.В., Горбач Т.В., Румбешт В.В., Якунченко Т.И., Жернакова Н.И., Закирова Л.Р., Кукес В.Г.*

**MICROBIOLOGY AND VIROLOGY**

Comparative analysis of European subtype tick-borne encephalitis virus strains isolated from patients from Eastern Siberia and Eastern and Northern Europe. *Kozlova I.V., Suntsova O.V., Tkachev S.E., Paramonov A.I., Doroschenko E.K., Lisak O.V., Okhotina Yu.S.*

Experimental confirmation of the bactericidal action of the domestic antiseptic "Anolit" in surgical practice. *Styazhkina S.N., Kuklin D.N., Tikhonova V.V., Gushchin S.G., Bazhina Y.S., Gaynetdinova I.I., Tulynin S.B.*

**MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY**

Dynamics of the main parameters of carbohydrate metabolism and possible causes of its disorders in the autumn and winter periods in modern residents of the North. *Averyanova I.V., Alyoshina O.O.*

Metabolic syndrome associated with hyperandrogenism in the reproductive age. Hormonal profile in different ethnicities women. *Darenskaya M.A., Belenkaia L.V., Kolesnikov S.I., Sholokhov L.F., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadeliaeva I.G., Kolesnikova L.I.*

Experimental model for assessing the effectiveness of radioprotectors in biomedical research. *Omelchuk N.N., Simakov Yu.G., Volkova L.V., Popadyuk V.I., Anisimova O.V., Khilko T.N., Chernova O.E.*

**NEUROLOGY AND NEUROSURGERY**

Clinical and neurological manifestations of COVID-19 and other coronavirus infections: A literature review. *Beloborodov V.A., Stepanov I.A., Kelchevskaya E.A., Vorobiev V.A., Frolov A.P., Kozhevnikov M.A., Tukhiev A.R., Borisov V.E., Saakyan Z.S.*

Clinical predictors of low quality of life in patients with Parkinson's disease. *Kopylova L.I., Tappakhov A.A., Nikolaeva T.Ya.*

Features of damage to the central nervous system and mental sphere in patients with comorbid post-COVID syndrome. *Beygel E.A., Katamanova E.V.,*

<i>Бейгель Е.А., Катаманова Е.В., Лахман О.Л., Казакова П.В., Шевченко О.И., Павленко Н.А., Мараев М.Д.</i>	184	<i>Lakhman O.L., Kazakova P.V., Shevchenko O.I., Pavlenko N.A., Maraev M.D.</i>	
<b>ОФТАЛЬМОЛОГИЯ</b>		<b>OPHTHALMOLOGY</b>	
Кератометрия: устройства и принципы. Обзор литературы. <i>Бойко Э.В., Петросян Ю.М., Шухаев, Литвин И.Б.</i>	194	Keratometry: Devices and principles. Literature review. <i>Boiko E.V., Petrosyan Y.M., Shukhaev S.V., Litvin I.B.</i>	
Ущемление и отрыв гаптики интраокулярной линзы при имплантации. <i>Диреев А.О., Егорова Е.В.</i>	204	Pinching and detachment of the intraocular lens haptics during implantation. <i>Direev A.O., Egorova E.V.</i>	
<b>ПЕДИАТРИЯ</b>		<b>PEDIATRICS</b>	
Особенности цитокинового статуса и нарушения гемостаза у детей с ювенильным идиопатическим артритом (обзор литературы). <i>Гомелля М.В., Миронова А.В., Крупская Т.С., Татаринова А.В.</i>	211	Cytokine status and hemostasis disorders in children with juvenile idiopathic arthritis. <i>Gomellya M.V., Mironova A.V., Krupskaya T.S., Tatarinova A.V.</i>	
Предрасположенность к расстройствам пищевого поведения у сельских подростков. <i>Астахова Т.А., Погодина А.В., Лебедева Л.Н., Рычкова Л.В.</i>	221	Predisposition to eating disorders in rural adolescents. <i>Astakhova T.A., Pogodina A.V., Lebedeva L.N., Rychkova L.V.</i>	
Субъективное качество сна девочек-подростков с нерегулярным менструальным циклом. <i>Большакова С.Е., Мадаева И.М., Бердина О.Н., Храмова Е.Е., Бугун О.В., Рычкова Л.В.</i>	230	Subjective sleep quality in adolescent girls with menstrual disorders. <i>Bolshakova S.E., Madaeva I.M., Berdina O.N., Khramova E.E., Bugun O.V., Rychkova L.V.</i>	
<b>ХИРУРГИЯ</b>		<b>SURGERY</b>	
Клинические примеры использования плазмы, обогащённой растворимыми факторами тромбоцитов, аллогенной для лечения термических ожогов кожи у детей <i>Шепетько Н.М., Потапнёв М.П., Дегтярёв Ю.Г., Зеленко И.Н.</i>	240	Clinical examples of the use of allogeneic platelet-rich plasma for the treatment of thermal skin burns in children. <i>Shapetska N.M., Potapnev M.P., Degtyarev Yu.G., Zelianko I.N.</i>	
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>		<b>EXPERIMENTAL RESEARCHES</b>	
Влияние фотопериодических условий Северо-Запада России и экзогенного мелатонина на психоэмоциональный статус сирийского хомяка ( <i>Mesocricetus auratus</i> ). <i>Антонова Е.П., Баишникова И.В., Кижина А.Г., Илюха В.А.</i>	251	Effect of north-western photoperiod and exogenous melatonin on the psychoemotional state of the Syrian hamsters ( <i>Mesocricetus auratus</i> ). <i>Antonova E.P., Baishnikova I.V., Kizhina A.G., Ilyukha V.A.</i>	
<b>ЭПИДЕМИОЛОГИЯ</b>		<b>EPIDEMIOLOGY</b>	
Анализ заболеваемости гриппом и острыми инфекциями верхних дыхательных путей в условиях плановой вакцинации против гриппа. <i>Баянова Т.А., Зарва И.Д., Кравченко Н.А., Стукова Е.С.</i>	261	Analysis of the incidence of influenza and acute upper respiratory tract infections under conditions of routine influenza vaccination. <i>Bayanova T.A., Zarva I.D., Kravchenko N.A., Stukova E.S.</i>	

# ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

## DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

### ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА В ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ: ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Абдуллаев М.А.<sup>1</sup>,  
Кантемирова Б.И.<sup>1</sup>,  
Башкина О.А.<sup>1</sup>,  
Сычев Д.А.<sup>2</sup>,  
Иванчук О.В.<sup>1</sup>,  
Романова А.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Астраханский  
государственный медицинский  
университет» Минздрава России  
(414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121,  
Россия)

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

Автор, ответственный за переписку:  
**Абдуллаев Мусалитдин  
Абсаламович,**  
e-mail: abdullaev-musalitdin@mail.ru

#### РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день задачей фармакогенетики является изучение корреляции между генетическими особенностями пациента и эффективностью лекарственных средств с одновременной оценкой рисков развития побочных реакций. Проведение фармакогенетических исследований требует применения сложных методик статистической обработки результатов, и всё чаще для подобного рода анализа применяются возможности искусственного интеллекта (ИИ). Искусственный интеллект – это современная технология, которая применяется с целью автоматизации выполнения задач, обычно требующих больших трудозатрат с использованием человеческого разума. Проведённый обзор научных исследований, посвящённых применению моделей машинного обучения в фармакогенетических исследованиях, показал, что искусственный интеллект представляет собой высокотехнологичный гибкий инструмент, способный обеспечить широкую имплементацию фармакогенетики в практическое здравоохранение. Перспективным направлением применения ИИ в фармакогенетике является внедрение технологии в выполнение задач по анализу, обнаружению, прогнозированию и поддержке фармакогенетической информации и систем принятия решений. Применение технологий глубокого обучения позволит расширить представление о фармакодинамике лекарственных средств, показаниях, противопоказаниях в назначении, что, возможно, приведёт к обновлению учебно-методической литературы по фармакологии и существенно продвинет качество фармакотерапии у пациентов. В то же время внедрение технологий ИИ может быть затруднительным ввиду некоторых факторов, таких как недостаток квалифицированных кадров, этические разногласия, сложности правового регулирования области. Несмотря на существующие проблемы, применение технологий ИИ в фармакогенетических исследованиях является высокоэффективным и целесообразным.

**Ключевые слова:** фармакогенетика, искусственный интеллект, машинное обучение, фармакология, клиническая фармакология

Статья поступила: 21.06.2023  
Статья принята: 12.09.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Абдуллаев М.А., Кантемирова Б.И., Башкина О.А., Сычев Д.А., Иванчук О.В., Романова А.Н. Перспективы использования искусственного интеллекта в фармакогенетических исследованиях: литературный обзор. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 12-21. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.2

## ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN PHARMACOGENETICS: A NARRATIVE REVIEW OF CURRENT AND FUTURE APPLICATIONS

Abdullaev M.A.<sup>1</sup>,  
Kantemirova B.I.<sup>1</sup>,  
Bashkina O.A.<sup>1</sup>,  
Sychev D.A.<sup>2</sup>,  
Ivanchuk O.V.<sup>1</sup>,  
Romanova A.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Astrakhan State Medical University  
(Bakinskaya str. 121, Astrakhan 414000,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> Russian Medical Academy  
of Continuing Professional Education  
(Barrikadnaya str. 2/1 build. 2,  
Moscow 125993, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Musalitdin A. Abdullaev**,  
e-mail: abdullaev-musalitdin@mail.ru

### ABSTRACT

*Pharmacogenetics aims to investigate the correlation between patient genetic characteristics and the efficacy of pharmaceutical agents, while concurrently evaluating the risks of adverse reactions. This field of research necessitates the application of complex statistical analysis methodologies, and artificial intelligence (AI) capabilities are increasingly being leveraged for such analyses. AI represents an advanced technology employed to automate the execution of tasks that traditionally demand substantial human intellectual effort. A review of scientific literature on the application of machine learning models in pharmacogenetic research has demonstrated that AI is a highly sophisticated and flexible tool capable of facilitating the widespread implementation of pharmacogenetics in clinical practice. A promising area for the application of AI in pharmacogenetics involves the integration of this technology into tasks related to the analysis, detection, prediction, and support of pharmacogenetic information and decision-making systems. The utilization of deep learning technologies has the potential to expand the understanding of drug pharmacodynamics, indications, and contraindications, which may potentially lead to the updating of educational and methodological literature on pharmacology and substantially advance the quality of patient pharmacotherapy. However, the implementation of AI technologies may be hindered by factors such as a shortage of qualified personnel, ethical disagreements, and complexities in legal regulation of this domain. Nonetheless, the application of AI technologies in pharmacogenetic research demonstrates high effectiveness and expediency, despite the existing challenges.*

**Key words:** pharmacogenetics, artificial intelligence, machine learning, pharmacology, pharmacy, clinical pharmacology

Received: 21.06.2023  
Accepted: 12.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Abdullaev M.A., Kantemirova B.I., Bashkina O.A., Sychev D.A., Ivanchuk O.V., Romanova A.N. Artificial intelligence in pharmacogenetics: A narrative review of current and future applications. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 12-21. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.2

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одной из наиболее интенсивно развивающихся наук является фармакогенетика, основной задачей которой выступает изучение взаимосвязи между генетическими особенностями пациентов и индивидуальным ответом на фармакотерапию. Фармакогенетические исследования направлены на персонализацию применения лекарственных средств (ЛС) с учётом наследственных, фенотипических и средовых особенностей пациентов путём оптимизации выбора ЛС, их дозировки, мероприятий по повышению эффективности и безопасности лечения. Являясь одной из наиболее многообещающих составляющих персонализированной медицины, исследования в области фармакогенетики зачастую ограничиваются различными факторами, такими как сложность поиска достоверных доказательств наличия ассоциативных связей между полиморфизмом генов и клинически значимым изменением индивидуального ответа на терапию, ограничение доступности открытых баз генетических данных и качественных доказательных исследований, этические и социальные вопросы генетического тестирования и сложности широкой имплементации фармакогенетической информации в клиническую практику. Учитывая важность перехода к персонализированной медицине, особенно важным для исследований в области фармакогенетики является достижение высокой точности и достоверности результатов, для чего всё чаще применяются сложные методы анализа данных на основе повторяющегося опыта, известные как машинное обучение (МО) [1]. МО представляет собой область изучения компьютерных алгоритмов, которые способны последовательно автоматически обучаться в серии опытов. Для лучшего понимания процесса МО можно привести высказывание Тома М. Митчелла: «Компьютерная программа обучается по опыту  $E$  в отношении класса задач  $T$  и меры качества  $P$ , если с ростом опыта  $E$  улучшается её производительность при решении задач из  $T$  по мере  $P$ ». В зависимости от конечной цели МО может классифицироваться как контролируемое или неконтролируемое. Техники контролируемого обучения используются для предсказания результатов исследования. Техники неконтролируемого обучения применяются для выявления неопределённой структуры данных, когда результат не задан заранее [2–4].

Модели МО могут быть задействованы в фармакогенетических исследованиях различными способами, например: использованы с целью идентификации клинически значимых генетических полиморфизмов или биомаркеров, которые связаны с индивидуальным ответом на ЛС или нежелательными побочными реакциями (НПР), с использованием таких методов, как регрессия, классификация, отбор признаков или уменьшение размерности [5, 6]; служить инструментом для интеграции нескольких типов фармакогенетических данных (например, геномных, транскриптомных, протеомных, метаболомных) с использованием таких методов, как кластеризация, сетевой анализ или матричная факторизация [5, 7]; применяться для интерпретации фармакоге-

нетических данных и вывода причинно-следственных связей или механизмов с использованием таких методов, как байесовские сети, причинно-следственный вывод или графики знаний [5, 7], а также для прогнозирования результатов фармакотерапии (например, эффективность препарата, безопасность, корректировки дозы) с использованием различных моделей [5, 6].

В широком смысле МО является одним из классов методов искусственного интеллекта (ИИ). ИИ – это обширный раздел информатики, который занимается созданием машин или систем, способных помогать в выполнении задач, которые обычно требуют человеческого интеллекта и трудозатрат, таких как обучение, рассуждение, принятие различного рода решений. ИИ всё чаще применяется в различных типах исследований в области биофармацевтики [8], таких как создание молекулы ЛС, их разработка, доклинические, клинические испытания, постмаркетинговый фармаконадзор. Глубокое обучение – это наиболее часто используемый на сегодняшний день тип МО, разработанный по подобию структуры человеческого мозга, который называют искусственной нейронной сетью (нейросетью) [5].

## ЦЕЛЬ НАСТОЯЩЕГО ОБЗОРА

Систематизация данных о перспективах применения искусственного интеллекта при создании лекарственных средств и разработке алгоритмов по их персонализированному применению.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА В ПРОЦЕССЕ СОЗДАНИЯ ЛС. ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ОТВЕТА НА ОСНОВЕ УЧЁТА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАЦИЙ ПАЦИЕНТОВ

Анализ литературных источников свидетельствует о том, что ИИ предлагает возможности для определения наиболее перспективных соединений и мишеней (скрининг) на каждом этапе цепочки создания ЛС, что позволит сократить количество экспериментов в условиях лаборатории, уменьшить время эксперимента, обеспечить этические стороны гуманного отношения к лабораторным животным. Предполагается, что использование ИИ на доклинической стадии разработки ЛС может повысить качество скрининга, определить максимально перспективные молекулы для дальнейших исследований. ИИ также может помочь при анализе больших и сложных наборов данных, таких как геномные, протеомные, метаболомные в совокупности с фенотипическими особенностями пациентов, для дальнейшего поиска новых биомаркеров и расширения представлений о механизмах действия, показаниях, противопоказаниях и побочных эффектах ЛС [9]. Следует также отметить потенциал применения ИИ в разработке и проведении

клинических испытаний путём оптимизации набора пациентов, стратификации, рандомизации, мониторинга и оценки результатов. ИИ может быть внедрён с целью повышения качества постмаркетингового надзора, позволяя обнаруживать информацию о безопасности и эффективности лекарств из различных источников данных, таких как электронные медицинские карты, переносные устройства, являющиеся носителями медицинской информации. На этапе скрининга молекул применение ИИ может облегчить процессы обнаружения новых лекарственных мишеней, предсказания эффектов и взаимодействий лекарств, анализа больших и сложных наборов данных и быть основой для будущей системы принятия решений [7,10–13].

Потенциальными возможностями применения ИИ при создании и разработке новых ЛС являются [7, 10]:

- «сетевая фармакология» для моделирования сетей взаимодействия ЛС с мишенью, путей системной биологии и фармакогеномных профилей;
- оценка и прогнозирование физико-химических и фармакокинетических свойств ЛС-кандидатов *in silico*, *in vitro*, *in vivo*;
- компьютеризация процесса разработки ЛС в виде создания последовательных алгоритмов сопровождения искусственным интеллектом всех этапов создания ЛС;
- оптимальный выбор пути разработки эффективных и реализуемых путей синтеза молекул ЛС;
- молекулярный дизайн и проектирование для создания новых и оптимизированных структур ЛС с использованием генеративных моделей;
- симуляция взаимодействия комплекса «белок – лиганд» для имитации и оптимизации сродства и селективности связывания молекул ЛС с их мишенями;
- графики знаний, связанных с ЛС, для представления и интеграции разнородных источников данных и обеспечения возможности семантического обоснования;
- анализ больших массивов данных для получения информации о ЛС;
- распознавание изображений для анализа биомедицинских изображений, таких как микроскопия, гистология;
- интеграция данных из различных источников, таких как последовательности ДНК, фенотипы, транскриптомы, протеомы, метаболомы и истории болезни;
- обработка естественного языка для извлечения соответствующей информации из опубликованных источников или электронных медицинских карт;
- определение гаплотипов и фенотипов, прогнозирование межлекарственных взаимодействий, количественная оценка зависимости доза-эффект, оценка риска/пользы от применения ЛС и выявление побочных эффектов при их приёме.

В соответствии со стратегией научно-технологического развития Российской Федерации до 2030 г., утверждённой указом Президента РФ от 1.12.2016 № 642 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации», должен быть обеспечен переход

к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровьесбережения, в том числе за счёт рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных). Одной из приоритетных целей персонализированной медицины является прогнозирование индивидуального фармакологического ответа на определённое ЛС [14]. Такой подход может помочь избежать возникновения НПР на ЛС, улучшить исходы лечения, снизить затраты и повысить качество жизни пациентов. Однако прогнозирование лекарственного ответа на основе генетических вариаций пациента является комплексной задачей. Лекарственный ответ организма на фармакотерапию, помимо генетических особенностей, формируется в зависимости от множества других факторов, таких как возраст, пол, вес, особенности питания, образ жизни, сопутствующие заболевания, полипрагматизация, клинически значимые взаимодействия ЛС, комплаентность, качество лекарственного препарата, воздействие окружающей среды и эпигенетические модификации [14, 15]. Причём вклад наследственных, немодифицируемых и фенотипических, модифицируемых факторов в индивидуальный фармакологический ответ примерно одинаков и сопоставим (1:1) [15]. Более того, фармакологический ответ на ЛС зачастую является сложным процессом, вовлекающим множество генов и межгеновых взаимодействий, которые могут варьироваться в разных популяциях и этнических группах [16].

В этой связи применение ИИ может помочь в решении некоторых существующих проблем, предлагая исследователям различные модели МО для извлечения полезной информации из больших и разнообразных наборов данных, содержащих генетическую и негенетическую информацию, связанную с индивидуальным ответом на лекарственную терапию [17–19]. По своей конструкции МО можно разделить на три основных типа: контролируемое обучение, неконтролируемое обучение и обучение с подкреплением. Контролируемое обучение – это случаи, в которых алгоритм учится из отобранных данных (т. е. из данных с известными результатами или целями), чтобы делать прогнозы или классификации для новых данных [3]. При неконтролируемом обучении алгоритм получает опыт из немаркированных данных (т. е. из данных без известных результатов или целей), чтобы обнаружить закономерности или структуры в данных [4]. Обучение с подкреплением – это случаи, когда алгоритм учится на основе собственных действий и обратной связи (т. е. используется система «вознаграждений» или «наказаний») для оптимизации своего функционирования или производительности.

Одним из примеров использования МО для прогнозирования лекарственного ответа на основе генетических вариаций является исследование A. Roche-Lima и соавт., в котором авторы сравнили семь методов МО для прогнозирования дозы варфарина с учётом фармакогенетических данных у испаноязычных жителей Карибского бассейна [20]. В ходе исследования, модели, сгенерированные с использованием алгоритмов регрессии случайного леса, многомерных адаптив-

ных сплайнов и регрессии опорного вектора, показали значительно лучшие прогнозы еженедельного подбора дозы варфарина в исследуемых когортах, чем другие алгоритмы. Были получены лучшие показатели моделей МО для пациентов с «нормальным», «чувствительным» и «резистентным» к варфарину состоянием по сравнению с другими популяциями и предыдущими статистическими моделями. В 2011 г. Е. Cosgrip и соавт. была опубликована статья, в которой были отражены результаты многофакторного фармакогенетического прогнозирования постоянного признака с использованием методов машинного обучения для подбора оптимальной дозы варфарина у афроамериканцев [21]. В исследовании применялись три метода МО: случайный лес регрессии, расширенное дерево регрессии и регрессия на опорных векторах для прогнозирования поддерживающей дозы варфарина в когорте афроамериканцев. Было показано, что они имеют гораздо более высокую точность, чем другие модели. Известно, что варфарин – это антикоагулянтный препарат, который широко применяется для предотвращения тромбоэмболических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий или венозной тромбоэмболией. Однако он имеет узкий терапевтический индекс и требует частого мониторинга показателей крови и коррекции дозы для достижения оптимального уровня плазменной концентрации. На дозировку варфарина влияет несколько факторов, включая возраст, вес, диету, сопутствующие лекарственные препараты и генетические вариации генов ферментов, участвующих в метаболизме варфарина (например, *CYP2C9*) и фармакодинамике (например, *VKORC1*) [22, 23]. Для подбора оптимальной начальной дозы варфарина пациентам было разработано несколько фармакогенетических алгоритмов [24–26]. Однако эти алгоритмы не получили широкого распространения в клинической практике, отчасти из-за отсутствия окончательных доказательств их клинической полезности и экономической эффективности, полученных в ходе рандомизированных контролируемых исследований (РКИ) [27]. Было проведено несколько РКИ для сравнения подбора дозы варфарина с учётом генотипа со стандартным дозированием без генетического тестирования, основанным только на клинических факторах. Результаты были неоднозначными: некоторые исследования показали преимущество дозирования, ориентированного на генотип, с точки зрения улучшения контроля эффективности и безопасности, сокращения времени достижения терапевтического уровня международного нормализованного отношения (МНО), уменьшения частоты регистрации побочных эффектов [28, 29]. Следует отметить, что результаты ряда исследований не показали существенной разницы между двумя стратегиями [27]. Метаанализ 15 РКИ, включавший 4852 пациента, показал, что подбор дозы препарата с учётом генотипа позволял достичь целевой концентрации препарата за более короткое время и стабильной дозы за период > 1 месяца наблюдения. Также было обнаружено, что такой подход приводил к снижению времени достижения терапевтического уровня МНО, риска крупных

кровотечений, связанных с варфарином, по сравнению с обычным дозированием [27]. Одним из ограничений этих РКИ является то, что в них использовались разные алгоритмы персонализированного подбора дозы варфарина, которые могли отличаться по своей точности и производительности в разных популяциях и условиях среды. Более того, большинство этих исследований проводилось преимущественно в европеоидных популяциях, и лишь немногие включали пациентов африканской и азиатской этнической принадлежности, у которых могут быть различные генетические полиморфизмы и, соответственно, особые требования к дозировке варфарина. Следовательно, существует потребность в более надёжных и последовательных результатах крупномасштабных РКИ, в которых используются стандартизированные и валидизированные алгоритмы, ориентированные на вариации генотипов, и которые включают разнообразные и репрезентативные популяции пациентов.

Применение возможностей ИИ может помочь научным работникам улучшить разработку дизайна исследования при проведении РКИ за счёт внедрения моделей МО с целью оптимизации различных этапов исследования, таких как набор пациентов, стратификация, рандомизация, мониторинг и оценка результатов [30, 31]. Например, применение технологии предоставляет возможность быстрого определения пациентов, подходящих для терапии варфарином, на основе их клинических характеристик и генетических профилей из электронных медицинских карт или биобанков. Внедрение ИИ также позволяет исследователям эффективней стратифицировать пациентов в соответствии с прогнозируемой им разницей в дозах варфарина алгоритмами, ориентированными на генотип, и клинически ориентированными алгоритмами, что может повысить точность определения эффективности лечения [30, 31]. Возможности ИИ также могут быть использованы для рандомизации пациентов при применении различных стратегий подбора доз с использованием адаптивных методов, которые уравнивают ковариации и исходы в разных группах. Широкое внедрение технологии позволит точнее оценивать клинические результаты фармакотерапии варфарином при помощи обработки естественного языка и компьютерного зрения для извлечения информации из текста или изображений в медицинских записях или отчётах [32].

Есть и другие области медицины, в которых проводились исследования с применением технологий ИИ и о которых следует упомянуть в настоящем обзоре. Например, исследование в области психиатрии, которое было проведено в 2008 г. [33], где прогнозировался лекарственный ответ пациентов на клозапин при помощи искусственной нейронной сети с учётом фармакогенетических и клинических данных больных, и уже тогда авторы заключили, что такой подход к фармакогенетическим исследованиям будет только ускорять процесс имплементации фармакогеномики в клиническую практику. В исследовании, проведённом американскими коллегами [34], была разработана модель глубокого обучения для прогнозирования ответа на ЛС на основе

мутационных и экспрессионных профилей раковых клеток или опухолей. Модель содержала три глубокие нейронные сети, включая кодировщик мутаций, предварительно обученный на большом наборе данных (TCGA, The Cancer Genome Atlas), кодировщик экспрессии и нейросеть прогноза ответа на ЛС. Обученная модель была протестирована на наборе данных из 622 раковых клеточных линий и показала общую точность предсказания среднеквадратической ошибки, равную 1,96 (логарифмическая шкала значений концентрации полумаксимального ингибирования – IC50).

### **ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА С ЦЕЛЬЮ ОБНАРУЖЕНИЯ НОВЫХ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ АССОЦИАЦИЙ**

Одной из задач фармакогенетики является обнаружение новых генетических вариаций, влияющих на лекарственный ответ или вероятность развития НПР. Такие открытия дают возможность идентифицировать новые биомаркеры для выбора или подбора дозы ЛС, понять молекулярные механизмы действия или токсичности лекарств и обеспечить персонализированный подход, основанный на генетическом тестировании [35].

В ходе исследований ИИ может быть использован для обнаружения новых фармакогенетических ассоциаций на основе анализа больших и сложных наборов данных, содержащих генетическую и фенотипическую информацию, связанную с ответом на лекарственную терапию. Эти наборы данных могут поступать из различных источников, таких как общегеномные ассоциативные исследования (GWAS, genome-wide association studies), фармакогеномные базы данных, электронные медицинские карты, биобанки, клинические испытания или постмаркетинговый надзор. Возможности ИИ обладают высоким прорывным потенциалом для выявления новых генетических вариантов или межгенных взаимодействий, которые связаны с лекарственным ответом или НПР, а также потенциальных дополнительных факторов воздействия или модификаторов, что в свою очередь может помочь подтвердить и воспроизвести результаты в различных наборах данных, группах населения и условиях [36, 37].

Одним из примеров использования технологий ИИ для выявления новых фармакогенетических ассоциаций является исследование С.Н. Yeh и соавт., которые использовали подход GWAS на основе самообучаемой модели для выявления генетических вариантов, связанных с вариабельностью ответа на клопидогрел [38]. Известно, что клопидогрел – это антиагрегантный препарат, который широко применяется для профилактики сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) или пациентов, перенёвших чрескожное коронарное вмешательство. Однако данный препарат обладает переменной и непредсказуемой эффективностью, и у некоторых пациентов наблюдаются рецидивы ОКС, несмотря на терапию клопи-

догрелом в том числе в составе двойной антиагрегантной терапии. Клопидогрел является пролекарством, которое требует активации ферментами цитохрома P450, главным образом CYP2C19 [39]. Однако генетические вариации CYP2C19 не объясняют всей вариабельности лекарственного ответа на клопидогрел – свой вклад в тяжесть заболевания и исходы лечения могут вносить показатели различных биомаркеров белковой структуры [40]. Авторы исследования провели GWAS у 47 пациентов, которым проводилось тестирование функциональной активности тромбоцитов после нагрузочной дозы клопидогрелом. С целью системной идентификации генетических факторов, связанных с резистентностью к клопидогрелу, помимо цитохрома P450, и изучения возможного механизма, лежащего в основе этого фенотипа лекарственной резистентности, исследователями было проведено полногеномное исследование ассоциации однонуклеотидного полиморфизма (SNP, single-nucleotide association) с применением моделей ИИ. Пациенты были случайным образом распределены в группу обучения (80 %) или проверки (20 %), а оценка этих 422 значимых SNP проводилась с применением трёх методов МО (случайный лес, машина опорных векторов, регрессия «лассо»). Исследование общегеномных ассоциаций базы данных SNP с использованием ИИ выявило перечень биомаркеров, состоящий из 20 SNP, которые были сопоставлены с 9 генами, кодирующими белок (*SLC37A2*, *IQSEC1*, *WASHC3*, *PSD3*, *BTBD7*, *GLIS3*, *PRDM11*, *LRBA1* и *CNR1*). Наконец, анализ карты белковых взаимодействий показал, что *LRBA*, *GLIS3*, *BTBD7*, *IQSEC1* и *PSD3*, по-видимому, образуют сеть белкового взаимодействия, значимого для развития резистентности к клопидогрелу. Авторы заключили, что сочетание обнаружения SNP с помощью ИИ и анализ клинических параметров пациента имеет потенциал для разработки высокоселективного ЛС с этнической спецификой для антиагрегантной терапии у пациентов с сахарным диабетом II типа [35].

Подобные исследования иллюстрируют то, как внедрение возможностей ИИ может помочь исследователям в обнаружении новых фармакогенетических ассоциаций, которые являются не только статистически, но и клинически значимыми. Применение ИИ для выявления новых фармакогенетических ассоциаций даёт возможности для идентификации новых биомаркеров, влияющих на выбор лекарств, подбор доз, что в конечном итоге поможет улучшить результаты лечения пациентов и снизить уровень социально-экономического бремени заболевания.

### **ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ВО ВНЕДРЕНИИ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ И РЕКОМЕНДАЦИЙ В КЛИНИЧЕСКУЮ ПРАКТИКУ**

Конечной целью персонализированной медицины является внедрение фармакогенетического тестирования (ФГТ) в клинические рекомендации и медицинскую

практику для оптимизации лекарственной терапии каждого пациента. Имплементация ФГТ требует не только надёжной научной доказательной базы, клинической валидации и оценки значимости фармакогенетических биомаркеров, но и практических решений для преодоления определённых барьеров, связанных с внедрением фармакогенетических знаний. К указанным проблемам следует отнести такие вопросы, как доступность ФГТ, интерпретация и представление результатов фармакогенетики, интеграция фармакогенетической информации в электронные медицинские карты и системы поддержки принятия клинических решений, обучение медицинских работников и пациентов основам методологии фармакогенетических подходов, этические и юридические составляющие ФГТ, политика возмещения расходов на фармакогенетические услуги и оценка влияния фармакогенетики на результаты лечения пациентов и качество медицинской помощи [41].

В контексте данного вопроса применение технологий ИИ потенциально может облегчить процесс внедрения ФГТ в рекомендации и клиническую практику посредством автоматизации и оптимизации некоторых процессов и задач [42]. Например, внедрение технологии позволит выбрать наиболее подходящее ФГТ для пациента на основе его истории болезни, принимаемых лекарственных препаратов, показаний и противопоказаний. Наиболее полезным применение ИИ может стать при интерпретации результатов генотипирования для вывода результатов в чёткой и сжатой форме, максимально понятной для медицинских работников и пациентов [11]. Возможности технологий ИИ могут ускорить процесс интеграции фармакогенетической информации в электронные медицинские карты и системы поддержки принятия клинических решений, которые могут делать оповещения, напоминания или рекомендации по фармакотерапии на основе генотипирования [2]. Перспективное направление применения ИИ видится в организации процесса обучения медицинских работников и пациентов основам фармакогенетики и её возможностей для осуществления медикаментозной терапии. Внедрение технологий может способствовать более качественной оценке влияния имплементации ФГТ на результаты лечения пациентов и качество медицинской помощи на основе анализа медицинских источников данных [11]. В 2022 г. учёными из США был разработан и протестирован инструмент дополненной реальности «PGxKnow» на основе моделей ИИ для обучения медицинских работников фармакогеномике. Результаты исследования показали, что «PGxKnow» обладает потенциалом для восполнения пробелов в области обучения фармакогеномике, и дальнейшей широкой имплементации фармакогенетики и усиления её влияния на персонализированную медицину [43].

Принимая во внимание широкие возможности технологий ИИ, в особенности высокий уровень интенсивности развития языковых моделей, можно предположить, что их применение поспособствует внедрению фармакогенетического тестирования в клиническую практику, что, возможно, повысит безопасность и эффек-

тивность лечения, качество жизни пациентов и их приверженность к фармакотерапии.

## **ПРОБЛЕМЫ И БУДУЩИЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА В ФАРМАКОГЕНЕТИКЕ**

Не является ошибочным предположение о том, что технологии ИИ имеют большой потенциал и перспективы применения для развития фармакогенетики и совершенствования фармакотерапии [44]. Но следует отметить, что внедрение таких сложных технологий может столкнуть исследователей с множеством проблем и ограничений, которые необходимо брать в расчёт и искать способы их решения. Некоторые из этих проблем являются общими с другими областями биомедицины – такие как качество данных, их доступность, интеграция и совместное использование; интерпретируемость, воспроизводимость и обобщаемость моделей; этические, правовые и социальные вопросы, а также обучение, профессиональная подготовка и сотрудничество между кадрами. Другие проблемы являются специфичными или более значимыми для фармакогенетики – такие как сложность и гетерогенность взаимосвязи между генами и ЛС; дефицит и разнообразие фармакогенетических данных; изменчивость и мультифакториальность при формировании лекарственного ответа, а также вопросы правового регулирования и внедрения ФГТ в клинические рекомендации [45].

Для решения этих проблем и полной реализации потенциала ИИ в фармакогенетике можно наметить и реализовать несколько будущих направлений. Некоторые из этих направлений носят технический характер, такие как разработка новых или усовершенствованных методов и инструментов ИИ для анализа фармакогенетических данных и обнаружения новых зависимостей; применение ИИ для анализа новых или недостаточно изученных источников или типов фармакогенетических данных; интеграция ИИ с другими дисциплинами или технологиями (такими как системная биология, сетевая медицина, наномедицина или цифровое здравоохранение); а также оценка и валидизация применяемых методик ИИ в фармакогенетике.

Часть направлений носят трансляционный характер, такие как внедрение результатов исследований с применением ИИ в клиническую практику и сектор правового регулирования; внедрение ФГТ и систем поддержки принятия решений на основе ИИ в учреждениях здравоохранения; оценка преимуществ и рисков применения ИИ для пациентов, поставщиков услуг и плательщиков; вовлечение заинтересованных сторон и общества в разработку и использование ИИ в фармакогенетике [46, 47].

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В настоящей обзорной статье были обсуждены результаты исследований, посвящённых наиболее актуаль-

ным методам и подходам по применению ИИ при проведении фармакогенетических исследований, таким как МО, обработка естественного языка и поиск информации. Учитывая имеющийся опыт коллег со всего мира, можно сделать заключение о том, что на сегодняшний день ИИ представляет собой мощный, многообещающий, но не единственный инструмент, способный обеспечить широкую имплементацию фармакогенетики в практическое здравоохранение. Наиболее перспективными направлениями применения ИИ являются внедрение технологий в выполнение задач по анализу, обнаружению, прогнозированию и поддержке фармакогенетической информации и систем принятия решений; применение технологий для поиска новых генетических ассоциаций, связанных с фармакологическим ответом на лечение. Применение технологий глубокого обучения потенциально позволяет расширить представление о фармакодинамике ЛС, показаниях и противопоказаниях в назначении, что, возможно, приведёт к обновлению учебно-методической литературы по фармакологии и существенно продвинет качество фармакотерапии у пациентов. Однако, с другой стороны, внедрение технологий ИИ может быть затруднительным ввиду некоторых факторов, таких как недостаток квалифицированных кадров, этические разногласия, сложности правового регулирования. В заключение можно предположить, что, объединив сильные стороны технологий ИИ и фармакогенетики, научное сообщество сможет достичь конечной цели персонализированной медицины: предоставить нужное ЛС в нужной дозировке нужному пациенту в нужное время.

### Финансирование

Научное исследование выполнено в рамках реализации государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации «Разработка алгоритмов персонализированного назначения антиагрегантов у пациентов с острым коронарным синдромом» (сроки реализации 2021–2023 гг.).

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Jordan MI, Mitchell TM. Machine learning: Trends, perspectives, and prospects. *Science*. 2015; 349(6245): 255-260. doi: 10.1126/science.aaa8415
- Cilluffo G, Fasola S, Ferrante G, Malizia V, Montalbano L, La Grutta S. Machine learning: An overview and applications in pharmacogenetics. *Genes (Basel)*. 2021; 12(10): 1511. doi: 10.3390/genes12101511
- Kompa B, Hakim JB, Palepu A, Kompa KG, Smith M, Bain PA, et al. Artificial intelligence based on machine learning in pharmacovigilance: A scoping review. *Drug Saf*. 2022; 45(5): 477-491. doi: 10.1007/s40264-022-01176-1
- Jiménez-Luna J, Grisoni F, Weskamp N, Schneider G. Artificial intelligence in drug discovery: Recent advances and fu-

ture perspectives. *Expert Opin Drug Discov*. 2021; 16(9): 949-959. doi: 10.1080/17460441.2021.1909567

- Kolluri S, Lin J, Liu R, Zhang Y, Zhang W. Machine learning and artificial intelligence in pharmaceutical research and development: A review. *AAPS J*. 2022; 24(1): 19. doi: 10.1208/s12248-021-00644-3

- Krishnaveni C, Arvapalli S, Sharma JV. Artificial intelligence in pharma industry – A review. *Int J Innov Pharmaceut Sci Res*. 2019; 7(10): 37-50. doi: 10.21276/IJIPSR.2019.07.10.506

- García-Agundez A, García-Martín E, Eickhoff C. The potential of machine learning in pharmacogenetics, pharmacogenomics and pharmacoepidemiology. *Front Pharmacol*. 2022; 13: 928527. doi: 10.3389/fphar.2022.928527

- Zhang L, Tan J, Han D, Zhu H. From machine learning to deep learning: Progress in machine intelligence for rational drug discovery. *Drug Discov Today*. 2017; 22(11): 1680-1685. doi: 10.1016/j.drudis.2017.08.010

- Patel V, Shah M. Artificial intelligence and machine learning in drug discovery and development. *Intell Med*. 2022; 2(3): 134-140. doi: 10.1016/j.imed.2021.10.001

- Paul D, Sanap G, Shenoy S, Kalyane D, Kalia K, Tekade RK. Artificial intelligence in drug discovery and development. *Drug Discov Today*. 2021; 26(1): 80-93. doi: 10.1016/j.drudis.2020.10.010

- Silva P, Jacobs D, Kriak J, Abu-Baker A, Udeani G, Neal G, et al. Implementation of pharmacogenomics and artificial intelligence tools for chronic disease management in primary care setting. *J Pers Med*. 2021; 11(6): 443. doi: 10.3390/jpm11060443

- van der Lee M, Swen JJ. Artificial intelligence in pharmacology research and practice. *Clin Transl Sci*. 2023; 16(1): 31-36. doi: 10.1111/cts.13431

- Henstock P. Artificial intelligence in pharma: Positive trends but more investment needed to drive a transformation. *Arch Pharmacol Therapeutics*. 2021; 2(2): 24-28. doi: 10.33696/Pharmacol.2017

- Beunk L, Nijenhuis M, Soree B, de Boer-Veger NJ, Bunk AM, Guchelaar HJ, et al. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline for the gene-drug interaction between *CYP2D6*, *CYP3A4* and *CYP1A2* and antipsychotics. *Eur J Hum Genet*. 2023; 8(1): 1-8. doi: 10.1038/s41431-023-01347-3

- Belle DJ, Singh H. Genetic factors in drug metabolism. *Am Fam Physician*. 2008; 77(11): 1553-1560.

- Wang L, McLeod HL, Weinshilboum RM. Genomics and drug response. *N Engl J Med*. 2011; 364(12): 1144-1153. doi: 10.1056/NEJMr1010600

- Adam G, Rampásek L, Safikhani Z, Smirnov P, Haibe-Kains B, Goldenberg A. Machine learning approaches to drug response prediction: Challenges and recent progress. *NPJ Precis Oncol*. 2020; 4(1): 19. doi: 10.1038/s41698-020-0122-1

- Gerdes H, Casado P, Dokal A, Hijazi M, Akhtar N, Osuntola R, et al. Drug ranking using machine learning systematically predicts the efficacy of anti-cancer drugs. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 1850. doi: 10.1038/s41467-021-22170-8

- Chugh H, Singh S. Machine learning applications in rational drug discovery. *Drug Design Using Machine Learning*. 2022: 97-116. doi: 10.1002/9781394167258.ch3

- Roche-Lima A, Roman-Santiago A, Feliu-Maldonado R, Rodriguez-Maldonado J, Nieves-Rodriguez BG, Carrasquillo-Carrion K, et al. Machine learning algorithm for predicting warfarin dose in Caribbean Hispanics using pharmacogenetic data. *Front Pharmacol*. 2020; 10: 1550. doi: 10.3389/fphar.2019.01550

21. Cosgun E, Limdi NA, Duarte CW. High-dimensional pharmacogenetic prediction of a continuous trait using machine learning techniques with application to warfarin dose prediction in African Americans. *Bioinformatics*. 2011; 27(10): 1384-1389. doi: 10.1093/bioinformatics/btr159
22. International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med*. 2009; 360(8): 753-764. doi: 10.1056/NEJMoa0809329
23. Johnson JA, Caudle KE, Gong L, Whirl-Carrillo M, Stein CM, Scott SA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for pharmacogenetics-guided warfarin dosing: 2017 update. *Clin Pharmacol Therapeutics*. 2017; 102(3): 397-404. doi: 10.1002/cpt.668
24. Asiimwe IG, Zhang EJ, Osanlou R, Jorgensen AL, Pirmohamed M. Warfarin dosing algorithms: A systematic review. *Br J Clin Pharmacol*. 2021; 87(4): 1717-1729. doi: 10.1111/bcp.14608
25. Ren Y, Yang C, Chen H, Dai D, Wang Y, Zhu H, et al. Pharmacogenetic-guided algorithm to improve daily dose of warfarin in elder Han-Chinese population. *Front Pharmacol*. 2020; 11: 1014. doi: 10.3389/fphar.2020.01014
26. Carlquist JF, Anderson JL. Using pharmacogenetics in real time to guide warfarin initiation: A clinician update. *Circulation*. 2011; 124(23): 2554-2559. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.019737
27. Yang T, Zhou Y, Chen C, Lu M, Ma L, Cui Y. Genotype-guided dosing versus conventional dosing of warfarin: A meta-analysis of 15 randomized controlled trials. *J Clin Pharm Ther*. 2019; 44(2): 197-208. doi: 10.1111/jcpt.12782
28. Pirmohamed M, Burnside G, Eriksson N, Jorgensen AL, Toh CH, Nicholson T, et al. A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med*. 2013; 369: 2294-2303. doi: 10.1056/NEJMoa1311386
29. Li X, Li D, Wu JC, Liu ZQ, Zhou HH, Yin JY. Precision dosing of warfarin: Open questions and strategies. *Pharmacogenomics J*. 2019; 19(3): 219-229. doi: 10.1038/s41397-019-0083-3
30. Jiang F, Jiang Y, Zhi H, Dong Y, Li H, Ma S, et al. Artificial intelligence in healthcare: Past, present and future. *Stroke Vasc Neurol*. 2017; 2(4): 230-243. doi: 10.1136/svn-2017-000101
31. Harrer S, Shah P, Antony B, Hu J. Artificial intelligence for clinical trial design. *Trends Pharmacol Sci*. 2019; 40(8): 577-591. doi: 10.1016/j.tips.2019.05.005
32. Patel L, Shukla T, Huang X, Ussery DW, Wang S. Machine learning methods in drug discovery. *Molecules*. 2020; 25(22): 5277. doi: 10.3390/molecules25225277
33. Lin CC, Wang YC, Chen JY, Liou YJ, Bai YM, Lai IC, et al. Artificial neural network prediction of clozapine response with combined pharmacogenetic and clinical data. *Comput Methods Programs Biomed*. 2008; 91(2): 91-99. doi: 10.1016/j.cmpb.2008.02.004
34. Chiu YC, Chen HI, Zhang T, Zhang S, Gorthi A, Wang LJ, et al. Predicting drug response of tumors from integrated genomic profiles by deep neural networks. *BMC Med Genomics*. 2019; 12(Suppl 1): 143-155. doi: 10.1186/s12920-018-0460-9
35. Russell LE, Zhou Y, Almousa AA, Sodhi JK, Nwabufor CK, Lauschke VM. Pharmacogenomics in the era of next generation sequencing – From byte to bedside. *Drug Metab Rev*. 2021; 53(2): 253-278. doi: 10.1080/03602532.2021.1909613
36. Chiu YC, Chen HI, Gorthi A, Mostavi M, Zheng S, Huang Y, et al. Deep learning of pharmacogenomics resources: Moving towards precision oncology. *Brief Bioinform*. 2020; 21(6): 2066-2083. doi: 10.1093/bib/bbz144
37. Hertz DL, Ramsey LB, Gopalakrishnan M, Leeder JS, Van Driest SL. Analysis approaches to identify pharmacogenetic associations with pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther*. 2021; 110(3): 589-594. doi: 10.1002/cpt.2312
38. Yeh CH, Chou YJ, Tsai TH, Hsu PW, Li CH, Chan YH, et al. Artificial-intelligence-assisted discovery of genetic factors for precision medicine of antiplatelet therapy in diabetic peripheral artery disease. *Biomedicines*. 2022; 10(1): 116. doi: 10.3390/biomedicines10010116
39. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med*. 2009; 360(4): 354-362. doi: 10.1056/nejmoa0809171
40. Тарасочкина Д.С., Полунина Е.А., Севостьянова И.В., Воронина Л.П., Кантемирова Б.И. Взаимосвязи уровня фракталкина и показателей эхокардиоскопии при артериальной гипертензии, стенокардии напряжения и их сочетании. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2015; (4): 119-123. [Tarasochkina DS, Polunina EA, Sevostyanova IV, Voronina LP, Kantemirova BI. Interrelations of the fraktalkin level and echocardiographic indicators at the arterial hypertension, stenocardia tension and their combination. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2015; (4): 119-123. (In Russ.)].
41. Сычев Д.А., Шувев Г.Н., Торбенков Е.С., Адриянова М.А. Персонализированная медицина: взгляд клинического фармаколога. *Consilium Medicum*. 2017; 19(1): 61-68. [Sychev DA, Shuev GN, Torbenkov ES, Adrijanova MA. Personalized medicine: Clinical pharmacologist's opinion. *Consilium Medicum*. 2017; 19(1): 61-68. (In Russ.)].
42. Sahu A, Mishra J, Kushwaha N. Artificial intelligence (AI) in drugs and pharmaceuticals. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2022; 25(11): 1818-1837. doi: 10.2174/1386207325666211207153943
43. Roosan D, Chok J, Baskys A, Roosan MR. PGxKnow: A pharmacogenomics educational Hololens application of augmented reality and artificial intelligence. *Pharmacogenomics*. 2022; 23(4): 235-245. doi: 10.2217/pgs-2021-0120
44. Kelly CJ, Karthikesalingam A, Suleyman M, Corrado G, King D. Key challenges for delivering clinical impact with artificial intelligence. *BMC Med*. 2019; 17: 1-9. doi: 10.1186/s12916-019-1426-2
45. Wang F, Preininger A. AI in health: State of the art, challenges, and future directions. *Yearb Med Inform*. 2019; 28(1): 16-26. doi: 10.1055/s-0039-1677908
46. Auwerx C, Sadler MC, Reymond A, Kutalik Z. From pharmacogenetics to pharmaco-omics: Milestones and future directions. *HGG Adv*. 2022; 3(2): 100100. doi: 10.1016/j.xhgg.2022.100100
47. Arabi AA. Artificial intelligence in drug design: Algorithms, applications, challenges and ethics. *Fut Drug Discov*. 2021; 3(2): FDD59. doi: 10.4155/fdd-2020-0028

#### Сведения об авторах

**Абдуллаев Мусалитдин Абсаломович** – ассистент кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: abdullaev-musalitdin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-000107374-2660>

**Кантемирова Бэла Исмаиловна** – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: belakantemirova@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3278-2556>

**Башкина Ольга Александровна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой факультетской педиатрии, ректор, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: bashkina1@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4168-4851>

**Сычев Дмитрий Алексеевич** – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, ректор, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: dimasychev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5195-4301>

**Иванчук Ольга Викторовна** – доктор педагогических наук, доцент, заведующая кафедрой физики, математики и медицинской информатики, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: olgaiva.2401@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1614-7483>

**Романова Александра Николаевна** – аспирант кафедры фармакологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: sasha.styles005@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6564-3408>

#### Information about the authors

**Musalitdin A. Abdullaev** – Teaching Assistant at the Department of Pharmacology, Astrakhan State Medical University, e-mail: abdullaev-musalitdin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7374-2660>

**Bela I. Kantemirova** – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Pharmacology, Astrakhan State Medical University, e-mail: belakantemirova@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3278-2556>

**Olga A. Bashkina** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Faculty Pediatrics, Rector, Astrakhan State Medical University, e-mail: bashkina1@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4168-4851>

**Dmitriy A. Sychev** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Rector, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: dimasychev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5195-4301>

**Olga V. Ivanchuk** – Dr. Sc. (Ed.), Docent, Head of the Department of Physics, Mathematics and Medical Informatics, Astrakhan State Medical University, e-mail: olgaiva.2401@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1614-7483>

**Alexandra N. Romanova** – Postgraduate at the Department of Pharmacology, Astrakhan State Medical University, e-mail: sasha.styles005@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6564-3408>

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАКА ШЕЙКИ МАТКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кулешова О.Б.,  
Домонова Э.А.,  
Акимкин В.Г.

ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Ольга Борисовна Кулешова,  
e-mail: kuleshova.o@cmd.su

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Широкая распространённость рака шейки матки (РШМ) среди женщин России определяет актуальность изучения современных эпидемиологических характеристик и корректировку направлений мер борьбы.

**Цель исследования.** Анализ динамики заболеваемости раком шейки матки женщин в Российской Федерации.

**Материалы и методы.** Проведён ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости РШМ с 2008 по 2021 гг. в РФ. Используются материалы ежегодных статистических сборников «Злокачественные новообразования в России (заболеваемость и смертность)» и «Состояние онкологической помощи населению России» (2008–2022 гг.), данные федеральной статистической формы отчётности № 5 «Сведения о профилактических прививках» (2021 г.), данные о количестве проведённых исследований (цитологическое исследование и ВПЧ-тест методом ПЦР-РВ) в клинико-диагностической лаборатории ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (2013–2021 гг.).

**Результаты и обсуждение.** Установлены различия в тенденциях динамики заболеваемости РШМ женщин в зависимости от возраста. В возрастной группе женщин 30–49 лет выявлена стабилизация уровня заболеваемости начиная с 2016 г. с последующим снижением с 2019 г., обусловленные усилением мер вторичной профилактики, в том числе активным внедрением ВПЧ-теста в состав диагностических мероприятий, проводимых в РФ. Усиление мер борьбы с РШМ привело к увеличению доли случаев, диагностированных на ранних стадиях (карциномы *in situ* и РШМ I–II ст.), показателя выявления карциномы *in situ* на 100 случаев РШМ, доли выявленных карцином *in situ* по отношению к РШМ I–II ст., росту доли случаев РШМ, выявленных активно, снижению количества случаев РШМ, выявленных на поздних стадиях, снижению индекса одногодичной летальности.

**Заключение.** Данные эпидемиологического анализа заболеваемости РШМ характеризуют эффективность профилактических мер борьбы с заболеванием и указывают на необходимость интенсификации и увеличения охвата профилактическими мероприятиями.

**Ключевые слова:** рак шейки матки, РШМ, карцинома *in situ*, заболеваемость, эпидемиологический анализ

Статья поступила: 01.04.2024  
Статья принята: 10.10.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Кулешова О.Б., Домонова Э.А., Акимкин В.Г. Эпидемиологическая характеристика рака шейки матки в Российской Федерации. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 22-33. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.3

## CURRENT EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CERVICAL CANCER IN THE RUSSIAN FEDERATION

Kuleshova O.B.,  
Domonova E.A.,  
Akimkin V.G.

Central Research Institute of Epidemiology  
of the Federal Service for Surveillance  
on Consumer Rights Protection  
and Human Wellbeing  
(3a Novogireevskaya str., Moscow 111123,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
**Olga B. Kuleshova,**  
e-mail: kuleshova.o@cmd.su

### ABSTRACT

**Background.** The prevalence of cervical cancer (Cca) in Russian women makes it crucial to study modern epidemiological characteristics and adjust control measures accordingly.

**The aim.** To analyze trends in the incidence of cervical cancer in the Russian Federation.

**Materials and methods.** A retrospective epidemiological study was conducted on cervical cancer incidence in Russian Federation from 2008 to 2021. The materials of annual statistical data "Malignant neoplasms in Russia (morbidity and mortality)" and "Status of oncological assistance to the population of Russia" (2008–2022), data of the federal statistical reporting form No. 5 "Information about preventive vaccinations" (2021), data on the number of studies conducted (cytological study and HPV-test based on RT-PCR) in the clinical diagnostic laboratory of Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor (2013–2021) were used.

**Results and discussion.** The trends of Cca incidence varied depending on the women's age. Starting in 2016, there was a stabilization of the level of morbidity in women aged 30–49 with the subsequent decrease from 2019 due to the strengthening of secondary prevention measures, including the active introduction of HPV-test into the diagnostic schemes conducted in the Russian Federation. Increased control of cervical cancer caused a rise in the proportion of cases diagnosed at an early stage (carcinomas in situ and I–II stages Cca), the increase of detection rate of in situ carcinomas per 100 cases of Cca, the growth of the proportion of carcinomas in situ to I–II stages Cca, rise of the percentage of the cases detected actively, decrease of the number of Cca cases detected at later stages and one-year mortality index.

**Conclusion.** The epidemiological analysis of cervical cancer incidence shows that preventive measures are effective and that there is a need to intensify and increase their coverage.

**Key words:** cervical cancer, Cca, carcinoma in situ, incidence, epidemiological study

Received: 01.04.2024  
Accepted: 10.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Kuleshova O.B., Domonova E.A., Akimkin V.G. Current epidemiological characteristics of cervical cancer in the Russian Federation. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 22-33. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.3

## ОБОСНОВАНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) обозначен Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как одна из приоритетных проблем общественного здравоохранения. По данным агентства GLOBOCAN, в 2022 г. среднемировой уровень заболеваемости составил 14,1 на 100 тыс. женщин, варьируя в широком диапазоне в разных странах от 69,4 (Королевство Эсватини) до 1,4 (Йемен) [1]. Медико-демографические потери, рассчитанные по методу DALY (Disability Adjusted Life Year – год жизни с поправкой на инвалидность) в мировом масштабе для РШМ, по данным на 2019 г., составили  $8,96 \times 10^6$  (95%-й доверительный интервал (95% ДИ):  $7,75 \times 10^6$ – $9,98 \times 10^6$ ) единиц DALY, что означает потерю 8,96 млн лет «здоровой жизни» женщин мира [2]. РШМ имеет инфекционную этиологию, долгий период развития от момента инфицирования и является управляемым заболеванием с помощью средств специфической вакцинопрофилактики. Целевой уровень заболеваемости, рекомендованный ВОЗ, как признак успеха в проведении профилактики РШМ, составляет 4 случая на 100 тыс. женщин. Для достижения данного уровня рекомендовано применение трёх звеньев профилактики: первичная – вакцинопрофилактика с широким охватом населения (не менее 90 % девочек к 15 годам жизни); вторичная – скрининг женщин для выявления предрака и РШМ (обследование не менее 70 % женщин к 35- и 45-летнему возрасту); третичная – лечение женщин с выявленным предраком и РШМ (не менее 90 % женщин с предраком и РШМ) [3]. Зарубежный опыт, полученный в Австралии, демонстрирует, что только введение национальной программы скрининга на основе цитологического исследования с 1991 г. позволило к 2010 г. снизить уровень заболеваемости РШМ в среднем на 50 % среди женщин старше 24 лет [4], введение широкомасштабной вакцинации с 2008 г. и скрининга на основе первичного ВПЧ-теста позволило достичь уровня заболеваемости 6,9 на 100 тыс. женщин в 2022 г. [1].

Неотъемлемой частью государственной политики в области здравоохранения Российской Федерации является борьба с онкологическими заболеваниями, включая РШМ, в том числе, реализуемая в рамках одноименного государственного проекта [5]. Большие надежды связаны с разработкой отечественной вакцины против ВПЧ [6, 7]. Ведётся планомерная работа по внедрению прогрессивных схем вторичной профилактики [8]. Разработаны и сертифицированы отечественные диагностические инструменты для проведения ВПЧ-тестирования [9]. Оценка состояния проблемы РШМ в Российской Федерации предполагает анализ динамики показателей заболеваемости и смертности, определение основных тенденций изменения данных параметров, и определения причин изменений. Вышеуказанное необходимо для оценки эффективности и своевременной корректировки стратегий профилактических мероприятий с целью достижения целевых уровней заболеваемости РШМ среди женщин Российской Федерации.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ динамики заболеваемости раком шейки матки женщин в Российской Федерации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Проведён ретроспективный анализ заболеваемости и смертности от РШМ на территории Российской Федерации за период с 2008 по 2021 г. Используются совокупные данные статистической формы № 7 «Сведения о злокачественных новообразованиях» Минздрава России, опубликованные Российским Центром информационных технологий и эпидемиологических исследований в области онкологии Минздрава России (РЦИТЭО) в составе МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦРЦ» Минздрава России в составе ежегодных сборников «Злокачественные новообразования в России (заболеваемость и смертность)» и «Состояние онкологической помощи населению России» за 2008–2022 гг. [10–34]. На основании данных материалов изучены основные показатели, характеризующие состояние и тенденции развития эпидемического процесса: распространённость РШМ, динамика заболеваемости и смертности от РШМ, возрастные особенности динамики заболеваемости, а также показатели, характеризующие организационные аспекты оказания онкологической помощи: динамика показателей ранней диагностики и запущенности РШМ, динамика показателей активного выявления РШМ и выявления посмертно. Для оценки многолетней динамики количества обследованных женщин города Москвы и Московской области использованы данные о количестве проведённых ко-тестов (цитологическое исследование и ВПЧ-тест методом ПЦР-РВ) в лаборатории ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора за 2013–2021 гг. Для анализа активности проведения вакцинопрофилактики использованы данные федеральной статистической формы отчётности № 5 «Сведения о профилактических прививках» за 2021 г.

Для статистической обработки использованы стандартные методы описательной статистики, в частности анализировали следующие показатели: заболеваемость/смертность на 100 тыс. женщин (интенсивный показатель), абсолютный прирост, темп роста, темп прироста. Для статистической обработки данных использовали программы: «Microsoft Office Excel 2013» (Microsoft Corp., США), «MedCalc Software LTD 1993-2023» (Бельгия). Для сравнения статистической значимости изменения показателей заболеваемости в разные годы использовался критерий Пирсона ( $\chi^2$ ). Различия между показателями считали статистически значимыми (статистически достоверными) при  $p < 0,05$ .

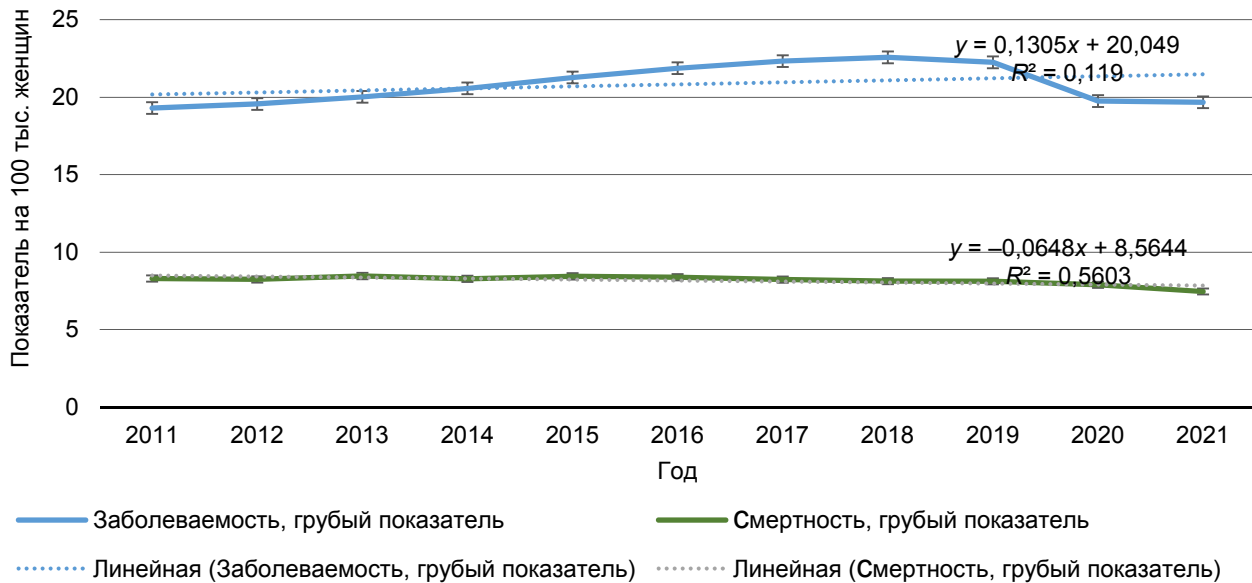
**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

**Общая характеристика заболеваемости и смертности РШМ в РФ за 2011–2021 гг.**

По данным статистического наблюдения, динамика заболеваемости РШМ за период с 2011 по 2021 г. сменила тренд с возрастания на снижение (рис. 1, табл. 1).

Изменения интенсивного показателя заболеваемости, закономерно, сопровождались изменениями абсолютного прироста/снижения, показателя роста/сниже-

ния и темпа прироста заболеваемости (табл. 2, 3). Так, заболеваемость РШМ за период 2012–2015 гг. поступательно возрастала ( $p < 0,0001$ ), наблюдалось увеличение показателя роста заболеваемости ( $p < 0,0001$ ) и темпа прироста заболеваемости ( $p < 0,0001$ ). Среднегодовой рост составил 0,495 на 100 тыс. женщин. В 2016–2018 гг. наблюдалось снижение абсолютного прироста заболеваемости ( $p < 0,0001$ ), уменьшение показателя роста ( $p < 0,0001$ ) и замедление темпа прироста заболеваемости ( $p < 0,0001$ ). Средняя величина роста интенсивного



**РИС. 1.**  
Динамика интенсивных показателей заболеваемости и смертности от РШМ в России за 2011–2021 гг.

**FIG. 1.**  
Dynamics of intensive morbidity and mortality rates from cervical cancer in Russia in 2011–2021

**ТАБЛИЦА 1**  
**ДИНАМИКА ИНТЕНСИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ И СМЕРТНОСТИ РШМ В РОССИИ ЗА 2011–2021 ГГ.**

**TABLE 1**  
**DYNAMICS OF INTENSIVE MORBIDITY AND MORTALITY RATES FROM CERVICAL CANCER IN RUSSIA IN 2011–2021**

Год	Заболееваемость в расчёте на 100 тыс. женщин	95% ДИ	Смертность в расчёте на 100 тыс. женщин	95% ДИ
2011	19,30	18,99–19,61	8,30	8,10–8,50
2012	19,56	19,25–19,87	8,24	8,04–8,44
2013	20,02	19,70–20,34	8,46	8,25–8,67
2014	20,57	20,25–20,89	8,28	8,08–8,48
2015	21,27	20,95–21,59	8,44	8,24–8,64
2016	21,87	21,54–22,20	8,38	8,18–8,58
2017	22,33	22,00–22,66	8,23	8,03–8,43
2018	22,57	22,24–22,90	8,13	7,93–8,33
2019	22,25	21,92–22,58	8,12	7,92–8,32
2020	19,75	19,44–20,06	7,89	7,69–8,09
2021	19,67	19,36–19,98	7,46	7,27–7,65

**ТАБЛИЦА 2**  
**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ РШМ НА 100 ТЫС. НАСЕЛЕНИЯ**  
**В 2011–2021 гг. НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ**  
**ФЕДЕРАЦИИ**

**TABLE 2**  
**CERVICAL CANCER INCIDENCE PER 100 THOUSAND**  
**POPULATION IN 2011–2021 IN RUSSIAN FEDERATION**

Год	Абсолютный прирост/ снижение заболеваемости в расчёте на 100 тыс. женщин	Показатель роста/ снижения, заболеваемости, %	Темп прироста/снижения заболеваемости, %	Абсолютный прирост/ снижение смертности в расчёте на 100 тыс. женщин	Показатель роста/снижения смертности, %	Темп прироста/снижения смертности, %
2011	0,00	100,00	0,00	0,18	102,22	2,22
2012	0,26	101,35	1,35	-0,06	99,28	-0,72
2013	0,46	102,35	2,35	0,22	102,67	2,67
2014	0,55	102,75	2,75	-0,18	97,87	-2,13
2015	0,7	103,40	3,40	0,16	101,93	1,93
2016	0,6	102,82	2,82	-0,06	99,29	-0,71
2017	0,46	102,10	2,10	-0,15	98,21	-1,79
2018	0,24	101,07	1,07	-0,10	98,78	-1,22
2019	-0,32	98,58	-1,42	-0,01	99,88	-0,12
2020	-2,5	88,76	-11,24	-0,23	97,17	-2,83
2021	-0,08	99,59	-0,41	-0,43	94,55	-5,43

**ТАБЛИЦА 3**  
**ЗНАЧЕНИЕ СРЕДНЕЙ ВЕЛИЧИНЫ РОСТА/СНИЖЕНИЯ**  
**ИНТЕНСИВНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ РШМ**  
**В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ДЛЯ ТРЁХ ВРЕМЕННЫХ**  
**ПЕРИОДОВ**

**TABLE 3**  
**THE AVERAGE INCREASE/DECREASE OF THE INTENSIVE**  
**RATE OF CERVICAL CANCER INCIDENCE IN THE RUSSIAN**  
**FEDERATION FOR THREE TIME PERIODS**

Период наблюдения, год	Средняя величина роста/снижения интенсивного показателя	Стандартная ошибка
2011–2015	0,495	0,048
2016–2018	0,350	0,064
2018–2021	-1,12	0,237

показателя за 2016–2018 гг. составила 0,35 на 100 тыс. женщин. Начиная с 2019 г. интенсивный показатель заболеваемости начал снижаться более динамично с резким спадом в 2020 г. и продолжением снижения в 2021 г. ( $p < 0,0001$ ). Средняя величина снижения интенсивного показателя заболеваемости составила -1,12 на 100 тыс. женщин. В то же время динамика интенсивного показателя смертности имела более сдержанный характер, со значимым снижением лишь в 2020 и 2021 гг. ( $p < 0,0001$ ).

Таким образом, отмечаемое снижение темпа роста заболеваемости (с 2016 г.), а затем и снижение интенсив-

ного показателя заболеваемости (с 2019 г.) произошло до начала пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на территории Российской Федерации и обусловлено другими причинами. Наиболее интенсивное возрастание темпа снижения заболеваемости в 2020 г. совпадает со временем пандемии и, вероятно, является её следствием. Для расследования причин замедления роста заболеваемости и последующего снижения заболеваемости до 2020 г. потребовалось проведение дополнительного анализа, включающего изучение особенностей динамики интенсивных показателей по воз-

расту и параметров, характеризующих организационный аспект борьбы с РШМ.

**Анализ динамики заболеваемости по возрасту**

При ранжировании многолетней динамики интенсивного показателя заболеваемости в зависимости от возраста, наблюдаются три основные тенденции: в группе молодых женщин (20–29 лет) – незначительное снижение заболеваемости с 2018 по 2021 г.; в группе женщин среднего возраста (30–49 лет) наиболее интенсивный рост с 2008 до 2016 г. со стабилизацией в 2016–2018 гг. и снижением начиная с 2019 г.; в группе женщин в возрасте 50 лет и старше – рост заболеваемости с 2008 до 2018 г. с динамичным снижением начиная с 2019 г. (рис. 2).

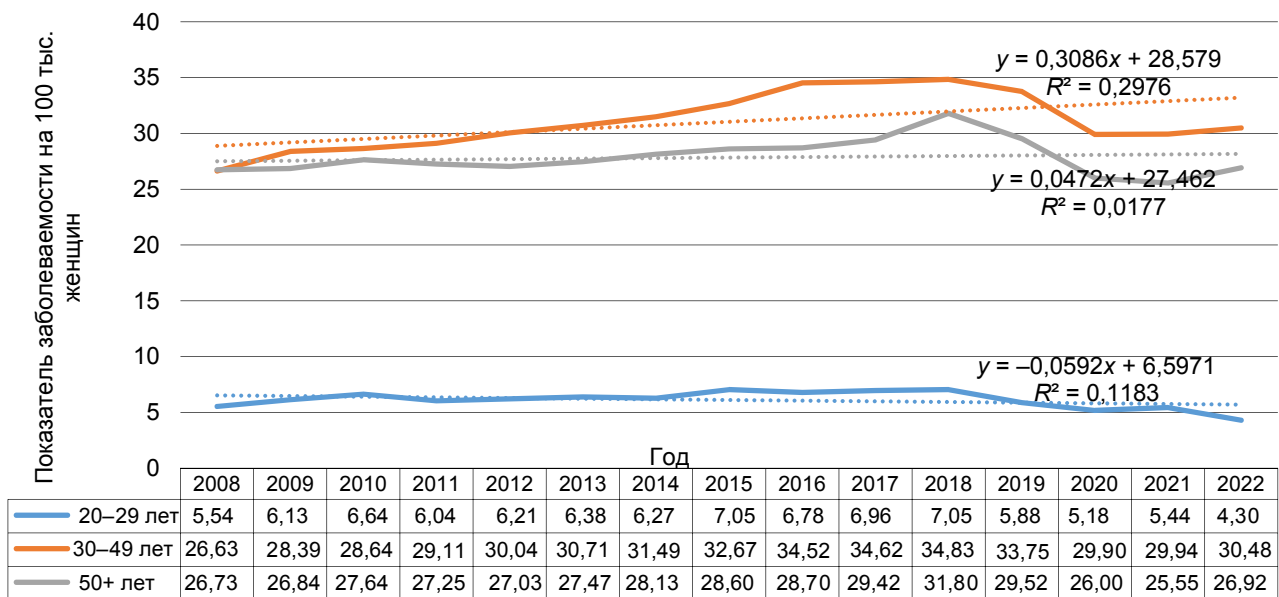
Различающиеся тенденции изменения заболеваемости могут быть обусловлены применением различных профилактических мер борьбы с РШМ в разных возрастных категориях. Первичная профилактика – вакцинация от ВПЧ девочек в возрасте 9–14 лет – проводилась на территории Российской Федерации начиная с 2008 г. в Московской области и, позднее, в ряде других регионов. В целом за 13 лет, с 2008 по 2021 г., вакцинация проведена лишь в нескольких регионах и не имела масштабного охвата. К примеру, по данным федеральной статистической формы отчётности № 5 «Сведения о профилактических прививках» за 2021 г., в Российской Федерации вакцинировано против вируса папилломы человека 91 011 человек, при этом максимальное количество вакцинированных зарегистрировано в г. Москве – 37 883 человека. Вакцинация против вируса папилломы человека не проводилась в следующих субъектах Российской Федерации: Псковская область, Республика Адыгея, Республика Калмыкия, Краснодарский край, Республика Дагестан, Республика Ингушетия, Кабардино-Балкарская

Республика, Карачаево-Черкесская Республика, Республика Северная Осетия – Алания, Чеченская Республика, Республика Тыва, Республика Хакасия, Еврейская автономная область [35].

Несмотря на то, что динамика заболеваемости в возрастных группах 20–24 года и 25–29 лет (потенциально вакцинированные возрастные группы с 2008 г.) имеет восходящую тенденцию ( $p < 0,0001$ ) в 2008–2018 гг., а затем нисходящую тенденцию в 2019–2021 гг. ( $p < 0,0001$ ), вклад случаев РШМ данных возрастных групп в общую заболеваемость незначительный (удельный вес в возрастной структуре РШМ в 2018 г. – 3,48 %, 95% ДИ: 3,22–3,76 %; в 2021 г. – 2,61 %, 95% ДИ: 2,37–2,78 %) и не может в полной мере объяснять снижение общей заболеваемости РШМ.

Заболеваемость РШМ в старших возрастных группах (50 лет и старше) (удельный вес в возрастной структуре РШМ в 2008 г. – 53,57 %, 95% ДИ: 52,74–54,40 %; в 2021 г. – 52,33 %, 95% ДИ: 51,54–53,12 %) возрастает в 2008–2018 гг. ( $p < 0,0001$ ), снижаясь в 2019 г. ( $p < 0,0001$ ) и резко снижаясь в 2020 г. ( $p < 0,0001$ ) с дальнейшей стабилизацией в 2021 г. ( $p = 0,27$ ) (рис. 2). Резкая тенденция к снижению заболеваемости в 2020 и 2021 гг. может быть связана с влиянием пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на выживаемость женщин старшего возраста с предраком и не диагностированным РШМ, а также снижением охвата диагностическими мероприятиями вследствие карантинных мер, на что указывает рост количества случаев РШМ, диагностированных посмертно ( $p < 0,0001$ ) в 2011–2021 гг., причём наиболее выраженное нарастание случаев наблюдается начиная с 2020 г.: удельный вес в 2019–2021 гг. – 1,61–2,30 %,  $p < 0,0001$  (рис. 3).

В группе женщин среднего возраста (30–49 лет) (удельный вес в возрастной структуре РШМ в 2008 г. –



**РИС. 2.** Динамика интенсивного показателя заболеваемости РШМ в зависимости от возраста

**FIG. 2.** Dynamics of cervical cancer intensive incidence rate depending on age

41,53 %, 95% ДИ: 40,71–42,35 %; в 2021 г. – 45,04 %, 95% ДИ: 44,255–45,83 %) наметилась тенденция к стабилизации заболеваемости в 2016–2018 гг. ( $p = 0,58$ ) и последующему снижению заболеваемости начиная с 2019 г. (года предшествующего пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на территории Российской Федерации) ( $p < 0,0001$ ) (рис. 2). Причиной поворотного этапа в динамике заболеваемости могла послужить интенсификация вторичной профилактики, поскольку данная возрастная группа является целевой для проведения скрининговых программ борьбы с РШМ, в том числе с применением ВПЧ-теста. Для верификации эффективности применения мер борьбы с заболеванием необходимо анализ параметров, характеризующих организационный аспект профилактики РШМ.

### Анализ параметров, характеризующих организационный аспект борьбы с РШМ

Ключевым показателем эффективности диагностики злокачественных новообразований считается показатель раннего выявления. В методических рекомендациях № 97 Департамента здравоохранения города Москвы «Расчёт медико-статистических показателей учреждений и территорий в краткосрочной динамике, применяемых в онкологии» рекомендована обобщённая формула уточнённой модели ранней диагностики, включающей помимо злокачественных новообразований I–II стадий, учёт злокачественных новообразований, выявленных *in situ* [36].

$$\text{Доля ранних форм РШМ + предрака, \%} = \frac{1+3}{2+3} * 100,$$

где: 1 – число впервые выявленных РШМ I + II стадий; 2 – общее число РШМ, выявленных впервые; 3 – число впервые выявленных карцином *in situ*.

Динамика показателя ранней диагностики с 2011 по 2021 г., рассчитанная по предложенной формуле, представлена на рисунке 3.

Как видно из рисунка 3, за последние 10 лет наблюдается увеличение доли впервые выявленных случаев карциномы *in situ* и РШМ I–II стадий ( $p < 0,0001$ ) от числа впервые выявленных заболеваний (исключая выявленные посмертно). Увеличивается и официальный среднероссийский показатель выявленных случаев собственно карциномы *in situ* на 100 случаев РШМ в 2011–2021 гг. ( $p = 0,009$ ). Кроме того, соотношение выявленных случаев карцином *in situ* и ранних стадий РШМ увеличивается с 2019 г. в пользу случаев выявления предрака с 25,8 до 34,7 % ( $p < 0,0001$ ) (рис. 4). Наблюдается неравномерный прирост больных РШМ (с периодами роста и спада), выявленных активно ( $p = 0,02$ ) в 2011–2021 гг. (рис. 3). Примечательно, что наиболее динамично показатель активного выявления РШМ нарастал с 2016 г. и достигал максимальных значений в 2017–2019 гг. соответственно, резко снизившись в 2020 и 2021 гг. ( $p < 0,0001$ ). Описанная динамика хорошо согласуется с ранее показанным снижением темпа прироста заболеваемости с 2016 г., а затем со временем развития пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) и карантинными мерами сдерживания её распространения.

В совокупности данные факты – увеличение доли выявленных случаев карциномы *in situ* и РШМ I–II ст., увеличение показателя выявления карциномы *in situ* на 100 случаев РШМ, увеличение доли выявленных карцином *in situ* по отношению к РШМ I–II ст., рост доли случаев РШМ, выявленных активно, – могут свидетельствовать об интенсификации ранней диагностики, увеличении онконастороженности врачей и пациентов в отношении РШМ и увеличении вклада скрининга в снижение заболеваемости РШМ. Однако отсутствие данных о коли-

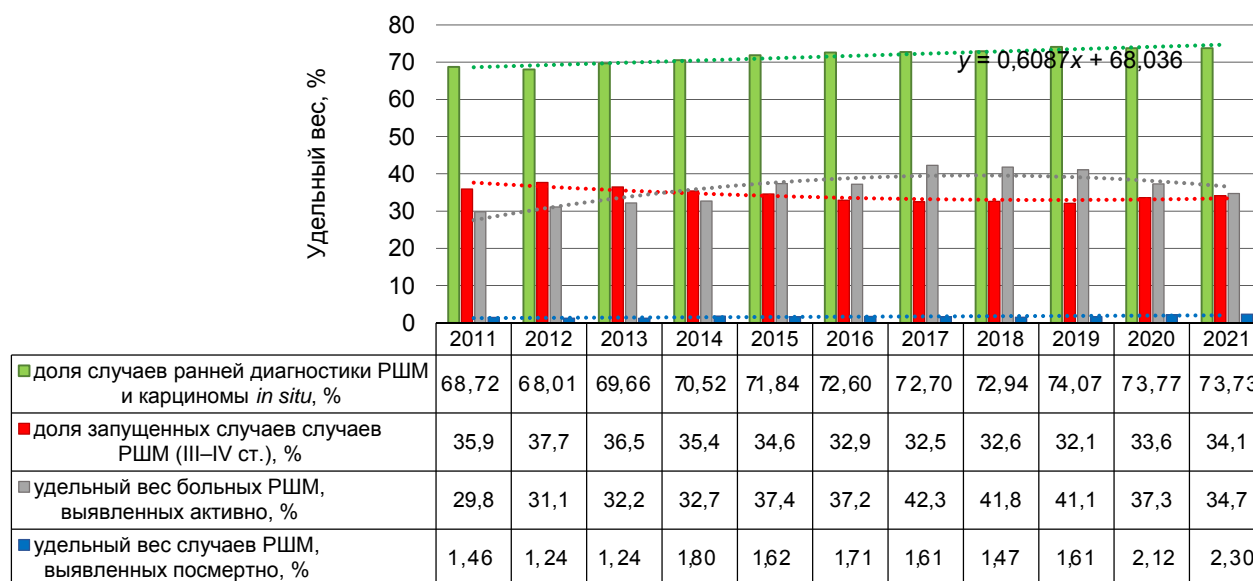


РИС. 3.

Динамика показателей, характеризующих организационный аспект профилактики РШМ (2011–2021 гг.)

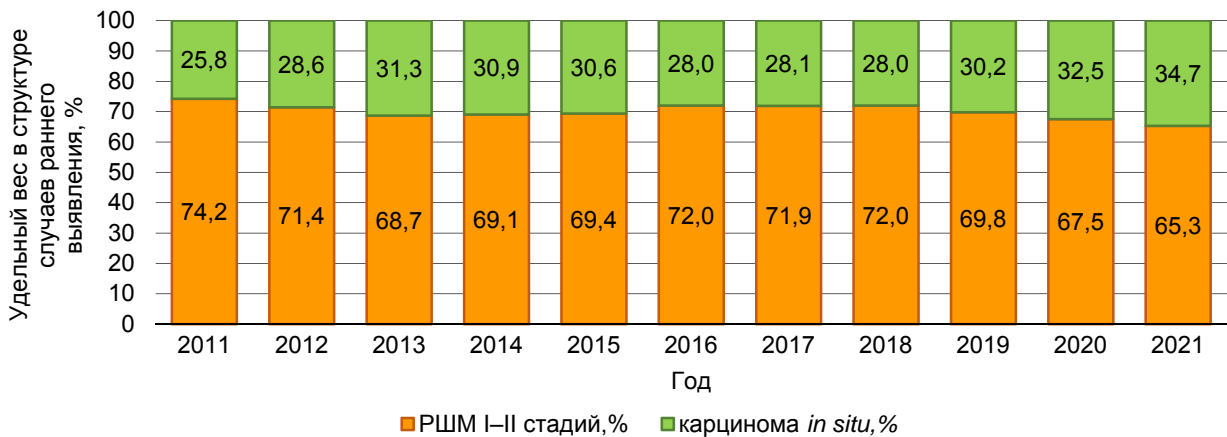
FIG. 3.

Dynamics of indicators characterizing the organization of cervical cancer prevention (2011–2021)

честве выявленных случаев плоскоклеточных интраэпителиальных поражений высокой степени (HSIL) за анализируемый период времени оставляет данное предположение неподтверждённым.

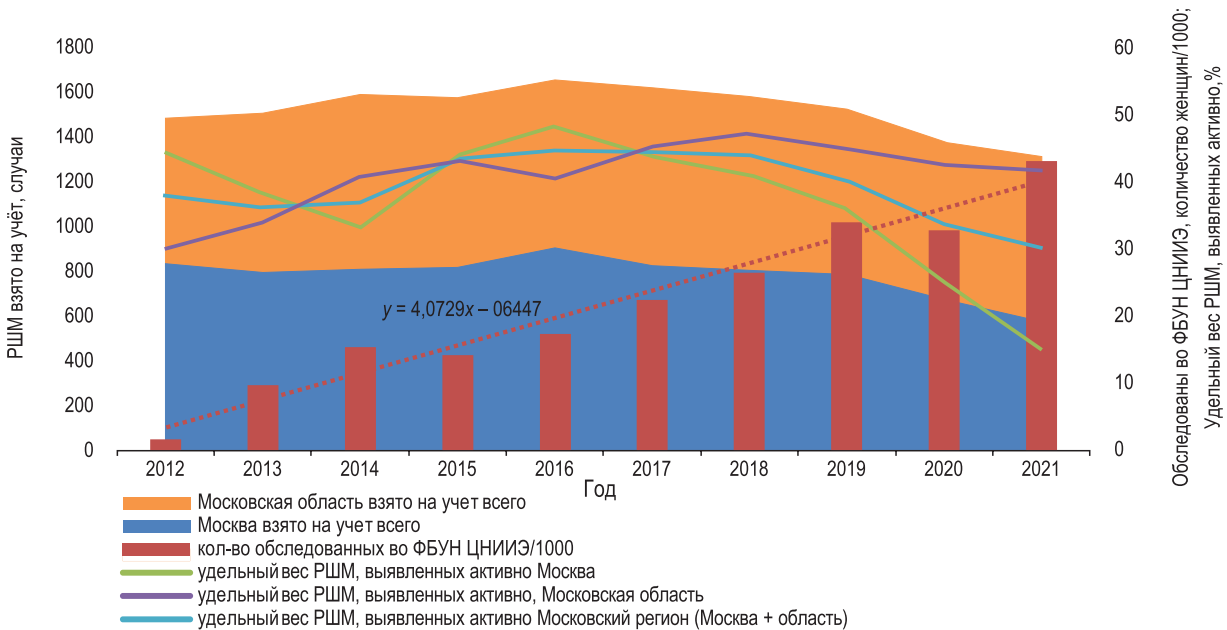
Динамика количества обследований пациентов, проводимых на базе ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора с применением схемы, основанной на ко-тестировании: ВПЧ-тестирование на основе ПЦР-РВ и исследование микропрепарата шейки матки методом жидкостной цитологии, введённой с 2012 г., иллюстрирует поступательное увеличение охвата скринингом женщин Московского региона (рис. 5).

Снижение регистрации случаев РШМ в Московском регионе и, в особенности, в г. Москве при возрастании количества обследуемых ежегодно женщин может косвенно свидетельствовать об интенсификации выявления и своевременности лечения предраковых патологий (HSIL), не подлежащих регистрации и учёту. Примечательно, что снижение количества случаев РШМ в г. Москве, выявленных активно, наблюдалось, начиная с 2016 г. ( $p < 0,001$ ), что может быть связано с несовершенством системы регистрации, не учитывающей в активном выявлении стадии карциномы *in situ* и HSIL.



**РИС. 4.**  
Динамика структуры случаев раннего выявления, включая РШМ I-II степени и карциномы *in situ* (2011–2021 гг.)

**FIG. 4.**  
Dynamics of the structure of early detection cases, including cervical cancer stage I-II and carcinomas *in situ* (2011–2021)



**РИС. 5.**  
Динамика случаев взятия на учёт женщин с РШМ в городе Москве и Московской области и динамика количества обследуемых женщин с применением ко-тестирования в ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (2013–2021 гг.)

**FIG. 5.**  
Dynamics of cervical cancer cases registration in Moscow and the Moscow region and dynamics of the number of women examined using co-testing at the Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор (2013–2021)

В связи с увеличением количества случаев РШМ, диагностированных на раннем этапе или на этапе предрака, ожидается снижение количества выявления поздних запущенных форм заболевания (III и IV стадий). На рисунке 3 представлена динамика снижения показателя запущенности заболевания ( $p = 0,008$ ) в 2011–2021 гг. Индекс одногодичной летальности снизился в 2011–2021 гг. ( $p < 0,0001$ ), что может характеризовать увеличение эффективности выявления патологии на ранних стадиях. Соотношение одногодичной летальности в текущем году к запущенности за предыдущий год для РШМ из года в год остаётся на уровне существенно ниже единицы, более того имеет тенденцию к снижению ( $p = 0,00013$ ) в 2011–2021 гг. (рис. 6). Данный параметр указывает на большую вероятность несоответствия между долей РШМ III–IV стадий и фактической запущенностью заболевания, в таких случаях предполагают увеличение доли некорректно стадированных случаев заболевания. Исходя из этого, вероятно, показатель запущенности не отражает истинную структуру выявляемых стадий РШМ шейки матки и является завышенным.

Таким образом, анализ основных показателей, характеризующих состояние и динамику развития эпидемического процесса при РШМ, позволил выявить тенденцию к замедлению роста, а затем и снижению показателей заболеваемости в 2011–2021 гг.; в свою очередь анализ параметров, характеризующих организационные аспекты оказания онкологической помощи, позволил предположить причины развития выявленных тенденций.

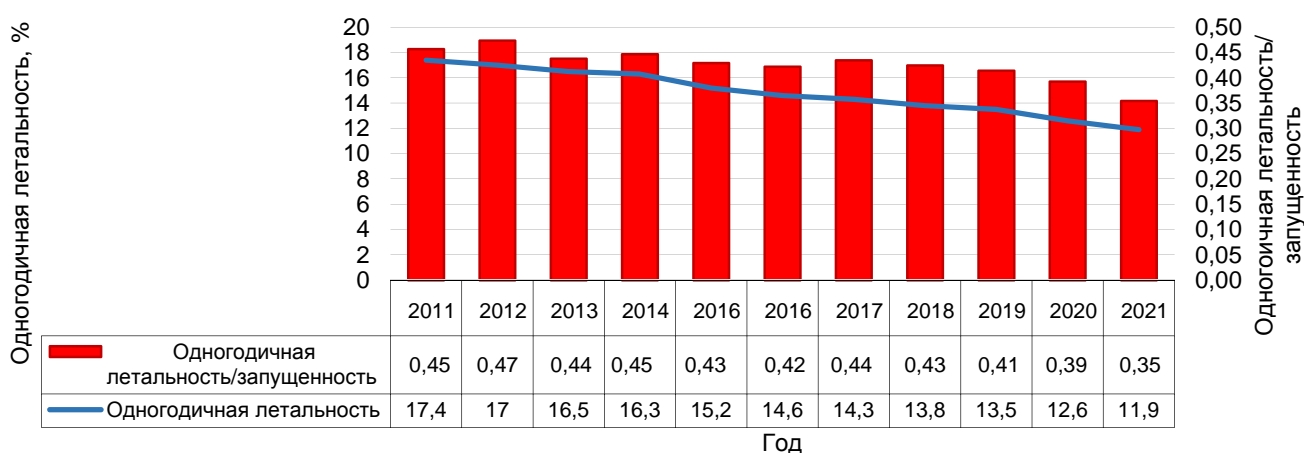
Выявленная слабовыраженная динамика заболеваемости в группе молодых женщин в возрасте 20–29 лет, вероятно, связана с отсутствием масштабной первичной профилактики и ограниченным спектром диагностиче-

ских мероприятий, регламентированным для данной возрастной группы в рамках вторичной профилактики (только цитологическое обследование женщин возраста 25–29 лет) [8].

Выявленная остановка роста заболеваемости, начиная с 2016 г., и последующее снижение, начиная с 2019 г., в группе женщин возраста 30–49 лет, вероятно, связаны с интенсификацией мер вторичной профилактики, в том числе активным внедрением ВПЧ-теста в состав диагностических мероприятий, чувствительность которого превышает чувствительность цитологического метода, ранее применявшегося в качестве единственного в рамках скрининга. Практика зарубежных стран ранее показала эффективность применения данной стратегии в борьбе с РШМ [37].

Установленное резкое снижение заболеваемости в возрастной группе 50 лет и старше, начиная с 2020 г., вероятно, связано с влиянием пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на масштабы обследования женщин, выявление патологии, правильность определения причин смерти, выживаемость и дожитие женщин с предраком до развития РШМ.

Усиление мер борьбы с РШМ привело к увеличению доли случаев, диагностированных на ранних стадиях: карциномы *in situ* и РШМ I–II ст., увеличению показателя выявления карциномы *in situ* на 100 случаев РШМ, увеличению доли выявленных карцином *in situ* по отношению к РШМ I–II ст., росту доли случаев РШМ, выявленных активно, снижению количества случаев РШМ, выявленных на поздних стадиях, снижению индекса одногодичной летальности. В 2020–2021 гг. наблюдались наиболее резкие изменения показателей заболеваемости среди женщин среднего возраста (30–49 лет), как и в группе женщин старшего возраста (> 50 лет), что, очевидно,



**РИС. 6.** Динамика показателя летальности больных в течение года с момента установления диагноза РШМ (из числа больных, впервые взятых на учёт в предыдущем году) и отношения количества пациентов умерших в течение года с момента установления диагноза к числу пациентов, взятых на учёт в запущенной стадии РШМ (III–IV стадии) за предыдущий год (2011–2021 гг.)

**FIG. 6.** Dynamics of the one-year mortality rate of patients from the moment of diagnosis of cervical cancer (from the number of patients registered for the first time in the previous year) and the ratio of the number of patients who died during the year from the moment of diagnosis to the number of patients registered in the severe stage of cervical cancer (III–IV) in the previous year (2011–2021)

связано с негативным влиянием пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совокупные данные анализа состояния и развития эпидемического процесса указывают на наметившийся успех в борьбе с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки в рамках противораковой политики, набирающей масштабы в Российской Федерации, однако показатели заболеваемости не достигли целевых значений, обозначенных ВОЗ в рамках глобальной стратегии борьбы с РШМ, что, в частности, демонстрирует низкий показатель активного выявления. Для форсирования темпов снижения заболеваемости требуется интенсификация и увеличение охвата профилактическими мероприятиями.

### Финансирование

Исследование выполнено в рамках темы Государственного задания № 141-00094-21-00, номер государственного учёта НИОКТР АААА-А21-121011990055-2.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries *Ca Cancer J Clin.* 2024; 74(3): 229-263. doi: 10.3322/caac.21834
2. Global Burden of Disease 2019 Cancer Collaboration, Kocarnik JM, Compton K, Dean FE, Fu W, Gaw BL, et al. Cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life years for 29 cancer groups from 2010 to 2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *JAMA Oncol.* 2022; 8(3): 420-444. doi: 10.1001/jamaoncol.2021.6987
3. WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, second edition. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240030824>. [date of access: 21.03.2023].
4. Smith M, Canfell K. Impact of the Australian National Cervical Screening Program in women of different ages. *Med J Aust.* 2016; 205(8): 359-364. doi: 10.5694/mja16.00289
5. Национальный проект «Здоровье», Федеральный проект «Борьба с онкологическими заболеваниями». 2019. [National project "Health"; Federal project "Fight against oncological diseases". 2019. (In Russ.)]. URL: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/natsproektzdavoohranenie/onk> [дата доступа: 26.03.2024].
6. Распоряжение правительства № 744 от 29.03.2021 г. [Government Order No. 744 of March 29, 2021. (In Russ.)]. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&docum entId=447826> [дата доступа: 26.03.2024].

7. Российская вакцина от ВПЧ успешно прошла 3 фазу клинических исследований: Информация на сайте производителя. 2023. [Russian HPV vaccine successfully passed phase 3 clinical trials: Information on the manufacturer's website. 2023. (In Russ.)]. URL: <https://nanolek.ru/news/companynews/Rossiiskaya-vaktsina-ot-VPCH-ushpeshno-proshla-3-fazu-klinicheskikh-issledovaniy/> [дата доступа: 26.03.2024].

8. Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки. Клинические рекомендации. 2020. [Cervical intraepithelial neoplasia, erosion and ectropion of the cervix. Clinical guidelines. 2020. (In Russ.)]. URL: [https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/597\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/597_1). [дата доступа: 26.03.2024].

9. Холопов Д.В., Вязовая А.А., Лялина Л.В., Алексеева Д.А., Молчанов С.В., Нарвская О.В., и др. Вирус папилломы человека при злокачественных новообразованиях различных локализаций. *Вопросы онкологии.* 2023; 69(1): 89-94. [Kholopov DV, Vязовaya AA, Lyalina LV, Alexeyeva DA, Molchanov SV, Narvskaya OV, et al. Human papillomavirus in malignant neoplasms of various localizations. *Voprosy Onkologii.* 2023; 69(1): 89-94. (In Russ.)]. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-1-89-94

10. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Росмедтехнологий, 2010. [Chissov VI, Starinsky VV, Petrova GV. Malignant neoplasms in Russia in 2008 (morbidity and mortality). Moscow: FGU "MNIОI im. P.A. Gertsena" Rosmedtekhnologiy Publ., 2010. (In Russ.)].

11. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2009 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России, 2011. [Chissov VI, Starinsky VV, Petrova GV. Malignant neoplasms in Russia in 2009 (morbidity and mortality). Moscow: FGU "MNIОI im. P.A. Gertsena" Minzdravsootsrazvitiya Rossii Publ., 2011. (In Russ.)].

12. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России, 2012. [Chissov VI, Starinsky VV, Petrova GV. Malignant neoplasms in Russia in 2010 (morbidity and mortality). Moscow: FGBU "MNIОI im. P.A. Gertsena" Minzdravsootsrazvitiya Rossii Publ., 2012. (In Russ.)].

13. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2011 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2013. [Chissov VI, Starinsky VV, Petrova GV. Malignant neoplasms in Russia in 2011 (morbidity and mortality). Moscow: FGU "MNIОI im. P.A. Gertsena" Minzdrava Rossii Publ., 2013. (In Russ.)].

14. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2014. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. Malignant neoplasms in Russia in 2012 (morbidity and mortality). Moscow: FGBU "MNIОI im. P.A. Gertsena" Minzdrava Rossii Publ., 2014. (In Russ.)].

15. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГУ «ФМИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2015. [Kaprin AD,

Starinsky VV, Petrova GV. *Malignant neoplasms in Russia in 2013 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “FMI im. P.A. Gertsena” Minzdrava Rossii Publ., 2015. (In Russ.).

16. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *Malignant neoplasms in Russia in 2014 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2016. (In Russ.).]

17. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2017. (In Russ.).]

18. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2018. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *Malignant neoplasms in Russia in 2016 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2018. (In Russ.).]

19. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2018. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *Malignant neoplasms in Russia in 2017 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2018. (In Russ.).]

20. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2019. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2019. (In Russ.).]

21. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2020. [Kaprin AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO. *Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2020. (In Russ.).]

22. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2021. [Kaprin AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO. *Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2021. (In Russ.).]

23. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2022. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *Malignant neoplasms in Russia in 2021 (morbidity and mortality)*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2022. (In Russ.).]

24. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2011 году*. М.: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2012. [Chissov VI, Starinsky VV, Petrova GV. *The state of oncological care for the population of Russia in 2011*. Moscow: FGU “MNIОI im. P.A. Gertsena” Minzdrava Rossii Publ., 2012. (In Russ.).]

25. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году*. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2013. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *The state of oncological care for the population of Russia in 2012*. Moscow: FGBU “MNIОI im. P.A. Gertsena” Minzdrava Rossii Publ., 2013. (In Russ.).]

26. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2013 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «ФМИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2014. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *The state of oncological care for the population of Russia in 2013*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “FMI im. P.A. Gertsena” Minzdrava Rossii Publ., 2014. (In Russ.).]

27. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2015. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *The state of oncological care for the population of Russia in 2014*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2015. (In Russ.).]

28. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *The state of oncological care for the population of Russia in 2015*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2016. (In Russ.).]

29. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *The state of oncological care for the population of Russia in 2016*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2017. (In Russ.).]

30. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2018. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *The state of oncological care for the population of Russia in 2017*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2018. (In Russ.).]

31. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2019. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *The state of oncological care for the population of Russia in 2018*. Moscow: MNIОI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2019. (In Russ.).]

32. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал FGU «НМИРЦ» Минздрава России, 2020. [Kaprin AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO. *The state of oncological care for the population of Russia in 2019*. Moscow:

MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2020. (In Russ.)).

33. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2021. [Kaprin AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO. *The state of oncological care for the population of Russia in 2020*. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2021. (In Russ.)].

34. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2022. [Kaprin AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO. *The state of oncological care for the population of Russia in 2021*. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGU “NMIRTs” Minzdrava Rossii Publ., 2022. (In Russ.)].

35. Федеральная служба государственной статистики. *Форма № 5 «Сведения о профилактических прививках»*. [Federal State Statistics Service. *Form No. 5 “Information on Preventive Vaccinations”*. (In Russ.)].

36. *Расчёт медико-статистических показателей учреждений и территорий в краткосрочной динамике, применяемых в онкологии*. Методические рекомендации № 97 Департамента здравоохранения города Москвы. М.: ГБУ НИИ ОЗММ, 2019. [Calculation of medical and statistical indicators of institutions and territories in short-term dynamics, applied in oncology. Methodical recommendations No. 97 of the Moscow City Health Department. Moscow: GBU NII OZMM Publ., 2019. (In Russ.)].

37. Murphy J, Kennedy EB, Dunn S, McLachlin CM, Kee Fung MF, Gzik D, et al. HPV testing in primary cervical screening: A systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynaecol Can.* 2012; 34(5): 443-452. doi: 10.1016/S1701-2163(16)35241-0

#### Сведения об авторах

**Кулешова Ольга Борисовна** – научный сотрудник научной группы разработки новых методов диагностики оппортунистических и папилломавирусных инфекций отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии, ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: kuleshova.o@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-7338-9825>

**Домонова Эльвира Алексеевна** – кандидат биологических наук, руководитель научной группы разработки новых методов диагностики оппортунистических и папилломавирусных инфекций отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии, ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: elvira.domonova@pcr.ms, <https://orcid.org/0000-0001-8262-3938>

**Акимкин Василий Геннадьевич** – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач Российской Федерации, директор, ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: akimkin@pcr.ms, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

#### Information about the authors

**Olga B. Kuleshova** – Scientific Researcher of the Scientific Group for the Development of New Methods for Diagnosis of Opportunistic and Human Papillomavirus Infections in the Department of Molecular Diagnostics and Epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, e-mail: kuleshova.o@cmd.su, <https://orcid.org/0000-0002-7338-9825>

**Elvira A. Domonova** – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Scientific Group for the Development of New Methods for Diagnosis of Opportunistic and Human Papillomavirus Infections in the Department of Molecular Diagnostics and Epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, e-mail: elvira.domonova@pcr.ms, <https://orcid.org/0000-0001-8262-3938>

**Vasily G. Akimkin** – Member of the RAS, Dr. Sc. (Med.), Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Director, Central Research Institute of Epidemiology of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, e-mail: akimkin@pcr.ms, <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

## АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

### МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ОБМЕНА ПРОСТАГЛАНДИНОВ У ЖЕНЩИН ПРИ COVID-19 НА СРОКЕ 28–30 НЕДЕЛЬ БЕРЕМЕННОСТИ

Ишутина Н.А.,  
Андриевская И.А.

ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Ишутина Наталия Александровна,  
e-mail: ishutina-na@mail.ru

#### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** COVID-19 оказывает неблагоприятное влияние на течение беременности и её исходы. Данные о причинах осложнений беременности при COVID-19, связанных с действием простагландинов, представлены недостаточно полно.

**Цель исследования.** Оценка маркеров состояния метаболических процессов, связанных с обменом простагландинов в крови у женщин, в зависимости от степени тяжести COVID-19 и поиск ассоциаций с развитием осложнённого течения беременности.

**Методы.** В исследование включены 109 беременных в третьем триместре (28–30 недель), из них 36 – лёгким, 38 – со среднетяжёлым течением COVID-19, 35 не инфицированных SARS-CoV-2. В крови определяли концентрацию простагландинов E2 и F2α, фосфолипазы A2 (PLA<sub>2</sub>, phospholipase A2), циклооксигеназы 2 (COX2, cyclooxygenase 2) методом иммуноферментного анализа; арахидоновой кислоты (АК) – методом газо-жидкостной хроматографии.

**Результаты.** Сравнительный анализ показал, что в крови у беременных со среднетяжёлым течением COVID-19 по сравнению с лёгким течением заболевания наблюдались более высокие показатели АК, COX2, PLA<sub>2</sub>, простагландинов E2 и F2α ( $p < 0,0001$ ). Беременность у таких женщин чаще осложнялась хронической плацентарной недостаточностью, выявлялись преждевременные роды и преждевременный разрыв плодных оболочек. Применение регрессионного анализа выявило ассоциации между хронической плацентарной недостаточностью и уровнем простагландина E2 ( $p < 0,0001$ ); преждевременными родами и АК ( $p = 0,001$ ), COX2 ( $p = 0,001$ ); преждевременным разрывом плодных оболочек и PLA<sub>2</sub> ( $p = 0,025$ ), COX2 ( $p < 0,001$ ), АК ( $p < 0,001$ ).

**Заключение.** Среднетяжёлое течение COVID-19 в третьем триместре беременности сопряжено с увеличением содержания в крови АК, COX2, PLA<sub>2</sub>, простагландинов E2 и F2α. Наиболее значимыми факторами, увеличивающими риск осложнений беременности у женщин со среднетяжёлым течением COVID-19, явились высокие уровни АК, COX2 и простагландина E2 в крови.

**Ключевые слова:** COVID-19, простагландины, третий триместр, осложнения беременности

Статья поступила: 02.07.2024  
Статья принята: 10.10.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Ишутина Н.А., Андриевская И.А. Метаболические процессы обмена простагландинов у женщин при COVID-19 на сроке 28–30 недель беременности. Acta biomedica scientifica. 2024; 9(5): 34–42. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.4

## METABOLIC PROCESSES OF PROSTAGLANDIN METABOLISM IN WOMEN AT 28–30 WEEKS OF GESTATION WITH COVID-19

Ishutina N.A.,  
Andrievskaya I.A.

Far Eastern Scientific Centre  
of Physiology and Pathology of Respiration  
(Kalinina str. 22, Blagoveshchensk 675000,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
Natalia A. Ishutina,  
e-mail: ishutina-na@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** COVID-19 negatively impacts pregnancy progression and outcomes. However, data regarding pregnancy complications related to prostaglandin activity during COVID-19 remain insufficient.

**The aim.** To assess markers of metabolic processes related to prostaglandin metabolism in the blood of pregnant women depending on the severity of COVID-19 and to explore associations with the development of pregnancy complications.

**Methods.** The study included 109 pregnant women in their third trimester (28–30 weeks), 36 of whom had mild COVID-19, 38 had moderate COVID-19, and 35 were not infected with SARS-CoV-2. The concentration of prostaglandins E2 and F2 $\alpha$ , phospholipase A2 (PLA $_2$ ), cyclooxygenase 2 (COX2), and arachidonic acid (AA) were measured in the blood using enzyme-linked immunosorbent assays and gas-liquid chromatography for AA.

**Results.** Comparative analysis showed that pregnant women with moderate COVID-19 had significantly higher levels of AA, COX2, PLA $_2$ , prostaglandins E2 and F2 $\alpha$  ( $p < 0.0001$ ) compared to those with mild disease. These women also experienced more frequent complications, such as chronic placental insufficiency, preterm labor, and premature rupture of membranes. Regression analysis revealed associations between chronic placental insufficiency and prostaglandin E2 levels ( $p < 0.0001$ ), preterm labor, AA ( $p = 0.001$ ) and COX2 ( $p = 0.001$ ); premature rupture of membranes and PLA $_2$  ( $p = 0.025$ ), COX2 ( $p < 0.001$ ), AA ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion.** Moderate COVID-19 during the third trimester of pregnancy is associated with increased levels of AA, COX2, PLA $_2$ , and prostaglandins E2 and F2 $\alpha$  in the blood. The most significant factors increasing the risk of pregnancy complications in women with moderate COVID-19 were elevated levels of AA, COX2, and prostaglandin E2 in the blood.

**Key words:** COVID-19, prostaglandins, third trimester, pregnancy complications

Received: 02.07.2024  
Accepted: 10.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Ishutina N.A., Andrievskaya I.A. Metabolic processes of prostaglandin metabolism in women at 28–30 weeks of gestation with COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 34–42. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.4

## ОБОСНОВАНИЕ

Пандемия COVID-19 сопровождалась высоким уровнем заболеваемости внебольничной пневмонией [1], в том числе среди беременных женщин [2]. Данные зарубежных и отечественных авторов подтверждают влияние тяжёлого течения заболевания на формирование акушерской патологии, включая преэклампсию, задержку роста плода, преждевременные роды и мертворождение [3, 4]. При этом утверждается, что вероятность развития тяжёлых осложнений беременности выше у женщин с COVID-19 в третьем триместре [5].

Простагландины являются важными регуляторами многих аспектов репродуктивных процессов: от овуляции, оплодотворения и распознавания беременности до родов. Эти биологически активные липиды являются членами большого семейства эйкозаноидов, полученных из арахидоновой кислоты (АК), которые действуют паракринным или аутокринным образом и функционируют посредством связывания со специфическими рецепторами, связанными с G-белком, активируя внутриклеточную передачу сигналов и транскрипцию генов. Простагландины играют центральную роль в поддержании беременности и начале родов, при этом переход от покоя матки к сократительному состоянию обеспечивается дифференциальной экспрессией рецепторов простагландинов в миометрии и плодных оболочках. Доступность простагландинов в различных клетках и тканях зависит от присутствия и активности специфических ферментов – фосфолипазы A2 (PLA<sub>2</sub>, phospholipase A2) и циклооксигеназы 2 (COX2, cyclooxygenase 2), – превращающих общий предшественник в конечный продукт, а также от скорости ферментативной или спонтанной инактивации биологически активных соединений [6]. Активация липолитических ферментов происходит в ответ на провоспалительные стимулы, что приводит к синтезу простагландинов, которые участвуют в процессах созревания шейки матки и в сокращении миометрия [7].

Клинически доказана роль простагландинов в стимуляции родовой деятельности, а также профилактической терапии преждевременных родов [8]. Простагландины E2 и F2α являются наиболее важными простааноидами, регулирующими процесс родоразрешения. Они участвуют в созревании и ремоделировании шейки матки, разрыве мембран, сокращении миометрия.

Практически все внутриутробные ткани способны синтезировать простагландины во время беременности, но основными источниками являются амниотическая оболочка плода и слизистая оболочка матки [9].

Простагландин F2α во время родов участвует не только в стимуляции сокращения матки, но и в подготовке матки к родам путём регуляции экспрессии таких белков, как коннексин 43, COX2 и окситоциновый рецептор, а также путём выработки провоспалительных цитокинов и хемокинов [9]. В свою очередь некоторые цитокины (включая интерлейкин (ИЛ) 1β, ИЛ-6 и фактор некроза опухоли α (ФНО-α)) способствуют увеличению выработки простагландинов путём активации метаболизма фосфолипидов, стимуляции экспрессии COX2 [10],

а также за счёт активации транскрипционного ядерного фактора (NF, nuclear factor) κB [11]. Важным свойством простагландинов считается то, что они способны усиливать действие цитокинов, в частности повышать активность ИЛ-1β, способного индуцировать роды [12]. Можно заключить, что взаимное влияние простагландинов и провоспалительных цитокинов вызывает родовую деятельность путём стимуляции сократительной активности матки [13].

Изучение содержания простагландинов с целью диагностики осложнений беременности широко представлено в материалах исследований зарубежных исследователей. При этом показано, что простагландины играют решающую роль в процессе родоразрешения [9], а липолитические ферменты PLA<sub>2</sub> и COX2 являются ключевыми регуляторами их синтеза [7].

В связи с этим представляет большой интерес изучение содержания в крови у беременных простагландинов E2 и F2α, а также липолитических ферментов PLA<sub>2</sub> и COX2, что может иметь значение в понимании механизмов развития осложнений беременности при COVID-19 в зависимости от степени тяжести заболевания.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка маркеров состояния метаболических процессов, связанных с обменом простагландинов в крови у женщин, в зависимости от степени тяжести COVID-19 и поиск ассоциаций с развитием осложнённого течения беременности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Дизайн и условия проведения исследования

Проведено одномоментное сравнительное исследование на базе пульмонологического отделения ГАУЗ АО «Амурская областная клиническая больница» и ГБУЗ АО «Благовещенская городская клиническая больница». Экспериментальная часть выполнена в лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», где проводилось формирование групп исследования и измерение уровня биохимических показателей. Дополнительно проводили ретроспективный анализ медицинских карт беременной, роженицы и родильницы, получающей медицинскую помощь в стационарных условиях (форма № 096/1у-20), и индивидуальных медицинских карт беременной и родильницы (форма № 111/у-20).

В основную группу вошли 74 женщины, перенёвшие COVID-19 в третьем триместре беременности (28–30 недель). Дальнейшее разделение на подгруппы среди исследуемых беременных проводилось в зависимости от тяжести заболевания. В подгруппу 1 (n = 36) вошли беременные с лёгким течением заболевания и клиническими признаками острой респираторно-вирусной инфек-

ции (ОРВИ) (повышение температуры тела выше 38,5 °С, кашель, одышка); в подгруппу 2 ( $n = 38$ ) – со среднетяжёлым течением заболевания и повреждением лёгких.

Критерии включения в исследование: срок беременности 28–30 недель; одноплодная спонтанная беременность; выявленная методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в соскобах с носо-/ротоглотки РНК SARS-CoV-2; клинические симптомы респираторного заболевания; признаки вирусной пневмонии по данным компьютерной томографии для подгруппы 2; информированное согласие на участие.

Критерии исключения: гестационный срок менее 28 недель и более 30 недель на момент заболевания COVID-19; возраст до 18 лет; многоплодная беременность; сердечно-сосудистые заболевания; обострение хронических неинфекционных заболеваний; хронические неспецифические заболевания лёгких; внелёгочные очаги инфекций; специфические заболевания бронхолёгочной системы; аномалии развития половых органов; инфекции, передающиеся половым путём; гормональная поддержка гестагенами; курение; отказ от участия в исследовании.

Плацентарная недостаточность была выставлена на сроке беременности 33–34 недели на основании данных ультразвуковой фетометрии, плацентометрии и доплерографии сосудов маточно-плацентарно-плодово-го комплекса.

Контрольную группу составили 35 беременных неинфицированных SARS-CoV-2. Возраст пациенток составил  $28,14 \pm 5,60$  года. Критериями включения в контрольную группу были: срок беременности 28–30 недель; одноплодная самопроизвольная беременность; отсутствие респираторных инфекций во время текущей беременности; информированное согласие на участие.

### Этическая экспертиза

На проведение исследования получено положительное решение локального комитета по биомедицинской этике ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (протокол № 151 от 20.01.2022). Исследование соответствовало этическим нормам, утверждённым Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2013). От всех исследуемых женщин было получено информированное согласие.

### Продолжительность исследования, описание и методы регистрации

Обследование беременных проводили в период с января 2022 г. по март 2023 г. Материал для исследования: периферическая кровь. Образцы крови были взяты в момент госпитализации после подтверждения диагноза COVID-19 методом венопункции утром натощак в стандартные вакуумные системы с антикоагулянтом этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) (Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd, Китай) в объёме 5 мл. Плазму крови получали методом центрифугирования в течение 15 мин при 1500 г и хранили при температуре  $-70$  °С до проведения анализов.

Для исследования содержания COX2 выделяли мононуклеарные клетки из периферической крови ме-

тодом седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина (1,077 г/мл) согласно рекомендациям фирмы-производителя (ООО НПО ДНК-Технология, Россия). Полученные мононуклеары до проведения анализа хранили при температуре  $-20$  °С в течение 30 суток.

Иммуноферментным методом определяли концентрацию простагландинов E2 и F2 $\alpha$  (Cloud-Clone Corp., США), PLA<sub>2</sub> – с помощью диагностических наборов Cayman Chemical (США); концентрацию COX2 исследовали в лизате мононуклеарных клеток с использованием тест-систем Assay Desings COX2 (США) в строгом соответствии с инструкцией производителя. Лизат клеток получали ультразвуковым методом с использованием гомогенизатора ультразвуковой Q800R3 (Qsonica, США) и лизирующего буфера RIPA Lysis Buffer (Strong) (Elabscience, Китай). Регистрацию результатов проводили на иммуноферментном анализаторе StatFax 2100 (США).

Концентрацию АК исследовали методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «Кристалл 2000М» (Россия) с пламенно-ионизационным детектором. Обсчёт и идентификацию пиков выполняли с помощью программно-аппаратного комплекса «Хроматэк Аналитик 2.5» (Россия). Количественный расчёт хроматограмм проводили методом внутренней нормализации путём определения площадей пиков анализируемых компонентов и их доли (в относительных %) в общей сумме площадей пиков моделированных продуктов высших жирных кислот.

### Статистический анализ

Результаты исследования подвергались статистической обработке с применением стандартной компьютерной программы IBM SPSS Statistics v. 23.0 (IBM Corp., США). Размер выборки предварительно не рассчитывался. Для проверки гипотезы о принадлежности наблюдаемой выборки нормальному закону использовали методы Колмогорова – Смирнова. Количественные данные представлены как медиана и интерквартильный размах (Me [Q1; Q3]), категориальные данные – в виде долей, частот и процентов. При парном сравнении количественных данных в независимых группах использовали *t*-критерий Стьюдента в случае нормального распределения признаков, в группах с отличным от нормального распределения – непараметрический *U*-критерий Манна – Уитни. За статистически значимые принимались различия и корреляции при величине достигнутого уровня статистической значимости  $p < 0,05$ . Сравнение категориальных величин в независимых группах проводили по критерию хи-квадрат ( $\chi^2$ ) Пирсона. Для оценки относительных рисков (ОР) использовали четырёхпольные таблицы сопряжённости. Подсчёт 95%-го доверительного интервала (95% ДИ) для долей и частот производился онлайн-калькулятором<sup>1</sup>. Для поиска ассоциаций между категориальными и количественными переменными использовали одномерный регрессионный анализ.

<sup>1</sup> <https://medstatistic.ru/calculators/calcrisk.htm>

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Средний возраст беременных в подгруппах основной группы был сопоставим и составил  $27,0 \pm 6,20$  года (лёгкое течение COVID-19) и  $27,24 \pm 7,83$  года (среднетяжёлое течение COVID-19). При анализе семейного положения в подгруппах статистически значимых различий среди замужних и незамужних женщин не выявлено. Замужних женщин в подгруппе 1 было 32 (88,89 %), в подгруппе 2 – 33 (86,84 %) ( $\chi^2 = 0,189$ ;  $p = 0,664$ ). По паритету беременности также отличий не обнаружено. Количество первобеременных женщин в подгруппе 1 составило 17 (47,22 %) и в подгруппе 2 – 20 (52,63 %) ( $\chi^2 = 0,720$ ;  $p = 0,397$ ). Первородящих в подгруппе 1 было 22 (61,11 %) женщины и в подгруппе 2 – 23 (60,53 %) ( $\chi^2 = 0,021$ ;  $p = 0,885$ ). Также не было выявлено и статистически значимых различий между подгруппами по частоте встречаемости медицинских аборт (O04.9). У женщин в подгруппе 1 аборты в анамнезе были у 7 (19,44 %) исследуемых, в подгруппе 2 – у 9 (23,68 %) женщин ( $\chi^2 = 0,764$ ;  $p = 0,383$ ). У всех исследуемых женщин настоящая беременность наступила спонтанно, без прегравидарной подготовки. Средний возраст наступления менархе у женщин в подгруппе 1 составил  $11,85 \pm 0,92$  года, в подгруппе 2 –  $11,77 \pm 0,93$  года ( $p > 0,05$ ). Все женщины, участвующие в исследовании, имели регулярный менструальный цикл в анамнезе.

В структуре соматических заболеваний хронический тонзиллит (J35.0) встречался у 4 (11,11 %) женщин в подгруппе 1 и у 5 (13,16 %) – в подгруппе 2 ( $\chi^2 = 0,189$ ;  $p = 0,664$ ). Хронический верхнечелюстной синусит (J31.0) выявлен у 5 (13,89 %) и 5 (13,16 %) (13,21 %) ( $\chi^2 = 0,043$ ;  $p = 0,837$ ), хронический гастрит (K29) – у 8 (22,22 %)

и 7 (18,42 %) ( $\chi^2 = 0,114$ ;  $p = 0,736$ ), хронический тубулоинтерстициальный нефрит (N11) – у 11 (30,55 %) и 10 (26,31 %) ( $\chi^2 = 0,397$ ;  $p = 0,529$ ), миопия (H52.1) – у 9 (25,0 %) и 9 (23,68 %) ( $\chi^2 = 0,027$ ;  $p = 0,870$ ), анемия лёгкой степени (D50.0) – у 18 (50,0 %) и 24 (65,79 %) ( $\chi^2 = 4,101$ ;  $p = 0,043$ ) женщин соответственно в подгруппах 1 и 2.

Таким образом, в исследуемых подгруппах все беременные по большинству анамнестических данных были сопоставимы.

Результаты анализа концентрации в периферической крови у беременных основной и контрольной групп АК, простагландинов E2 и F2 $\alpha$ , а также ферментов PLA<sub>2</sub> и COX2 представлены в таблице 1.

При сравнении выявлено, что значения концентрации АК в подгруппе 1 были повышены в 1,57 раза ( $p_1 < 0,0001$ ), в подгруппе 2 – в 2,09 раза ( $p_1 < 0,0001$ ) относительно контрольной группы. Сравнение в основной группе выявило, что значения концентрации ненасыщенной жирной кислоты в подгруппе 2 были в 1,34 раза ( $p_2 < 0,0001$ ) выше, чем в подгруппе 1. Значения концентрации PLA<sub>2</sub> также были повышены по сравнению с контрольной группой в 1,52 раза ( $p_1 < 0,0001$ ) в подгруппе 1, в 2,07 раза ( $p_1 < 0,0001$ ) в подгруппе 2 и в 1,36 раза ( $p_2 < 0,0001$ ) – между подгруппами (табл. 1). Аналогичные изменения были выявлены и для другого фермента – COX2. Значения концентрации данного фермента были повышены в подгруппе 1 в 1,42 раза ( $p_1 < 0,0001$ ), а в подгруппе 2 – в 1,86 раза ( $p_1 < 0,0001$ ). При среднетяжёлом течении заболевания значения концентрации COX2 были выше в 1,30 раза ( $p_2 < 0,0001$ ) по сравнению с аналогичным показателем в подгруппе с лёгким течением COVID-19 (табл. 1). При оценке содержания про-

**ТАБЛИЦА 1**  
**КОНЦЕНТРАЦИЯ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ, ПРОСТАГЛАНДИНОВ E2 И F2 $\alpha$ , ФОСФОЛИПАЗЫ A2 И ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ 2 В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БЕРЕМЕННЫХ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП, МЕ [Q1; Q3]**

**TABLE 1**  
**CONCENTRATION OF ARACHIDONIC ACID, PROSTAGLANDINS E2 AND F2 $\alpha$ , PHOSPHOLIPASE A2 AND CYCLOOXYGENASE 2 IN PERIPHERAL BLOOD IN PREGNANT WOMEN OF THE STUDY GROUPS, ME [Q1; Q3]**

Показатели	Основная группа		Контрольная группа
	Подгруппа 1	Подгруппа 2	
Размер выборки, n	36	38	35
АК, %	6,26 [6,0; 6,43] $p_{1,2} < 0,0001$	8,37 [8,0; 8,56] $p_1 < 0,0001$	4,0 [3,76; 4,36]
PLA <sub>2</sub> , нг/мл	0,64 [0,58; 0,74] $p_{1,2} < 0,0001$	0,87 [0,87; 0,94] $p_1 < 0,0001$	0,42 [0,36; 0,58]
COX2, пг/мл	18,17 [18,0; 18,30] $p_{1,2} < 0,0001$	23,83 [22,83; 24,59] $p_1 < 0,0001$	12,81 [12,64; 13,0]
Простагландин E2, нг/мл	745,0 [734,25; 760,0] $p_{1,2} < 0,0001$	977,0 [977,0; 990,0] $p_1 < 0,0001$	158,0 [158,0; 168,0]
Простагландин F2 $\alpha$ , нг/мл	560,0 [550,0; 583,25] $p_{1,2} < 0,0001$	806,0 [806,0; 809,25] $p_1 < 0,0001$	85,0 [82,0; 87,0]

**Примечание.**  $p_1$  – статистическая значимость различий между подгруппами основной группы и контрольной группой;  $p_2$  – статистическая значимость различий между подгруппами 1 и 2 основной группы.

стагландинов E2 и F2α в периферической крови женщин было установлено повышение их концентрации в подгруппе 1 в 4,72 и 6,59 раза ( $p_1 < 0,0001$ ), в подгруппе 2 – в 6,18 и 9,48 раза ( $p_1 < 0,0001$ ) соответственно по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы. Сравнение показателей простагландинов в основной группе показало, что при среднетяжёлом течении значение концентрации простагландина E2 было выше в 1,31 раза ( $p_2 < 0,0001$ ), простагландина F2α – в 1,44 раза ( $p_2 < 0,0001$ ), чем при лёгком течении COVID-19 (табл. 1).

Дальнейший анализ показал, что у 19 (52,8 %) беременных в подгруппе 1 и у 34 (89,5 %) беременных в подгруппе 2 была диагностирована хроническая плацентарная недостаточность (O36.5) (OR = 1,70; 95% ДИ: 1,40–2,07). Преждевременные роды (O60.0) были у 4 (10,5 %) женщин в подгруппе 2. Преждевременный разрыв плодных оболочек (O42.0) выявлен у 5 (13,9 %) женщин в подгруппе 1 и у 17 (44,7 %) – в подгруппе 2 (OR = 3,21; 95% ДИ: 1,89–5,47).

Следовательно, тяжесть течения COVID-19 во время беременности может быть фактором развития осложненной беременности и неблагоприятных исходов.

Подтверждением явились ассоциации, выявленные в ходе корреляционно-регрессионного анализа, между развитием хронической плацентарной недостаточности и уровнем простагландина E2 ( $r = 0,73$ ;  $p_1 < 0,001$ ); развитием преждевременных родов и концентрацией АК ( $r = 0,51$ ;  $p_1 = 0,001$ ) и COX2 ( $r = 0,47$ ;  $p_1 = 0,001$ ); развитием преждевременного разрыва плодных оболочек и концентрацией PLA<sub>2</sub> ( $r = 0,46$ ;  $p_1 = 0,025$ ), COX2 ( $r = 0,68$ ;  $p_1 < 0,001$ ) и АК ( $r = 0,76$ ;  $p_1 < 0,001$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Резюме основного результата исследования

Представленное исследование позволило установить ассоциации между высокой концентрацией в периферической крови АК, COX2, PLA<sub>2</sub>, простагландин E2, F2α и развитием хронической плацентарной недостаточности, преждевременных родов, преждевременного разрыва плодных оболочек и степенью тяжести COVID-19.

### Обсуждение основного результата исследования

Всё больше данных свидетельствуют о том, что одной из основных причин преждевременных родов является инфекция, способствующая развитию родовой деятельности за счёт активации арахидонового каскада, изменения цитокинового профиля с продукцией простагландинов, обладающих утеротоническим или дистрофическим действием на плодные оболочки [14]. Не является исключением и инфекция SARS-CoV-2. В литературе описывается повышенная вероятность преждевременных родов у беременных с COVID-19 [15]. Этот риск особенно выражен у пациенток с умеренным и тяжёлым течением заболевания на момент родов [16]. Описана взаимосвязь «доза – реакция» между тяжестью инфекции SARS-CoV-2 и повышенным риском прежде-

временных родов при всех пороговых значениях менее 37, 32 и 28 недель [17].

Из простагландинов, участвующих в родах, особенно важны простагландины E2 и F2α. Эти простагландины считаются общими медиаторами начала родов как при родах в срок, так и при преждевременных родах, поскольку они являются мощными индукторами созревания шейки матки, сокращения миометрия и разрыва плодной оболочки [9].

Обмен простагландинов активируется до начала родов с помощью уже известных ферментов PLA<sub>2</sub> и COX2, участвующих в ключевых этапах метаболизма простагландинов в репродуктивных тканях путём каскада реакций окисления АК. Именно уровень свободной АК служит лимитирующим фактором, определяющим обмен простагландинов. Изменение в периферической крови, матке и других тканях свободной АК приводит к нарушению содержания простагландинов. Следовательно, процесс высвобождения АК из внутриклеточных и мембраносвязанных фосфолипидов, регулируемых PLA<sub>2</sub>, является определяющей стадией в обмене простагландинов, изменяющей количество субстрата (АК), подвергающегося последующему действию COX2 на матку [18].

Проведённые исследования свидетельствовали о более выраженном увеличении концентрации PLA<sub>2</sub> в периферической крови пациенток с COVID-19 среднетяжёлого течения. Результатом этого явилось увеличение концентрации АК в периферической крови пациенток, перенёвших COVID-19, причём наиболее значимые изменения определялись в группе женщин со среднетяжёлым течением заболевания. Наши данные совпадают с выводами других исследователей, которые выявили высокую активность фосфолипазной системы у рожениц с COVID-19 [19]. Инициация PLA<sub>2</sub> в период беременности происходит в ответ на провоспалительные стимулы, активацию процессов перекисного окисления липидов [20], и впоследствии фермент вовлекается в различные физиологические и патологические процессы [21]. Помимо этого, показано, что уровень и активность PLA<sub>2</sub> возрастают при инфекции SARS-CoV-2 и коррелируют с тяжестью течения COVID-19 [22].

Полученные данные показали, что воздействие SARS-CoV-2 значительно повышало концентрацию COX2 в лизате мононуклеарных клеток у беременных подгруппы 2, что могло влиять на обмен простагландинов. Нами было установлено, что у женщин в подгруппе 2 наблюдалось более высокое содержание простагландин E2 и F2α в крови по сравнению с контрольной группой. В подгруппе 1 концентрация простагландин E2 и F2α была также выше аналогичных показателей контрольной группы, но менее выраженной, чем в подгруппе 2.

В подгруппе 1 концентрация простагландин E2 и F2α была также выше аналогичных показателей контрольной группы, но менее выраженной, чем в подгруппе 2.

Далее было установлено, что преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, хроническая плацентарная недостаточность развиваются чаще у женщин подгруппы 2 по сравнению с бере-

менными подгруппы 1 и контрольной группой. Следовательно, тяжесть течения COVID-19 во время беременности может быть фактором развития осложнений беременности и неблагоприятных исходов.

Подтверждением явились ассоциации, выявленные в ходе корреляционно-регрессионного анализа, между развитием хронической плацентарной недостаточности и уровнем простагландина E<sub>2</sub>; развитием преждевременных родов и АК, COX2; преждевременным разрывом плодных оболочек и PLA<sub>2</sub>, COX2, АК.

Механизмы действия простагландинов на развитие родовой деятельности различны. Литературные данные свидетельствуют о том, что простагландины E<sub>2</sub> и F<sub>2α</sub> в матке стимулируют сократимость миометрия и способствуют активации и разрыву плодной мембраны посредством стимуляции активности матриксных металлопротеиназ, что приводит к деградации внеклеточного матрикса [23].

Н.Б. Кузнецова и соавт. (2019), обобщив данные об этиопатогенезе преждевременного разрыва плодных оболочек при недоношенной беременности, указывают, что одним из важных звеньев в цепочке, ведущей к преждевременному разрыву плодных оболочек, является выработка воспалительных медиаторов. Их биосинтез является частью физиологического защитного механизма организма матери в ответ на вторжение патогенных микроорганизмов. К таким веществам относятся простагландины, цитокины, протеиназы, эластазы, катепсины, которые играют ведущую роль в процессе истончения плодных оболочек и апоптозе [24]. Другие исследователи также доказали, что повышенная продукция ФНО-α, ассоциированная с увеличением выработки простагландина E<sub>2</sub> [10], может способствовать преждевременному разрыву плодных оболочек, включая механизмы апоптоза [25].

Помимо этого, простагландин F<sub>2α</sub> активирует сигнальные пути, которые приводят к активации NF-κB, митоген-активируемых протеинкиназ, фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы и кальциневрина/ядерного фактора активированных Т-клеток в клетки миометрия [26]. Кроме того, как указывалось выше, простагландин F<sub>2α</sub> также увеличивает экспрессию нескольких белков активации матки [9] и провоспалительных цитокинов и хемокинов в миометрии посредством активации пути фосфолипазы С и протеинкиназы С [26]. В свою очередь цитокины стимулируют дальнейший синтез простагландинов, что приводит к формированию порочного круга [23].

В литературе имеются данные о том, что простагландины играют важную роль в этиологии и патогенезе хронической плацентарной недостаточности у женщин с патологическим течением беременности [27]. При этом показано, что изменение содержания простагландинов, оксида азота и эндотелиальной синтазы оксида азота способствует развитию эндотелиальной дисфункции, составляющей основу патогенеза гемодинамических нарушений и плацентарной недостаточности [28].

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что SARS-CoV-2 индуцирует высвобождение провоспа-

лительных цитокинов с развитием цитокинового шторма [29], которые активируют кальций-зависимую PLA<sub>2</sub>, опосредующую избыточный гидролиз фосфолипидов с высвобождением АК, способствуя повышенной экспрессии COX2 и увеличению синтеза простагландинов. Простагландины в свою очередь воздействуют на гладкомышечные клетки шейки и тела матки, тем самым способствуя её «созреванию», усиливая сократительную активность матки, вызывая спазм сосудов и очаговую ишемию тканей, болевой синдром, приводя к развитию преждевременных родов [30].

### Нежелательные явления

В ходе проведения исследования какие-либо нежелательные явления отсутствовали.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среднетяжёлое течение COVID-19 в третьем триместре беременности сопряжено с увеличением содержания в крови АК, COX2, PLA<sub>2</sub>, простагландинов E<sub>2</sub> и F<sub>2α</sub>. Наиболее значимыми факторами, увеличивающими риск осложнений беременности у женщин со среднетяжёлым течением COVID-19, явились высокий уровень АК, COX2 и простагландина E<sub>2</sub> в крови.

### Источник финансирования

Финансирование исследования осуществлялось за счёт средств федерального бюджета в рамках государственного задания ФНИ (№ государственной регистрации АААА-А18-118020790064-4).

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чемисова О.С., и др. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4: 99-105. [Popova AYU, Ezhlova EB, Demina YuV, Noskov AK, Kovalev EV, Chemisova OS, et al. Features of etiology of community-acquired pneumonia associated with COVID-19. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; (4): 99-105. (In Russ.)]. doi: 21055/0370-1069-2020-4-99-105
2. Чайка В.К., Хоменко В.А., Мумрова Е.И. Особенности течения вирусных пневмоний, ассоциированных с COVID-19 у беременных. *Медико-социальные проблемы семьи*. 2021; 26(30): 5-9. [Chayka VK, Khomenko VA, Mumrova EI. Course peculiarities of virus pneumonia, associated with COVID-19 in pregnant women. *Medical and Social Problems of Family*. 2021; 26(30): 5-9. (In Russ.)].
3. Wei SQ, Bilodeau-Bertrand M, Liu S, Auger N. The impact of COVID-19 on pregnancy outcomes: A systematic review and meta-analysis. *CMAJ*. 2021; 193(16): E540-E548. doi: 10.1503/cmaj.202604

4. Петров Ю.А., Палиева Н.В., Купина А.Д., Аллахьяров Д.З. COVID-19: риски для матери и ребенка. *Главный врач юга России*. 2022; 4(85): 39-42. [Petrov YuA, Palieva NV, Kupina AD, Allahyarov DS. COVID-19: Risks for mother and child. *Chief Physician of the South of Russia*. 2022; 4(85): 39-42. (In Russ.)].
5. Andrievskaya IA, Zhukovets IV, Bardov VS, Ishutina NA, Dovzhikova IV, Abuldinov AS, et al. Oximetry and acid-base balance features in pregnant women with pneumonia caused by SARS-CoV-2. *Eur Respir J*. 2021; 58(S65): 444. doi: 10.1183/13993003.congress-2021.PA444
6. Zakar T, Hertelendy F. Regulation of prostaglandin synthesis in the human uterus. *J Matern Fetal Med*. 2001; 10(4): 223-235. doi: 10.1080/714904332
7. De Luca D, Foligno S, Autilio C, Vivanti A, Vandekerckhove M, Martinovic J, et al. Secretory phospholipase A2 expression and activity in preterm clinical chorioamnionitis with fetal involvement. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2022; 323(2): L121-L128. doi: 10.1152/ajplung.00516.2021
8. Васильев С.А., Пересада О.А., Курлович И.В., Ващилина Т.П., Семенчук В.Л., Виктор С.А. Акушерские и перинатальные осложнения при индукции родов в разные сроки беременности. *Репродуктивное здоровье. Восточная Европа*. 2020; 10(2): 161-170. [Vasiliev SA, Peresada OA, Kurlovich IV, Vashchilina TP, Semenchuk VL, Viktor SA. Obstetric and perinatal complications during induction of labor at different stages of pregnancy. *Reproductive Health. Eastern Europe*. 2020; 10(2): 161-170. (In Russ.)]. doi: 10.34883/PI.2020.10.2.005
9. Li WJ, Lu JW, Zhang CY, Wang WS, Ying H, Myatt L. et al. PGE2 vs PGF2a in human parturition. *Placenta*. 2021; 104: 208-219. doi: 10.1016/j.placenta.2020.12.012
10. Peltier MR. Immunology of term and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003; 2(1): 122. doi: 10.1186/1477-7827-1-122
11. Gomez-Chávez F, Correa D, Navarrete-Meneses P, Cancino-Díaz JC, Cancino-Díaz ME, Rodríguez-Martínez S. NF-κB and its regulators during pregnancy. *Front Immunol*. 2021; 12: 679106. doi: 10.3389/fimmu.2021.679106
12. Щербачков В.И., Рябиченко Т.И., Скосырева Г.А., Трунов А.Н. Локальное воспаление как компонент срочных самопроизвольных родов. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2018; 18(3): 13-19. [Shcherbakov VI, Ryabichenko TI, Skosyeva GA, Trunov AN. Local inflammation as a component of emergency spontaneous labor. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2018; 18(3): 13-19. (In Russ.)]. doi: 10.17116/rosakush201818313-19
13. Xu C, Liu W, You X, Leimert K, Popowycz K, Fang X, et al. PGF2a modulates the output of chemokines and pro-inflammatory cytokines in myometrial cells from term pregnant women through divergent signaling pathways. *Mol Hum Reprod*. 2015; 21(7): 603-614. doi: 10.1093/molehr/gav018
14. Ходжаева З.С., Гусейнова Г.Э., Горина К.А. Преждевременные роды: актуальные вопросы акушерского менеджмента. *Медицинский оппонент*. 2018; 2: 70-76. [Khodzhaeva ZS, Guseynova GE, Gorina KA. Preterm birth: Updated obstetrics management. *Medical Opponent*. 2018; 2: 70-76. (In Russ.)].
15. Boettcher LB, Metz TD. Maternal and neonatal outcomes following SARS-CoV-2 infection. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2023; 28(1): 101428. doi: 10.1016/j.siny.2023.101428
16. Metz TD, Clifton RG, Hughes BL, Sandoval GJ, Grobman WA, Saade GR, et al. Association of SARS-CoV-2 infection with serious maternal morbidity and mortality from obstetric complications. *JAMA*. 2022; 327(8): 748-759. doi: 10.1001/jama.2022.1190
17. Lai J, Romero R, Tarca AL, Iliodromiti S, Rehal A, Banerjee A, et al. SARS-CoV-2 and the subsequent development of preeclampsia and preterm birth: Evidence of a dose-response relationship supporting causality. *Am J Obstet Gynecol*. 2021; 225(6): 689-693. e1. doi: 10.1016/j.ajog.2021.08.020
18. Gomez-Lopez N, Romero R, Plazyo O, Panaitescu B, Furcron AE, Miller D, et al. Intra-amniotic administration of HMGB1 induces spontaneous preterm labor and birth. *Am J Reprod Immunol*. 2016; 75(1): 3-7. doi: 10.1111/aji.12443
19. Акушева М.Д., Байтемирова С.Д., Комарова К.В., Осипенко Д.А. Риск проявления кровотечения у рожениц, перенесших COVID-19 во время беременности. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022; 4-2(118): 38-41. [Akusheva MD, Baytemirova SD, Komarova KV, Osipenko DA. The risk of bleeding in women after COVID-19 during pregnancy. *International Research Journal*. 2022; 4-2(118): 38-41. (In Russ.)]. doi: 10.23670/IRJ.2022.118.4.077
20. Ишутина Н.А., Андриевская И.А., Довжикова И.В., Дорофиенко Н.Н., Гориков И.Н. Взаимосвязь окислительного стресса, дисбаланса жирных кислот в реализации апоптоза в плаценте при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(2): 16-22. [Ishutina NA, Andrievskaya IA, Dovzhikova IV, Dorofienko NN, Gorikov NN. Effect of oxidative stress and fatty acids disbalance on the development of apoptosis in the placenta with cytomegalovirus infection in the first trimester. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(2): 16-22. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2019-4.2.2
21. Верес И.А., Камышников В.С., Пересада О.А., Юрага Т.М., Соколовская М.Н., Русакевич П.С., и др. Фосфолипаза А2 и состояние про-/антиоксидантного баланса у рожениц с послеродовым эндометритом. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2018; 7(1): 75-82. [Veres IA, Kamyshnikov VS, Peresada OA, Yuraga TM, Sokolovskaya MN, Rusakevich PS. Phospholipase A2 and the state of pro-/antioxidant balance in laboring women with postpartum endometritis. *Laboratory Diagnostics. Eastern Europe*. 2018; 7(1): 75-82. (In Russ.)].
22. Уразов С.П., Чернов А.Н., Черкас А.В., Бойков А.В., Глотов О.С., Апалько С.В., и др. Секреторная фосфолипаза А2: Биомаркер воспаления аутоиммунных, бактериальных и вирусных заболеваний. *Медицинская иммунология*. 2022; 24(4): 705-728. [Urazov SP, Chernov AN, Cherkas AV, Boikov AV, Glotov OS, Apalko SV, et al. Secretory phospholipase A2: A biomarker of inflammation in autoimmune, bacterial and viral diseases. *Medical Immunology (Russia)*. 2022; 24(4): 705-728. (In Russ.)]. doi: 10.15789/1563-0625-SPA-2460
23. Riaposova L, Kim SH, Hanyaloglu AC, Sykes L, MacIntyre DA, Bennett PR. et al. Prostaglandin F2a requires activation of calcium-dependent signalling to trigger inflammation in human myometrium. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 19(14): 1150125. doi: 10.3389/fendo.2023.1150125
24. Кузнецова Н.Б., Буштырева И.О., Дыбова В.С., Барينو-ва В.В., Дмитриева М.П. Этиология и патогенез преждевременного разрыва плодных оболочек при недоношенной беременности. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2019; 14(4): 57-61. [Kuznetsova NB, Bushtyryeva IO, Dybova VS, Barinova VV, Dmitriyeva MP. Etiology and pathogenesis of preterm rupture of fetal membranes in premature labor.

*Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center* 2019; 14(4): 57-61. (In Russ.]. doi: 10.25881/BPNMSC.2020.32.74.012

25. Modzelewska B, Kleszczewski T, Kostrzewska A. The effect of the release of exogenous nitric oxide on the responses of the pregnant human myometrium to oxytocin. *Dev Period Med.* 2018; 22(4): 301-307. doi: 10.34763/devperiodmed.20182204.301307

26. Xu C, You X, Liu W, Sun Q, Ding X, Huang Y, et al. Prostaglandin F2 $\alpha$  regulates the expression of uterine activation proteins via multiple signalling pathways. *Reproduction.* 2015; 149(1): 139-146. doi: 10.1530/REP-14-0479

27. Karbowski B, Bauch HJ, Schneider HP. Functional differentiation of the vascular endothelium in high risk pregnancies. *Z Geburtshilfe Perinatol.* 1989; 193(1): 8-12.

28. Kao CK, Morton JS, Quon AL, Reyes LM, Lopez-Jaramillo P, Davidge ST. Mechanism of vascular dysfunction due to circulating

factors in women with pre-eclampsia. *Clin Sci (Lond).* 2016; 130(7): 539-549. doi: 10.1042/CS20150678

29. Guo X, Semerci N, De Assis V, Kayisli UA, Schatz F, Steffensen TS, et al. Regulation of proinflammatory molecules and tissue factor by SARS-CoV-2 spike protein in human placental cells: Implications for SARS-CoV-2 pathogenesis in pregnant women. *Front Immunol.* 2022; 7(13): 876555. doi: 10.3389/fimmu.2022.876555

30. Николаева А.С., Танышева Г.А. Современные аспекты прогнозирования и профилактики преждевременных родов. Обзор литературы. *Наука и здравоохранение.* 2019; 21(5): 23-36. [Nikolaeva AS, Tanysheva GA. Modern aspects of prediction and prevention of preterm labor according to published data. Literature review. *Science & Healthcare.* 2019; 21(5): 23-36. (In Russ.)].

#### Сведения об авторах

**Ишутина Наталья Александровна** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: ishutina-na@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1024-1532>

**Андриевская Ирина Анатольевна** – доктор биологических наук, заведующая лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

#### Information about the authors

**Natalia A. Ishutina** – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: ishutina-na@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1024-1532>

**Irina A. Andrievskaya** – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

## ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ РАССТРОЙСТВ НА ФОНЕ СУБКЛИНИЧЕСКОГО ГИПОТИРЕОЗА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН В АНДИЖАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Усманова М.Д.,  
Насирова Ф.Ж.,  
Усманов Ш.К.

Андижанский государственный  
медицинский институт (170100,  
г. Андижан, ул. Ю. Отабекова, 1,  
Республика Узбекистан)

Автор, ответственный за переписку:  
Усманова Мохинур Дилшод кизи,  
e-mail: moxi.noral1221@gmail.com

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Гипертензивные расстройства во время беременности, такие как гестационная гипертензия и преэклампсия, являются значимым риском для здоровья. Они требуют индивидуализированного подхода к лечению из-за многофакторной природы. Присутствие субклинического гипотиреоза может усилить эти риски, что делает мониторинг функции щитовидной железы до и во время беременности особенно важным.

**Цель исследования.** Исследование клинических признаков и тяжести гипертензии при впервые выявленном субклиническом гипотиреозе у женщин в Андижане.

**Методы.** В кейс-контрольном исследовании, проведенном с ноября 2022 г. по апрель 2023 г., участвовали 272 беременные женщины в возрасте от 18 до 40 лет без хронических заболеваний. В основную группу были включены 88 женщин, у которых гипертензия была диагностирована после 20-й недели беременности. Контрольную группу составили 184 женщины без гипертензии. Исследование исключало ВИЧ-положительных женщин, а также женщин с врожденными аномалиями или перенесшими хирургические вмешательства на органах мочеполовой и сердечно-сосудистой систем. Были изучены социально-демографические и жизненные характеристики участниц исследования. Анализ показал значимые различия в возрасте, уровне активности, месте жительства, занятости и образовании, а также выявил связь между индексом массы тела, состоянием здоровья и тяжестью гипертензии.

**Результаты.** Исследование подчеркнуло важность контроля функции щитовидной железы во время беременности, связав гипертензию с возрастом, уровнем активности и ожирением. Это подтверждает необходимость комплексного подхода к ведению беременности, включая контроль тиреоидной функции и изменение образа жизни.

**Ключевые слова:** гипотиреоз, гипертония, беременность, кейс-контрольное исследование, тиреоидные гормоны

Статья поступила: 11.02.2024

Статья принята: 10.10.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Усманова М.Д., Насирова Ф.Ж., Усманов Ш.К. Оценка клинического течения гипертензивных расстройств на фоне субклинического гипотиреоза у беременных женщин в Андижанской области. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 43-52. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.5

## EVALUATION OF THE CLINICAL COURSE OF HYPERTENSIVE DISORDERS AGAINST THE BACKGROUND OF SUBCLINICAL HYPOTHYROIDISM IN PREGNANT WOMEN

Usmanova M.D.,  
Nasirova F.Zh.,  
Usmanov Sh.K.

Andijan State Medical Institute  
(Yu. Otabekova str. 1, Andijan 170100,  
Republic of Uzbekistan)

Corresponding author:  
Usmanova Mokhinur Dilshod kizi,  
e-mail: moxi.noral1221@gmail.com.

### ABSTRACT

**Background.** Hypertensive disorders during pregnancy, such as gestational hypertension and preeclampsia, pose significant health risks. They require a personalized treatment approach due to their multifactorial nature. The presence of subclinical hypothyroidism may exacerbate these risks, making thyroid function monitoring before and during pregnancy particularly important.

**The aim.** To investigate the clinical features and severity of hypertension in newly diagnosed subclinical hypothyroidism among women in Andijan.

**Methods.** A case-control study conducted from November 2022 to April 2023 included 272 pregnant women aged 18 to 40 years without chronic diseases. The main group comprised 88 women diagnosed with hypertension after the 20<sup>th</sup> week of pregnancy. The control group consisted of 184 women without hypertension. The study excluded HIV-positive women, as well as those with congenital anomalies or who had undergone surgical interventions on the genitourinary and cardiovascular systems. Socio-demographic and lifestyle characteristics of the participants were studied. The analysis revealed significant differences in age, activity level, place of residence, employment, and education, as well as a correlation between body mass index, health status, and hypertension severity.

**Results.** The findings underscored the importance of thyroid function monitoring during pregnancy, linking hypertension to age, activity level, and obesity. This confirms the necessity for a comprehensive approach to pregnancy management, including thyroid function and lifestyle modifications.

**Key words:** hypothyroidism, hypertension, pregnancy, case control, thyroid hormones

Received: 11.02.2024  
Accepted: 10.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Usmanova M.D., Nasirova F.Zh., Usmanov Sh.K. Evaluation of the clinical course of hypertensive disorders against the background of subclinical hypothyroidism in pregnant women. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 43-52. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.5

## ОБОСНОВАНИЕ

Гипертензивные расстройства при беременности, в том числе гестационная гипертензия и преэклампсия, имеют долгую историю, хотя до недавнего времени они были недостаточно исследованы и окружены мифами. Уже в древности Гиппократ упоминал о судорогах у беременных, не ассоциируя их с артериальным давлением [1]. Современные исследования подчёркивают, что эти состояния имеют сложную многофакторную этиологию, включающую генетические, экологические и социальные компоненты, и выделяют значимость персонализированного подхода к лечению, как это обозначено в работе С. Roberts и D.W. Cooper [2]. Гипертензивные расстройства во время беременности серьёзно влияют на здоровье матери и ребёнка, увеличивая риски morbidity и смертности [3]. Примерно 10 % беременностей по всему миру затрагиваются этими расстройствами, причём риски особенно высоки среди женщин с анамнезом преэклампсии [4–6]. В Узбекистане и других регионах Центральной Азии распространённость гипертензивных расстройств варьируется от 6 до 10 % [7], отражая влияние медицинской инфраструктуры, экономических условий и генетических факторов [8]. Гипертензивные расстройства вызывают серьёзные заболевания и инвалидность у матерей и детей. Тяжёлые гипертензивные расстройства снижают качество жизни женщин из-за высокого риска развития атеросклероза, сахарного диабета и сердечно-сосудистых заболеваний. У преждевременно рождённых детей часто наблюдаются физические и психосоматические нарушения, а также повышен риск соматических заболеваний, что имеет значительное медико-социальное значение [9]. Важность раннего выявления и лечения этих состояний для улучшения исходов беременности подчёркивается многими исследованиями [10].

Механизм патогенеза преэклампсии является многофакторным, хотя многие аспекты остаются недостаточно изученными. Современные гипотезы включают нарушение инвазии трофобласта, эндотелиальную дисфункцию, иммунную дезадаптацию, а также теории оксидативного стресса и генетического конфликта. Один из факторов развития гипертензивных расстройств при беременности – субклинический гипотиреоз [11].

Субклинический гипотиреоз (СГ) – это состояние, при котором отмечается повышенный уровень тиреотропного гормона (ТТГ) при нормальных уровнях свободного тироксина (свТ4) в сыворотке крови. СГ часто является результатом аутоиммунного воспаления щитовидной железы (хронического аутоиммунного тиреоидита). При этом клинические симптомы гипотиреоза могут отсутствовать или быть незначительно выраженными, что затрудняет диагностику без лабораторных исследований. СГ имеет глобальную распространённость 4–10 % [12] и может влиять на метаболические процессы, водно-солевой обмен и иметь значительное влияние на здоровье, особенно у беременных женщин, увеличивая риски гипертензивных состояний и других осложнений. Распространённость СГ выше в регионах с дефицитом йода [13], в то время как йодирование соли и пищи снижает этот по-

казатель [14]. В Узбекистане общая распространённость СГ оценивается в 5–8 %, с заметными различиями между городскими и сельскими районами [15, 16], а также в регионах Аральского моря и исторических городах [17, 18]. Беременные с СГ имеют высокий риск развития преэклампсии [19], что делает раннее выявление и адекватное лечение СГ критически важным для предотвращения гипертензивных расстройств. Гипертензия у беременных с субклиническим гипотиреозом обусловлена несколькими механизмами. Повышенный ТТГ и дефицит тиреоидных гормонов вызывают эндотелиальную дисфункцию и вазоконстрикцию, а нарушение синтеза оксида азота (NO) и оксидативный стресс повреждают эндотелий. Дислипидемия и инсулинорезистентность повышают риск атеросклероза, а аутоиммунные процессы усиливают воспаление. Снижение функции почек ведёт к задержке натрия и воды, повышая артериальное давление. Эти факторы совместно способствуют развитию гипертензии у беременных с субклиническим гипотиреозом.

Гормональные изменения во время беременности, включая функцию щитовидной железы, требуют тщательного подхода в акушерстве и эндокринологии для обеспечения лучших исходов для матери и ребёнка [20].

Изучение распространённости гипертензивных состояний при беременности, а также связанных с ними факторов, таких как субклинический гипотиреоз, требует более глубоких исследований для определения их влияния на тяжесть артериальной гипертензии. Это необходимо для комплексной оценки состояния здоровья беременных и прогнозирования заболеваемости у матерей и их детей.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование клинических проявлений и оценка степени тяжести симптомов гипертензивных состояний у беременных с субклиническим гипотиреозом.

## МЕТОДЫ

**Дизайн исследования:** кейс-контрольное исследование.

**Критерии включения:** проживание на территории Андижанской области Узбекистана; возраст 18–40 лет; одноплодная беременность; гипертензия, диагностированная после 20 недель беременности; отсутствие хронических форм заболеваний; подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

**Критерии исключения:** диагноз ВИЧ (МКБ-10: B20); хроническая гипертония; врождённые аномалии; нарушения слуха и речи; криминальное прошлое; история операций по удалению или трансплантации органов.

Для диагностики артериальной гипертензии во время беременности в рамках данного исследования применялся протокол, основанный на стандартных рекомендациях [21]. Этот протокол включает в себя чётко определённые критерии для диагностики артериальной гипертензии у беременных, что обеспечивает стандартизацию

и точность диагностического процесса. Для диагностики субклинического гипотиреоза мы использовали Национальный клинический протокол по диагностике и лечению нозологии «Гипотиреоз», разработанный Министерством здравоохранения Республики Узбекистан и Республиканским специализированным научно-практическим медицинским центром эндокринологии имени академика Й.Х. Туракулова [22].

**Продолжительность исследования:** с ноября 2022 г. по апрель 2023 г.

**Исходы исследования.** Оценено влияние тиреоидных гормонов в контексте субклинического гипотиреоза на развитие и выраженность гипертензивных расстройств у беременных женщин. Диагностика субклинического гипотиреоза была проведена совместно с эндокринологом на основе показателей тиреоидных гормонов, при этом медикаментозное лечение не назначалось.

**Выборка популяции.** Для определения необходимого объёма выборки в нашем исследовании была использована следующая статистическая формула:

$$n = \frac{z^2 \times \hat{p}(1-\hat{p})}{\varepsilon^2},$$

где:  $n$  – искомый размер выборки;  $z$  – стандартное нормальное отклонение  $\alpha$  (0,05) – 1,96;  $\varepsilon$  – заданная маржа ошибки;  $\hat{p}$  – доля населения:

$$73 = \frac{1.96^2 \times 0.05(1-0.05)}{0.05^2}.$$

Расчёты показали, что для достижения статистической надёжности необходимо 73 участницы, но для увеличения достоверности число было поднято до 96. Установленное соотношение к контрольной группе в 1 : 2 обусловило её размер в 192 чел., тем самым укрепив статистическую мощь исследования.

**Сбор данных** осуществлялся с участием специально обученного персонала. Материал собирался через анализ медицинских карт и анкетирование пациенток в Андижанском филиале Республиканского научно-практического медицинского центра здоровья матери и ребёнка, включая широкий спектр данных от демографических до лабораторных показателей. Использовались доплеровское сканирование на УЗИ-аппарате «Esaote MyLab 40» (Италия) и лабораторная проверка на аппаратуре «Mindray» и «Wondfo Biotech» (Китай). Забор крови для анализа гормонов щитовидной железы производился на второй день госпитализации, с хранением образцов при  $-20^\circ\text{C}$  и обработкой с помощью биохимического анализатора «Roche Cobas-c» (Швейцария).

**Статистический анализ.** Анализ данных в нашем исследовании выполнен с помощью языка R (версия 4.21) с использованием специальных пакетов для обработки данных. Для анализа качественных данных применили критерий  $\chi^2$  (хи-квадрат) Пирсона, чтобы определить статистическую значимость и вычислить значения  $p$ . Категориальные данные отображены в процентах, а числовые – через средние значения и стандартные отклонения. Для сравнения четырёх групп использовался ANOVA-тест. Распределения числовых данных определены по крите-

рию Шапиро – Уилка и все  $p$  меньше 0,05 взяты как данные, не подчиняющиеся закону нормального распределения.

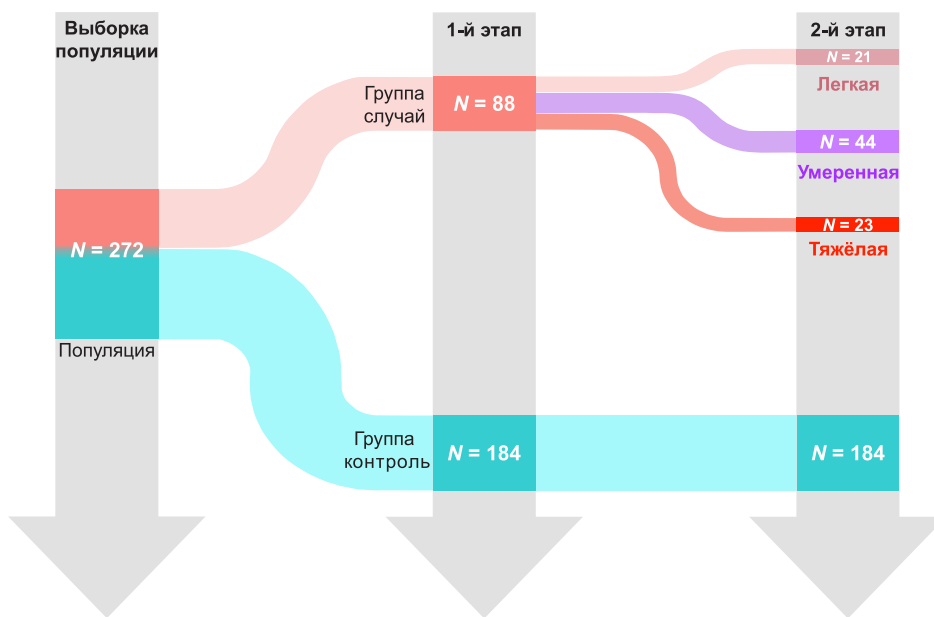
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Характеристика выборки исследования

В исследовании участвовали 294 беременные, прошедшие обследование в Андижанском филиале Республиканского научно-практического медицинского центра здоровья матери и ребёнка. Для подробного анализа оказались приемлемы 272 образца сыворотки крови. В рамках исследования экспериментальная выборка была стратифицирована на три подгруппы, классифицированные в соответствии с тяжестью гипертензивных состояний: подгруппа «лёгкая» включала женщин с гестационной гипертензией; подгруппа «умеренная» состояла из случаев умеренной преэклампсии; подгруппа «тяжёлая» охватывала случаи тяжёлой преэклампсии. Кроме того, для сравнительного анализа была сформирована контрольная группа (рис. 1).

В исследовании средний возраст участниц варьировал между группами: самый высокий в группе «умеренная» ( $29,8 \pm 5,6$  года) и самый низкий – в контрольной ( $27,0 \pm 5,0$  года), ( $p = 0,031$ ). Женщины были опрошены о своей дневной активности. К группе с высоким уровнем активности были отнесены те, кто не спит днём и проводит день, занимаясь активными домашними делами или работой. К группе со средним уровнем активности относились женщины, которые были активны через день. К группе с низкой активностью были отнесены те, кто проявлял активность один раз в неделю. Женщины с активным образом жизни были в основном в группе «лёгкая» (19%), в то время как большинство участниц в каждой группе имели средний уровень активности, с наибольшим процентом таковых в контрольной группе (90%), ( $p = 0,040$ ). Большинство участниц жили в сельской местности, особенно в «умеренной» и «тяжёлой» группах – 89 и 83% соответственно, без статистической значимости ( $p = 0,3$ ). Домохозяйки составляли основную часть каждой группы, наибольший процент в «умеренной» группе (84%), без значимых различий ( $p = 0,5$ ). Большинство участниц были узбечки (97% в контрольной группе), различия не были статистически значимыми ( $p = 0,7$ ). По образованию, большинство имели среднее, особенно в контрольной группе (86%), ( $p = 0,8$ ) (табл. 1).

В исследовании наблюдалась тенденция к увеличению индекса массы тела (ИМТ) с усилением степени заболевания: средний ИМТ в группе с лёгкой формой составил  $31,4 \pm 5,5$ , в группе с умеренной формой –  $31,1 \pm 4,3$ , а в группе с тяжёлой формой –  $33,2 \pm 6,5$ , при этом статистическая значимость достигла  $p < 0,001$ . В контрольной группе средний ИМТ был значительно ниже –  $27,1 \pm 3,6$ . Конституция участниц исследования варьировала: в контрольной группе 49% имели нормостеническую конституцию, против 30% в «тяжёлой» группе. Процент участников с гиперстенической конституцией рос с тяжестью заболевания – от 46 до 70%. Уровень значимости для конституционных различий составил  $p = 0,2$ . Наличие



**РИС. 1.**  
Характеристика выборки исследования

**FIG. 1.**  
Characteristics of the research sample

**ТАБЛИЦА 1**  
**СОЦИАЛЬНО ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**  
**УЧАСТНИЦ**

**TABLE 1**  
**SOCIO-DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS**  
**OF PARTICIPANTS**

Характеристика	Контрольная n = 184*	«Лёгкая» n = 21*	«Умеренная» n = 44*	«Тяжёлая» n = 23*	p <sup>#</sup>
Возраст	27,0 (5,0)	28,3 (6,6)	29,8 (5,6)	27,4 (5,5)	0,031
Активность					0,040
высокий уровень	15 (8,2 %)	4 (19 %)	3 (6,8 %)	1 (4,3 %)	
низкий уровень	3 (1,6 %)	2 (9,5 %)	3 (6,8 %)	2 (8,7 %)	
средний уровень	166 (90 %)	15 (71 %)	38 (86 %)	20 (87 %)	
Место проживания					0,3
город	41 (22 %)	2 (9,5 %)	5 (11 %)	4 (17 %)	
село	143 (78 %)	19 (90 %)	39 (89 %)	19 (83 %)	
Занятость					0,5
домохозяйка	140 (76 %)	13 (62 %)	37 (84 %)	16 (70 %)	
работает	29 (16 %)	5 (24 %)	4 (9,1 %)	4 (17 %)	
студентка	15 (8,2 %)	3 (14 %)	3 (6,8 %)	3 (13 %)	
Национальность					0,7
др. национальности	5 (0 %)	0 (0 %)	1 (2,3 %)	0 (0 %)	
узбечка	179 (97 %)	21 (100 %)	42 (95 %)	23 (100 %)	
Образование					0,8
высшее	26 (14 %)	2 (9,5 %)	8 (18 %)	3 (13 %)	
среднее	158 (86 %)	19 (90 %)	36 (82 %)	20 (87 %)	

**Примечание.** \* – среднее значение (стандартное отклонение), n (%); <sup>#</sup> – однофакторный анализ средних значений (не предполагающий равных дисперсий), точный тест Фишера.

отёков в нижних конечностях также увеличивалось с тяжестью заболевания, достигая 74 % в «тяжёлой» группе, с уровнем значимости  $p < 0,001$ , указывая на аналогичные тенденции для отёков в других частях тела (табл. 2).

В процессе обследования женщин во время беременности, мы установили, что среди наблюдаемых жалоб, тошнота была зафиксирована у 39 % участниц контрольной группы и у 32–43 % беременных с разной степенью гипертензии ( $p = 0,8$ ). Заметный рост усталости был выявлен в «умеренной» и «тяжёлой» группах (55 и 65 % соответственно) по сравнению с 82 % в контрольной группе ( $p = 0,001$ ). Головокружение, колеблющееся от 17 до 34 % среди всех групп, не показало статистической значимости ( $p = 0,5$ ). Метеоризм и колиты не показали значимых различий между группами ( $p = 0,062$ ). Ожирение наблюдалось значительно чаще в группах с СГ (43–65 %) ( $p < 0,001$ ). Снижение памяти было примерно одинаковым во всех группах ( $p = 0,8$ ). Было выявлено, что головная боль значительно чаще встречалась в группах с гипертензией: 16 % – в контрольной, 38 % – в «лёгкой», 34 % – в «умеренной», и 39 % – в «тяжёлой» группе ( $p = 0,002$ ). Частота ломкости ногтей также увеличивалась с тяжестью гипертензии, хотя в контрольной группе данный симптом не наблюдался, в то время как в «лёгкой» группе он встречался

у 14 %, в «умеренной» – у 9,1 %, и в «тяжёлой» – у 8,7 % ( $p < 0,001$ ). Присутствие симптомов до беременности наблюдалось у 2,7 % участниц в контрольной группе. В группах с гипертензией эти показатели были значительно выше: 38 % – в «лёгкой», 23 % – в «умеренной» и 22 % – в «тяжёлой» группе ( $p < 0,001$ ). Результаты исследования показали, что некоторые симптомы усиливаются с ухудшением гипертензивного состояния у беременных. Например, отёки значительно возрастают от «лёгкой» (57 %) к «тяжёлой» (83 %) группе ( $p < 0,001$ ), так же, как и выпадение волос от 8,7 % в контрольной группе до 43 % в «тяжёлой» ( $p < 0,001$ ). Агрессивность (42 % в контрольной против 65 % в «тяжёлой»;  $p < 0,001$ ) и сухость кожи (32 % в контрольной против 61 % в «тяжёлой»;  $p < 0,001$ ) также увеличиваются с ухудшением гипертензивного состояния. Эти данные подчёркивают связь между симптомами и степенью гипертензии в беременности (табл. 3).

Анализ гормонального статуса щитовидной железы у беременных разных групп выявил, что концентрация тиреоглобулина увеличивается от контрольной группы ( $14 \pm 16$ ) к группам с лёгкой ( $59 \pm 68$ ), умеренной ( $90 \pm 85$ ), и тяжёлой ( $102 \pm 89$ ) гипертензией, достигая статистической значимости ( $p < 0,001$ ). Это указывает на постепенное усиление функции щитовидной железы в соответствии

ТАБЛИЦА 2  
РЕЗУЛЬТАТЫ ОБЪЕКТИВНОГО ОСМОТРА

TABLE 2  
RESULTS OF THE OBJECTIVE EXAMINATION

Характеристика	Контрольная $n = 184^*$	«Лёгкая» $n = 21^*$	«Умеренная» $n = 44^*$	«Тяжёлая» $n = 23^*$	$p^{\#}$
ИМТ	27,1 (3,6)	31.4 (5.5)	31.1 (4.3)	33.2 (6.5)	<b>&lt; 0,001</b>
Конституция					0,2
астенический тип	9 (4,9 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	
гиперстенический тип	85 (46 %)	9 (43 %)	27 (61 %)	16 (70 %)	
нормостенический тип	90 (49 %)	12 (57 %)	17 (39 %)	7 (30 %)	
Цвет кожи					<b>0,019</b>
светлый	15 (8,2 %)	6 (29 %)	3 (7,0 %)	0 (0 %)	
средний	138 (76 %)	14 (67 %)	38 (88 %)	20 (87 %)	
тёмный	29 (16 %)	1 (4,8 %)	2 (4,7 %)	3 (13 %)	
Характер кожных покровов					<b>&lt; 0,001</b>
жирная кожа	10 (5,4 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (4,3 %)	
нормальная кожа	120 (65 %)	7 (33 %)	14 (32 %)	8 (35 %)	
сухая кожа	54 (29 %)	14 (67 %)	30 (68 %)	14 (61 %)	
Отёки					
нижние конечности	58 (33 %)	12 (57 %)	29 (66 %)	17 (74 %)	<b>&lt; 0,001</b>
верхние конечности	12 (6,9 %)	7 (33 %)	12 (27 %)	10 (43 %)	<b>&lt; 0,001</b>
в области лица	0 (0 %)	0 (0 %)	5 (11 %)	6 (26 %)	<b>&lt; 0,001</b>
тотальный отёк	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (4,5 %)	1 (4,3 %)	<b>0,037</b>

Примечание. \* – среднее значение (стандартное отклонение),  $n$  (%);  $\#$  – однофакторный анализ средних значений (не предполагающий равных дисперсий), точный тест Фишера.

с уровнем гипертензии. Наибольшее количество антител к тиреопероксидазе (АТ к ТПО) наблюдалось в контрольной группе ( $26 \pm 79$ ), уменьшаясь к лёгкой ( $8 \pm 23$ ), умеренной ( $21 \pm 55$ ) и минимальное в тяжёлой ( $4 \pm 3$ ) группе ( $p < 0,001$ ). Самое высокое среднее значение свободного трийодтиронина (свТ3) было в контрольной группе ( $6,39 \pm 9,80$ ), снижаясь в «лёгкой» ( $0,87 \pm 1,49$ ), «умеренной» ( $2,28 \pm 7,53$ ) и наименьшее в «тяжёлой» ( $0,32 \pm 0,20$ ) группе ( $p < 0,001$ ). Уровни свободного трийодтироксина (свТ4) были относительно стабильными между всеми группами (контрольная –  $7,99 \pm 2,10$ , «лёгкая» –  $8,14 \pm 1,56$ , «умеренная» –  $8,21 \pm 2,05$ , «тяжёлая» –  $7,62 \pm 2,52$ ;  $p = 0,8$ ). Значительные различия

были обнаружены в концентрациях общего трийодтиронина (оТ3) и общего трийодтироксина (оТ4), с наибольшими значениями оТ3 в «тяжёлой» группе ( $8,37 \pm 3,25$ ) и оТ4 – в контрольной ( $136 \pm 23$ ) ( $p < 0,001$  для обоих показателей). Наибольшее среднее значение ТТГ было в «умеренной» группе ( $4,02 \pm 3,08$ ), с последующим уменьшением к «лёгкой» ( $2,48 \pm 1,53$ ) и «тяжёлой» ( $3,57 \pm 2,09$ ) группам, контрольная группа показала значение  $3,93 \pm 1,87$  ( $p = 0,003$ ). Наивысший показатель антител тиреоглобулина (АТ к ТГ) был в контрольной группе ( $22 \pm 13$ ), уменьшаясь к «лёгкой» ( $12 \pm 35$ ), «умеренной» ( $11 \pm 27$ ) и наименьшее в «тяжёлой» ( $2 \pm 3$ ) группе с  $p < 0,001$  (табл. 4).

**ТАБЛИЦА 3**  
**ПРОЯВЛЕНИЕ СИМПТОМОВ СУБКЛИНИЧЕСКОГО**  
**ГИПОТИРЕОЗА У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН**

**TABLE 3**  
**MANIFESTATION OF SUBCLINICAL HYPOTHYROIDISM**  
**SYMPTOMS IN PREGNANT WOMEN**

Характеристика	Контрольная <i>n</i> = 184*	«Лёгкая» <i>n</i> = 21*	«Умеренная» <i>n</i> = 44*	«Тяжёлая» <i>n</i> = 23*	<i>p</i> <sup>#</sup>
Тошнота	71 (39 %)	9 (43 %)	14 (32 %)	8 (35 %)	0,8
Усталость	150 (82 %)	17 (81 %)	24 (55 %)	15 (65 %)	<b>0,001</b>
Головокружение	50 (27 %)	7 (33 %)	15 (34 %)	4 (17 %)	0,5
Отёки	53 (29 %)	12 (57 %)	29 (66 %)	19 (83 %)	<b>&lt; 0,001</b>
Выпадение волос	16 (8,7 %)	11 (52 %)	17 (39 %)	10 (43 %)	<b>&lt; 0,001</b>
Метеоризм	86 (47 %)	7 (33 %)	15 (34 %)	5 (22 %)	0,062
Агрессивность	77 (42 %)	17 (81 %)	30 (68 %)	15 (65 %)	<b>&lt; 0,001</b>
Сухость кожи	58 (32 %)	13 (62 %)	29 (66 %)	14 (61 %)	<b>&lt; 0,001</b>
Ожирение	27 (15 %)	9 (43 %)	22 (50 %)	15 (65 %)	<b>&lt; 0,001</b>
Снижение памяти	107 (58 %)	12 (57 %)	28 (64 %)	15 (65 %)	0,8
Головная боль	29 (16 %)	8 (38 %)	15 (34 %)	9 (39 %)	<b>0,002</b>
Ломкость ногтей	0 (0 %)	3 (14 %)	4 (9,1 %)	2 (8,7 %)	<b>&lt; 0,001</b>
Наличие симптомов до беременности	5 (2,7 %)	8 (38 %)	10 (23 %)	5 (22 %)	<b>&lt; 0,001</b>

**Примечание.** \* – *n* (%); <sup>#</sup> – критерий хи-квадрат Пирсона, точный тест Фишера.

**ТАБЛИЦА 4**  
**АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ ФУНКЦИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**TABLE 4**  
**ANALYSIS OF THYROID FUNCTION PARAMETERS**

Характеристика	Норма	Контрольная <i>n</i> = 184*	«Лёгкая» <i>n</i> = 21*	«Умеренная» <i>n</i> = 44*	«Тяжёлая» <i>n</i> = 23*	<i>p</i> <sup>#</sup>
Тиреоглобулин, мЕд./мл	1,6–59,0	14 (16)	59 (68)	90 (85)	102 (89)	<b>&lt; 0,001</b>
АТ к ТПО, мЕд./мл	0–18,0	26 (79)	8 (23)	21 (55)	4 (3)	<b>&lt; 0,001</b>
свТ3, пмоль/л	4,76–10,44	6,39 (9,80)	0,87 (1,49)	2,28 (7,53)	0,32 (0,20)	<b>&lt; 0,001</b>
свТ4, пмоль/л	10,3–24,5	7,99 (2,10)	8,14 (1,56)	8,21 (2,05)	7,62 (2,52)	0,8
оТ3, нмоль/л	4,6–8,6	3,16 (0,76)	6,10 (1,65)	6,69 (2,99)	8,37 (3,25)	<b>&lt; 0,001</b>
оТ4, пмоль/л	60,0–180,0	136 (23)	115 (16)	109 (19)	110 (20)	<b>&lt; 0,001</b>
ТТГ, мкМЕд./мл	0,3–5,0	3,93 (1,87)	2,48 (1,53)	4,02 (3,08)	3,57 (2,09)	<b>0,003</b>
АТ к ТГ, мЕд./мл	0–40,0	22 (13)	12 (35)	11 (27)	2 (3)	<b>&lt; 0,001</b>

**Примечание.** \* – среднее значение (стандартное отклонение); <sup>#</sup> – однофакторный анализ средних значений (не предполагающий равных дисперсий).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках нашего исследования был проведён всесторонний анализ влияния субклинического гипотиреоза на развитие гипертензивных состояний у беременных женщин. Основываясь на собранных данных, были выявлены ключевые паттерны, связывающие изменения в ИМТ, образе жизни, месте проживания и гормональном фоне с уровнем гипертензии.

Наблюдаемые демографические различия, включая средний возраст участниц, их образ жизни и место проживания, демонстрируют сходство с результатами, полученными в исследовании, проведённом в Канаде [23], где было подтверждено, что эти факторы могут влиять на риск развития гипертензивных состояний. Кроме этого, возраст и физическая активность играют значительную роль в риске и тяжести гипертензии у беременных, что находит подтверждение в работе Aune D. et al. [24]. В нашем исследовании было показано, что молодые беременные женщины с высокой физической активностью имеют меньший риск развития гипертензии, подчёркивая важность этих факторов в профилактике гипертензивных состояний. Аналогично, тенденция к увеличению ИМТ с усилением степени заболевания, подчёркивающая роль ожирения в аггравации гипертензивных расстройств, находит подтверждение в исследовании, проведённом в Швеции [25].

Результаты нашего исследования подтверждают значимые различия в гормональном профиле щитовидной железы между беременными с различной степенью гипертензии и контрольной группой, что согласуется с данными предыдущих исследований. Например, исследование, проведённое C.B. Businge et al. [26], также обнаружило повышенную концентрацию тиреоглобулина в группе беременных с преэклампсией по сравнению с контрольной группой. Это может указывать на повышенный стресс щитовидной железы в условиях гипертензии во время беременности. Исследования, проведённые в Уханьском университете [27], показали, что даже незначительные изменения в уровнях гормонов щитовидной железы, включая ТТГ, свТ4 и свТ3, могут оказывать влияние на тяжесть гипертензивных состояний во время беременности. Хотя в нашем исследовании уровни свТ4 оставались относительно стабильными и не показали статистической значимости, что совпадает с результатами, полученными в систематическом обзоре и метаанализе, проведёнными группой американских и европейских специалистов [28], где также не было обнаружено значительного влияния свТ4 на гипертензивные расстройства.

В контексте отёков наши результаты согласуются с выводами исследования из Университета Торонто, которое подтверждает, что участницы с более высокими уровнями ТТГ и изменениями в уровнях АТ к ТПО чаще страдали от отёков. Повышенные уровни АТ к ТПО инициируют воспалительный процесс в щитовидной железе, что приводит к её повреждению и снижению функции, вызывая субклинический гипотиреоз. Гипотиреоз характеризуется повышением уровней ТТГ и снижением уровней свТ4, что нарушает водно-солевой обмен. Нару-

шение водно-солевого обмена приводит к задержке натрия и воды в организме, что вызывает накопление жидкости в тканях и развитие отёков. Гипотиреоз также увеличивает проницаемость сосудов, способствуя экссудации жидкости в ткани и усугубляя отёчный синдром. Это свидетельствует о том, что иммунологические и метаболические изменения, связанные с субклиническим гипотиреозом, могут усиливать гипертензивные симптомы и ухудшать общее состояние беременных женщин. Следовательно, мониторинг уровней АТ к ТПО антител является важным для предсказания и управления рисками отёков и гипертензии у беременных.

Высокие уровни тиреоглобулина (ТГ), обнаруженные в нашем исследовании, находят отражение в работе исследовательской группы из университетов ЮАР и Демократической Республики Конго [26], где было показано, что повышение ТГ может быть связано с увеличением риска развития гипертензии при беременности. Это подчёркивает потенциальную роль ТГ как биомаркера для оценки риска развития гипертензивных состояний у беременных с субклиническим гипотиреозом.

Наше исследование также подчёркивает значительные различия в уровнях тиреотропного гормона между группами, что согласуется с выводами исследования M. Hjiifoghaha et al. [29], подчёркивающего важность ТТГ как индикатора риска развития преэклампсии.

Такие симптомы, как тошнота, усталость и головные боли, различались между группами, особенно выделялась высокая частота усталости в «умеренной» и «тяжёлой» группах по сравнению с контрольной, что совпадает с наблюдениями, описанными в исследовании W. Carter et al. [30]. Авторы указывают на усталость как на частый симптом у беременных с преэклампсией, что подтверждает наши находки. Увеличение частоты таких симптомов, как отёки, головная боль и ломкость ногтей, с ухудшением гипертензивного состояния, находит подтверждение в работе A.S. El-Agwan [31], подчёркивая необходимость учёта этих симптомов при диагностике и лечении гипертензии во время беременности.

Кроме того, наши результаты о повышенной частоте ожирения среди гипертензивных беременных женщин согласуются с выводами исследования M.J. Schiavon et al. [32], которое также обнаружило связь между ожирением и риском развития гипертензии во время беременности. Это подчёркивает важность контроля веса для снижения риска гипертензивных расстройств.

Наше исследование акцентирует важность комплексного подхода к управлению рисками гипертензии у беременных, учитывая демографические, гормональные факторы и образ жизни, что может способствовать разработке эффективных стратегий профилактики гипертензивных состояний у беременных женщин.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши результаты показали значительные различия в гормональном статусе щитовидной железы с исключением свТ4, между беременными с гипертензией и без неё,

подчеркнув важность мониторинга щитовидной железы при беременности. Также выявлена связь между гипертензией и такими факторами, как возраст, физическая активность и ожирение. Это исследование подтверждает необходимость интегрированного подхода к управлению беременностью, включающего внимание к здоровью щитовидной железы и образу жизни, а также предоставляет направления для дальнейших исследований в области профилактики и лечения гипертензии во время беременности.

### Ограничение

Основное ограничение исследования заключалось в отсутствии данных о концентрации йода в моче пациенток из-за недоступности методов анализа. Доплерометрия фетоплацентарной системы использовалась ограниченно, преимущественно в основной группе, и лишь по желанию в контрольной группе, что могло вызвать систематическую ошибку. Измерение скорости пульсовой волны и уровня селена в крови не проводилось, ограничивая анализ причин преэклампсии и функции щитовидной железы. В начале исследования из-за нарушения процедуры забора крови было утрачено 20 образцов.

### Этические аспекты

Исследование было осуществлено после получения одобрения от Этической комиссии Министерства здравоохранения Республики Узбекистан № 1684/6-1 от 27.09.2022.

### Финансирование

Исследование финансировалось Андижанским государственным медицинским институтом Республики Узбекистан через базовую докторскую программу в виде исследовательской стипендии, покрывающей все расходы на организацию, сбор и анализ данных, а также публикацию результатов.

### Конфликт интересов

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bell MJ. A historical overview of preeclampsia-eclampsia. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*. 2010; 39(5): 510-518. doi: 10.1111/j.1552-6909.2010.01172.x
2. Roberts C, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of preeclampsia. *Lancet*. 2001; 357(9249): 53-56. doi: 10.1016/S0140-6736(00)03577-7
3. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2019; 133(1): 1. doi: 10.1097/AOG.0000000000003018
4. Fokom-Domgue J, Noubiap JJ. Diagnosis of hypertensive disorders of pregnancy in sub-Saharan Africa: A poorly assessed but increasingly important issue. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2015; 17(1): 70-73. doi: 10.1111/jch.12429

5. Gmechu KS, Assefa N, Mengistie B. Prevalence of hypertensive disorders of pregnancy and pregnancy outcomes in Sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis. *Womens Health (Lond)*. 2020; 16: 1745506520973105. doi: 10.1177/1745506520973105

6. Osungbade KO, Ige OK. Public health perspectives of preeclampsia in developing countries: Implication for health system strengthening. *J Pregnancy*. 2011; 2011: 481095. doi: 10.1155/2011/481095

7. Sharipovna AN, Tulkinzhanovna SG, Hayatovna MM, Odiljonovna GN. Analysis of the results of a study on the frequency of occurrence and prevalence of risk factors for chronic kidney disease. *International Journal of Current Research and Review*. 2021; 13(2): 127-131. doi: 10.31782/IJCRR.2021.13232

8. Nurgaliyeva GT, Semenova YM, Tanysheva GA, Akylzhanova ZE, Bologan I, Manabayeva GK. Epidemiology of preeclampsia in the Republic of Kazakhstan: Maternal and neonatal outcomes. *Pregnancy Hypertens*. 2020; 20: 1-6. doi: 10.1016/j.preghy.2020.02.003

9. Чулков В.С., Сундюкова Е.Г., Чулков В.С., Тарасова О.А., Романюго Г.Д. Гипертензивные нарушения во время беременности и риск сердечно-сосудистых заболеваний. *Профилактическая медицина*. 2021; 24(12): 97-104. [Chulkov VS, Syundyukova EG, Chulkov VS, Tarasova OA, Romanyugo GD. Hypertensive disorders during pregnancy and risk of cardiovascular disease. *Russian Journal of Preventive Medicine*. 2021; 24(12): 97-104. (In Russ.)]. doi: 10.17116/profmed20212412197

10. Шукуров Ф.И., Гаипова Н.М., Абраева Н.Н. Особенности факторов риска преэклампсии при беременности. Ташкент, 2023. [Shukurov FI, Gaipova NM, Abraeva NN. Features of risk factors for preeclampsia during pregnancy. Tashkent, 2023. (In Russ.)]. URL: <http://repository.tma.uz/xmlui/handle/1/8919> [дата доступа: 31.07.2024].

11. Клименченко Н.И. Артериальная гипертензия и беременность. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения*. 2017; 2(16): 55-65. [Klimenchenko NI. Arterial hypertension and pregnancy. *Obstetrics and Gynecology: News. Opinions. Training*. 2017; 2(16): 55-65. (In Russ.)].

12. Taylor PN, Albrecht D, Scholz A, Gutierrez-Buey G, Lazarus JH, Dayan CM, et al. Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol*. 2018; 14(5): 301-316. doi: 10.1038/nrendo.2018.18

13. Reiners C, Wegscheider K, Schicha H, Theissen P, Vaupel R, Wrbitzky R, et al. Prevalence of thyroid disorders in the working population of Germany: Ultrasonography screening in 96,278 unselected employees. *Thyroid*. 2004; 14(11): 926-932. doi: 10.1089/thy.2004.14.926

14. Казакова Р. Распространённость эндемического зоба в Республике Узбекистан и его профилактика. *Молодые учёные*. 2023; 1(13): 38-40. [Kazakova R. Prevalence of endemic goiter in the Republic of Uzbekistan and its prevention. *Young scientists*. 2023; 1(13): 38-40. (In Russ.)].

15. Урманова Ю.М., Исмаилов С.И., Далимова Г.А., Абдурахманова Р.Х., Алиева Д.А., Сафарова Ш.М. Характеристика нарушений заболеваний щитовидной железы у девочек в Сурхандарьинской области Республики Узбекистан. *Scientific progress*. 2021; 5: 243-250. [Urmanova YuM, Ismailov SI, Dalimova GA, Abdurakhmanova RKH, Alieva DA, Safarova ShM. Characteristics of thyroid disease disorders in girls in the Surkhandarya region of the Republic of Uzbekistan. *Scientific progress*. 2021; 5: 243-250. (In Russ.)].

16. Абдураззакова Д.С., Камолдинов Р.К., Нишанова М.С., Умурзакова Р.З. Субклинический гипотиреоз у женщин в Андижанской области. *Национальная ассоциация учёных*. 2021; 74: 22-25. [Abdurazzakova DS, Kamoldinov RK, Nishanova MS, Umurzakova RZ. Subclinical hypothyroidism in women in the Andijan region. *National Association of Scientists*. 2021; 74: 22-25. (In Russ.)].
17. Еркудов В.О., Пуговкин А.П., Матчанов А.Т., Розумбетов К.У., Даулетов Р.К., Рогозин С.С., и др. Анализ отклонений параметров физического развития у юношей, проживающих в Приарале, от международных стандартизированных норм. *Педиатр*. 2020; 11(6): 21-28. [Erkudov VO, Pugovkin AP, Matchanov AT, Rozumbetov KU, Dauletov RK, Rogozin SS, et al. Analysis of deviations of physical development parameters in young men living in the Aral Sea region from international standardized norms. *Pediatrician*. 2020; 11(6): 21-28. (In Russ.)]. doi: 10.17816/PED11621-28
18. Нозимова Н., Арипходжаева Ф. Гипотиреоз и его значение в Узбекистане. *Научные работы одарённой молодёжи и медицина XXI века*. 2023; 1(1), 150. [Nozimova N, Ariphodzhaeva F. Hypothyroidism and its significance in Uzbekistan. *Scientific works of gifted youth and medicine of the 21st century*. 2023; 1(1): 150. (In Russ.)].
19. Casey BM, Dashe JS, Wells CE, McIntire DD, Byrd W, Leveno KJ, et al. Subclinical hypothyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol*. 2005; 105(2): 239-245. doi: 10.1097/01.AOG.0000152345.99421.22
20. Hinkosa L, Tamene A, Gebeyehu N. Risk factors associated with hypertensive disorders in pregnancy in Nekemte referral hospital, from July 2015 to June 2017, Ethiopia: Case-control study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020; 20(1): 16. doi: 10.1186/s12884-019-2693-9
21. *Национальный клинический протокол «Артериальная гипертензия во время беременности»*. Ташкент, 2021. [National clinical protocol "Arterial hypertension during pregnancy". Tashkent, 2021. (In Russ.)]. URL: <https://uzaiq.uz/medias/media/other/266/arterial-gipertenziya.pdf> [дата доступа: 10.02.2024].
22. *Национальные клинические протоколы по нозологии «Гипотиреоз»*. Ташкент, 2024. [National clinical protocols for the nosology "Hypothyroidism". Tashkent, 2024. (In Russ.)]. URL: <https://gov.uz/ru/ssv/sections/view/11606> [дата доступа: 10.02.2024].
23. Cai C, Vandermeer B, Khurana R, Nerenberg K, Featherstone R, Sebastianski M, et al. The impact of occupational activities during pregnancy on pregnancy outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 222(3): 224-238. doi: 10.1016/j.ajog.2019.08.059
24. Aune D, Saugstad OD, Henriksen T, Tonstad S. Physical activity and the risk of preeclampsia: A systematic review and meta-analysis. *Epidemiology*. 2014; 25(3): 331-343. doi: 10.1097/EDE.0000000000000036
25. Sohlberg S, Stephansson O, Cnattingius S, Wikström AK. Maternal body mass index, height, and risks of preeclampsia. *Am J Hypertens*. 2012; 25(1): 120-125. doi: 10.1038/ajh.2011.175
26. Businge CB, Longo-Mbenza B, Kengne AP. Iodine deficiency in pregnancy along a concentration gradient is associated with increased severity of preeclampsia in rural Eastern Cape, South Africa. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2022; 22(1): 98. doi: 10.1186/s12884-021-04356-6
27. Gui J, Xu W, Zhang J. Association between thyroid dysfunction and perinatal outcomes in women with gestational hypertension: A retrospective study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020; 20(1): 119. doi: 10.1186/s12884-020-2805-6
28. Toloza FJK, Derakhshan A, Männistö T, Bliddal S, Popova PV, Carty DM, et al. Association between maternal thyroid function and risk of gestational hypertension and pre-eclampsia: A systematic review and individual-participant data meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022; 10(4): 243-252. doi: 10.1016/S2213-8587(22)00007-9
29. Hjiifoghaha M, Teshnizi SH, Forouhari S, Dabbaghmanesh MH. Association of thyroid function test abnormalities with preeclampsia: A systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr Disord*. 2022; 22(1): 240. doi: 10.1186/s12902-022-01154-9
30. Carter W, Bick D, Mackintosh N, Sandall J. A narrative synthesis of factors that affect women speaking up about early warning signs and symptoms of pre-eclampsia and responses of healthcare staff. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2017; 17(1): 63. doi: 10.1186/s12884-017-1245-4
31. El-Agwany AS. Aggressive late Sezary syndrome with pregnancy: A case presented with generalized erythroderma and dyspnea. *Ital J Gynaecol Obstet*. 2016; 28(4): 23-29. doi: 10.14660/2385-0868-50
32. Schiavone MJ, Pérez M, Aquieri A, Nosetto D, Pronotti MV, Mazzei M, et al. The role of obesity in the development of preeclampsia. *Curr Hypertens Rep*. 2024; 26(6): 247-258. doi: 10.1007/s11906-024-01299-z

#### Сведения об авторах

**Усманова Мохинур Дилшод кизи** – базовый докторант по акушерству и гинекологии, Андижанский государственный медицинский институт, e-mail: [moxi.noral1221@gmail.com](mailto:moxi.noral1221@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0008-0366-3690>

**Насирова Феруза Жумабаевна** – кандидат медицинских наук, научный консультант кафедры акушерства и гинекологии № 1, Андижанский государственный медицинский институт, e-mail: [f.jumabaevna69@gmail.com](mailto:f.jumabaevna69@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-5522-793X>

**Усманов Шохрух Кутбидин угли** – ментор, аналитик в программе прикладной эпидемиологии в Центральной Азии CDC, Андижанский государственный медицинский институт, e-mail: [shohrux1718@gmail.com](mailto:shohrux1718@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-1005-8719>

#### Information about the authors

**Mokhinur D. Usmanova** – PhD Student in Obstetrics and Gynecology, Andijan State Medical Institute, e-mail: [moxi.noral1221@gmail.com](mailto:moxi.noral1221@gmail.com), <https://orcid.org/0009-0008-0366-3690>

**Feruzha Zh. Nasirova** – Cand. Sc. (Med.), Scientific Consultant at the Department of Obstetrics and Gynecology No. 1, Andijan State Medical Institute, e-mail: [f.jumabaevna69@gmail.com](mailto:f.jumabaevna69@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0001-5522-793X>

**Shokhrukh K. Usmanov** – Mentor, Analyst in the CDC Central Asia Field Epidemiology Training Program, Andijan State Medical Institute, e-mail: [shohrux1718@gmail.com](mailto:shohrux1718@gmail.com), <https://orcid.org/0000-0003-1005-8719>

# БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

## CAR НК-ТЕРАПИЯ: МЕТОДЫ АКТИВАЦИИ И ЭКСПАНСИИ НК-КЛЕТОК

### РЕЗЮМЕ

**Фёдорова П.О.**

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (105064, г. Москва, Малый Казенный пер., 5А, Россия)  
Научно-исследовательский институт экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, Россия)  
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
**Фёдорова Полина Олеговна,**  
e-mail: ppolite@mail.ru

На сегодняшний день терапия Т-клетками с химерным рецептором антигена (CAR, chimeric antigen receptor) представляет собой эффективный метод лечения в области онкогематологических заболеваний. Однако иммунотерапия на основе Т-лимфоцитов имеет определённые недостатки, ограничивающие область применения данного подхода. Многообещающей альтернативой служит основанная на натуральных киллерах (НК-клетках) CAR-терапия, поскольку она не требует детального подбора донора по системе человеческих лейкоцитарных антигенов; НК-клетки обладают уникальным механизмом распознавания и уничтожения опухолевых клеток. Кроме того, при инфузии натуральные киллеры не вызывают тяжёлых токсических реакций. Создание CAR НК-продукта представляет собой непростую задачу, включающую культивирование клеток, использование методов генной инженерии, а также проверку контроля качества полученного биомедицинского клеточного продукта (БМКП). Для пролиферации и усиления эффекторных функций НК-клеткам требуется наличие в питательной среде интерлейкинов, фидерных клеток или их компонентов и активаторов иммунной системы. В данном обзоре основное внимание уделяется различным подходам к активации и экспансии натуральных киллеров в процессе культивирования, а также затрагиваются вопросы о достоинствах и недостатках выбранного метода терапии и о регуляторных аспектах создания полноценного БМКП.

**Ключевые слова:** адаптивная иммунотерапия, химерные антигенные рецепторы, НК-клетки, фидерные клетки, интерлейкины, трансдукция

Статья поступила: 18.10.2023

Статья принята: 03.10.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Фёдорова П.О. CAR НК-терапия: методы активации и экспансии НК-клеток. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 53-65. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.6

## CAR NATURAL KILLER CELL THERAPY: NATURAL KILLER CELL ACTIVATION AND EXPANSION

**Fedorova P.O.**

I.I. Mechnikov Vaccine and Serum  
Research Institute (Malyi Kazennyi lane 5A,  
Moscow 105064, Russian Federation)  
Research Institute of Experimental Therapy  
and Diagnostics of Tumor, N.N. Blokhin  
National Medical Center of Oncology  
(Kashirskoye Highway 24, Moscow 115522,  
Russian Federation)  
I.M. Sechenov First Moscow State  
Medical University (Sechenov University)  
(Trubetskaya str. 8-2, Moscow 119991,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
**Polina O. Fedorova,**  
e-mail: ppolite@mail.ru

### ABSTRACT

*Currently, chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy is an effective treatment method of hematological malignancies. However, T-lymphocyte-based immunotherapy has certain limitations for the scope of application of this approach. A promising alternative is CAR therapy based on natural killer (NK) cells, since it does not require detailed donor selection according to the human leukocyte antigen system; NK cells have a unique mechanism for recognizing and destroying tumor cells. In addition, NK cells do not cause severe toxic reactions when infused. The creation of a CAR NK product is a complex task includes cell culturing, using genetic engineering methods, and quality control testing of the resulting biomedical cell product (BMCP). For proliferation and effector function enhancement, NK cells require the presence of interleukins, feeder cells or their components, and immune system activators in the nutrient medium. This review focuses on various approaches to the activation and expansion of natural killer cells during cultivation, and also addresses the issues of the advantages and disadvantages of the chosen therapy and the regulatory aspects of creating a full-fledged BMCP.*

**Key words:** adoptive immunotherapy, chimeric antigen receptors, natural killer cells, feeder cells, interleukins, transduction

Received: 18.10.2023  
Accepted: 03.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Fedorova P.O. CAR natural killer cell therapy: Natural killer cell activation and expansion. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 53-65. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.6

## РАЗДЕЛ 1. РОЛЬ НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРОВ В ПРОТИВООПУХОЛЕВОМ ИММУНИТЕТЕ

Натуральные киллеры (НК) являются первой линией защиты организма от опухолевых или поражённых вирусами клеток. Они принимают важное участие в функционировании врождённого иммунитета и кооперации клеток иммунной системы. Человеческие НК-клетки представляют собой крупные гранулярные лимфоциты, экспрессирующие на своей поверхности CD56-рецептор, но не имеющие T-клеточного рецептора. Активация НК-клеток основана на сбалансированной системе, объединяющей сигналы от активирующих и ингибирующих рецепторов. У человека выделяют две субпопуляции натуральных киллеров: CD56<sup>bright</sup>CD94<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>/+NKG2A<sup>+</sup>KIR<sup>-</sup> и CD56<sup>dim</sup>CD94<sup>med/low</sup>CD16<sup>+</sup>NKG2A<sup>+</sup>/-KIR<sup>+</sup> [1]. CD56<sup>bright</sup>CD94<sup>hi</sup>CD16<sup>-</sup>/+NKG2A<sup>+</sup>KIR<sup>-</sup> НК-клетки секретируют фактор некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor  $\alpha$ ), интерферон  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) и различные интерлейкины (ИЛ); стимулируют воспаление, активируют дендритные клетки и презентуют антигены [1]. CD56<sup>dim</sup>CD94<sup>med/low</sup>CD16<sup>+</sup>NKG2A<sup>+</sup>/-KIR<sup>+</sup>-клетки – более зрелая и многочисленная субпопуляция, обнаруживаемая в периферической крови и костном мозге. Эти клетки проявляют в основном цитотоксические свойства, воздействуя на инфицированные, повреждённые или опухолевые клетки посредством высвобождения литических гранул или вызывая антитело-зависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) [2].

Секреция IFN- $\gamma$  активированными НК-клетками вызывает множество физиологических эффектов, имеющих особое значение при опухолевом процессе, поскольку IFN- $\gamma$  ингибирует опухолевый ангиогенез, проявляет антиметастатическую активность и вызывает апоптоз [3]. Способность опухолевых клеток ингибировать иммунный ответ является основной предпосылкой образования и прогрессирования опухолевых новообразований. Постепенно опухоли претерпевают генетические, эпигенетические и фенотипические изменения, тем самым становясь гетерогенной клеточной популяцией, которую иммунные клетки почти не замечают или не могут атаковать из-за снижения секреции опухолевых антигенов и лигандов для рецепторов натуральной цитотоксичности (NCR, natural cytotoxicity receptors) [4]. Кроме того, злокачественные клетки подавляют натуральные киллеры, блокируя рецептор NKG2D [4] или активируя ингибирующие молекулы главного комплекса гистосовместимости I класса (MHC I, major histocompatibility complex class I) [5]. Поэтому *ex vivo* модуляция экспрессии рецепторов НК-клеток является важным инструментом для преодоления ингибирования иммунного ответа. При определённых условиях культивирования (использование активаторов, интерлейкинов и фидерных клеток) можно добиться повышения цитотоксичности НК-клеток [6].

Натуральные киллеры могут играть важную роль в клеточной иммунотерапии онкологических заболеваний, и адаптивный перенос активированных НК-клеток

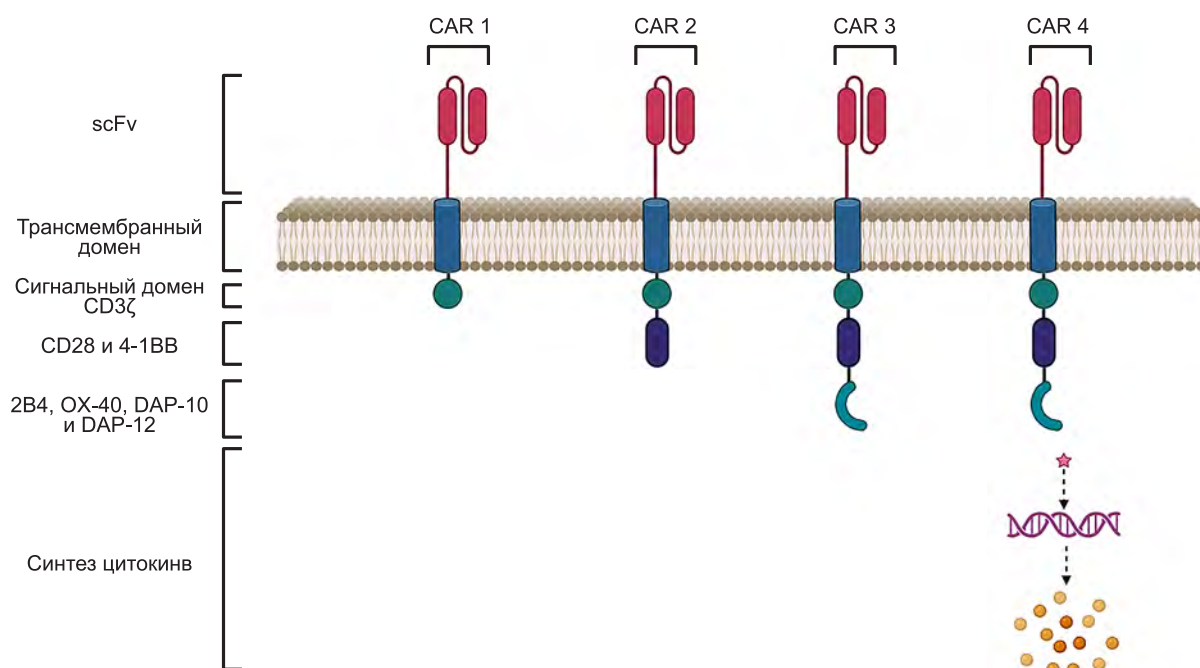
представляет собой перспективный подход для лечения онкологических больных [7]. Существует множество методик для размножения и активации НК-клеток *ex vivo*, которые включают использование различных активаторов размножения, комбинаций интерлейкинов для культивирования, а также стимуляцию фидерными клетками. Для повышения противоопухолевого потенциала НК-клеток также применяют генетическую модификацию этих клеток химерным рецептором антигена (CAR, chimeric antigen receptor), что лежит в основе CAR НК-терапии при онкологических заболеваниях [8].

## РАЗДЕЛ 2. ПРЕИМУЩЕСТВА ВЫБОРА НК-КЛЕТОК ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ CAR-ТЕРАПИИ

CAR-терапия – это иммунотерапевтический подход для лечения онкологических заболеваний, основанный на экспрессии на поверхности иммунной клетки специфического генно-модифицированного рецептора к опухолевому антигену, что позволяет иммунной системе лучше распознавать и уничтожать опухолевые клетки [9]. Связывание антигена CAR-лимфоцитами или получение активационного сигнала от группы активирующих рецепторов приводит к передаче сигнала, который вызывает активацию клеток, высвобождение цитолитических ферментов, продукцию цитокинов, а также поддерживает выживаемость и пролиферацию этих лимфоцитов. CAR-терапия бывает двух видов: CAR T-терапия и CAR НК-терапия, для которых используются T-клетки или НК-клетки соответственно. На данный момент большее распространение и развитие получила CAR T-терапия, так как данные клетки проходят через стадию клональной экспансии, их можно получить от донора в большом количестве и они легче поддаются генетическим модификациям, чем натуральные киллеры.

В отличие от T-клеточной иммунотерапии, противоопухолевый ответ НК-клеток основан на антиген-независимом распознавании [10], а генетические манипуляции с НК-клетками улучшают их цитотоксичность, способность к распознаванию опухолевых клеток и жизнеспособность в опухолевом микроокружении [11]. CAR-рецептор имеет три части: внеклеточную область, состоящую из одноцепочечного вариабельного фрагмента антитела (scFv, single-chain variable fragment), который связывается с опухолеспецифическим антигеном, а также из трансмембранного и внутриклеточного доменов [8].

CAR-конструкции первого поколения состояли из scFv и в качестве сигнального домена имели цепь CD3 $\zeta$ . CAR-конструкции второго поколения дополнили CD28 или комбинация CD28 и сигнальной молекулы 4-1BB. Позже в третьем поколении T-лимфоциты были оснащены такими специфическими сигнальными эндодоменами, как 2B4, OX-40, DAP10 и DAP-12 [12]. CAR-клетки четвёртого поколения дополнительно экспрессируют различные интерлейкины и хемокины, которые способны повысить эффективность и безопасность проводимой терапии [13] (рис. 1).



**РИС. 1.**  
CAR-конструкции разных поколений

**FIG. 1.**  
Different generations of CAR constructions

Разработка CAR T-технологии произвела революцию в области лечения рака. Однако созданный в настоящее время клеточный продукт имеет ряд недостатков для его широкого применения, включая высокую стоимость, ориентированное на отдельно взятого пациента производство, непредсказуемость в функционировании клеток *in vivo*, а также тяжёлые побочные эффекты. Использование НК-клеток для лечения опухолей имеет потенциал для решения некоторых из этих проблем.

CAR-трансдуцированные НК-клетки обладают преимуществами относительно CAR-T-клеток при таргетной иммунотерапии. Во-первых, при введении пациентам НК-клеток не требуется подбора донора и реципиента на совместимость по главному лейкоцитарному антигену человека (HLA, human leukocyte antigen). Кроме того, введение НК-клеток хорошо переносится пациентами, не провоцирует развитие реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [14]. Следовательно, в отличие от CART-терапии, при которой используют главным образом аутологичные клетки, при CAR НК-терапии возможно использование аллогенных клеток, что крайне важно при лечении онкологических пациентов, у которых на фоне лучевой терапии и химиотерапии наблюдается снижение функций иммунной системы. Во-вторых, CAR НК-клетки не вызывают тяжёлых токсических реакций: активированные НК-клетки выделяют «безопасные» цитокины, такие как IFN- $\gamma$  и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, в то время как CAR T-клетки в основном секретируют провоспалительные цитокины (TNF- $\alpha$ , ИЛ-1 и ИЛ-6), которые вызывают синдром высвобождения цитокинов (СВЦ) [15]. Кроме того, натуральные киллеры являются короткоживущей популяцией лимфоцитов, поэтому при их доставке непосредственно в область опухоли внеопухолевые побочные реакции возникают редко [16]. Од-

нако при системном введении в ряде случаев пациенту может потребоваться многократное введение CAR НК-клеток, что способно усилить появление побочных реакций и отторжения [16]. Хотя на сегодняшний день CAR-терапия не имеет широкого клинического применения, первые клинические испытания подтверждают безопасность CAR НК-клеток: у испытуемых не наблюдается СВЦ, нейротоксичности и развития РТПХ [17, 18].

### РАЗДЕЛ 3. ТЕКУЩИЕ ОГРАНИЧЕНИЯ CAR НК-ТЕХНОЛОГИИ

Одним из ключевых недостатков адоптивных НК-клеток является отсутствие выживаемости *in vivo* инфузионных клеток без дополнительного введения цитокинов. Несмотря на относительную безопасность цитокинов, они способны снизить эффективность иммунотерапии. Экзогенные цитокины увеличивают пролиферацию и сроки жизни введённых в организм НК-клеток, однако они также могут вызывать нежелательные побочные эффекты, в том числе рост ингибирующих иммунных субпопуляций, например Т-регуляторных клеток (Treg) [19]. Выходом из данной ситуации является генетическая модификация НК-клеток трансгенами, кодирующими цитокины, которые экспрессируются на мембранах или конститутивно секретируются. Такая модификация лежит в основе CAR-конструкций четвёртого поколения. В одном из исследований, проведённом на мышах с опухолями, НК-клетки трансдуцировали ретровирусными векторами, несущими гены ИЛ-2 и ИЛ-15; у данных клеток наблюдалось повышение пролиферации и выживаемости [20]. Было показано, что интеграция трансгена ИЛ-15

в CAR-конструкцию улучшала пролиферацию НК-клеток, персистенцию *in vivo* и противоопухолевую активность у пациентов с лимфоидными злокачественными образованиями высокого риска, при этом не наблюдалось повышения системной концентрации ИЛ-15 или токсичности [21]. Другим способом поддержания НК-клеток *in vivo* является создание фенотипа, похожего на НК-клетки памяти: под действием кратковременной активации ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-18 НК-клетки способны дифференцироваться в цитокин-индуцированные натуральные киллеры, сходные с НК-клетками памяти [22]. Такие клетки после модификации анти-CD19 CAR-рецептором показывают высокую активность как *in vitro*, так и *in vivo* против резистентной к НК-клеткам В-клеточной лимфомы [23].

Миграция клеток к опухоли после адоптивного переноса имеет важное значение для проводимой терапии и зависит от сложных взаимодействий между хемокинами, выделяющимися НК-клетками и опухолевыми клетками [24]. Миграция инфузионных НК-клеток в область опухоли не всегда оказывается завершённой, поэтому возникает потребность в улучшении этого процесса. По данным литературы, миграцию НК-клеток усиливают хемокиновый рецептор CCR7, перенесенный посредством трофоцитаза, и гиперэкспрессия CXCR1, CXCR2, CXCR3 и CXCR4 [8].

Ещё одним препятствием для успешной CAR НК-клеточной терапии является опухолевое микроокружение, которое представляет собой гипоксическую среду с отсутствием питательных веществ и низким значением pH и характеризуется наличием иммуносупрессивных клеток и различных веществ [25]. Негативно влияют на функционирование НК-клеток такие вещества, как трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ , transforming growth factor  $\beta$ ), аденозин, индоламин 2,3-диоксигеназа, простагландин E2 (PGE2), противовоспалительные цитокины и метаболиты, а также Tregs, супрессорные клетки миелоидного происхождения, опухоль-ассоциированные макрофаги, тромбоциты, фибробласты [26]. В настоящее время разрабатываются подходы к созданию устойчивости НК-клеток к TGF- $\beta$  без потери у них литической функции и способности к пролиферации [26]. Блокировка высокоаффинного A2A-рецептора к аденозину, который является важным метаболитом в реакциях иммуносупрессии и выделяется из аденозинтрифосфата при гипоксии и клеточном стрессе, приводит к усилению противоопухолевой активности на мышиных моделях рака молочной железы, меланомы и фибросаркомы [27].

Другим важным иммуноингибирующим механизмом является опухолевая активация молекул иммунных контрольных точек [8]. Поэтому иным подходом к подавлению опухолевого микроокружения является дополнительное редактирование генома CAR НК-клеток с целью устранения таких контрольных точек, как, например, TIGIT, NKG2A, CIS, а также PD-1 и CTLA4 [8]. Описанные в литературе генно-инженерные подходы и технологии для редактирования генома, возможно, помогут преодолеть препятствия на пути CAR НК-иммунотерапии. Если разработанные подходы позволят улучшить персистенцию НК-клеток, их миграцию и эффекторную функцию, то адоптивная НК-клеточная терапия может преобразоваться из метода безопасного ле-

чения с умеренной или низкой эффективностью в главное оружие в борьбе с онкологическими заболеваниями.

Хотя в данном обзоре не рассматриваются генно-инженерные методы получения CAR НК-клеток, необходимо упомянуть ещё один недостаток CAR-терапии – низкую эффективность трансдукции натуральных киллеров. Для трансдукции как Т-лимфоцитов, так и НК-клеток применяются ретровирусные и лентивирусные векторы, а также методики спинокуляции и электропорации. Ретровирусная трансдукция оказывает цитотоксическое воздействие на первичную культуру лимфоцитов, а также способна вызывать инсерционный мутагенез, в то время как трансдукция на основе лентивирусов является более безопасной ввиду меньшего риска инсерционного мутагенеза [28]. Поэтому самым распространённым подходом к модификации и доставке генов в иммунные клетки является система трансдукции с использованием лентивирусов.

Ввиду большого количества рецепторов врождённого иммунитета лентивирусная трансдукция НК-клеток малоэффективна, поэтому для улучшения трансдукции используются различные химические вещества. Например, электрический заряд на клеточной мембране можно нейтрализовать с помощью протамин сульфата или полимеров, например декстрана или полибрена [29]. Циклоспорин А и рапамицин способны ингибировать лентивирусные рестрикционные барьеры в гематопоэтических стволовых клетках и клетках-предшественниках, а вектофузин-1, PGE2, розувастатин и декстран повышают скорость трансдукции в НК-клетках [8]. Повышение эффективности трансдукции возможно также при использовании псевдотипированного лентивирусного вектора с гликопротеином бабуиновой оболочки (BaEV-LV, baboon envelope pseudotyped lentiviral vectors), имеющего эффективность трансдукции в 20 раз большую, чем у G-белка вируса везикулярного стоматита (VSVG, vesicular stomatitis virus G) [28].

#### РАЗДЕЛ 4. АУТОЛОГИЧНЫЕ ИЛИ АЛЛОГЕННЫЕ ИСТОЧНИКИ ПОЛУЧЕНИЯ НК-КЛЕТОК

При CAR Т-иммунотерапии применение аллогенных лимфоцитов затруднено, поэтому большинство биомедицинских клеточных продуктов на основе Т-клеток представляют собой аутологичный препарат или, в случае использования аллогенных источников, требуют дополнительных генетических модификаций [30]. Использование аутологичных лимфоцитов в качестве источника клеток для их активации и генетической модификации как при CART-терапии, так и при CAR НК-терапии имеет ряд ограничений: естественная анергия иммунной системы пациента в отношении опухоли; угнетение функций иммунной системы вследствие химиотерапии или лучевой терапии; длительное время, необходимое для создания препарата. Перечисленные препятствия существенно снижают эффективность получаемого препарата вне зависимости от способа культивирования и генетической модификации.

Альтернативным подходом является использование аллогенных популяций, причём для CAR НК-терапии не тре-

буется тщательного подбора донора, что позволяет проводить терапию с использованием лимфоцитов, полученных от неродственных здоровых доноров [30]. Применение аллогенных препаратов также включает конечный этап заморозки полученной популяции лимфоцитов, что позволяет начинать иммунотерапию как можно раньше [31].

Также необходимо учитывать источник, откуда была получена популяция натуральных киллеров. Источниками НК-клеток могут быть мононуклеарные клетки периферической крови (МНК), пуповинная кровь, эмбриональные стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и линии НК-клеток [32].

В большинстве исследований источником для создания CAR НК-клеток является периферическая кровь [33]. МНК можно собрать в большом количестве с помощью афереза; в настоящее время это предпочтительный источник для аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК). Аферез проводится после проведения определённых медицинских мероприятий, направленных на увеличение количества циркулирующих клеток-предшественников и стволовых клеток (оценку проводят по количеству CD34<sup>+</sup> циркулирующих клеток) [32]. CD34<sup>+</sup> в данном случае могут выступать в роли клеток-предшественников натуральных киллеров. При проведении афереза без предварительного обогащения количество НК-клеток варьирует от 5 до 15 %.

На сегодняшний день костный мозг используется в качестве источника стволовых клеток в редких случаях, отчасти из-за трудностей забора и транспортировки относительно процедуры афереза. Поэтому в литературе представлено недостаточно данных о получении НК-клеток из костного мозга [32].

Первые клинические испытания использования пуповинной крови в качестве источника стволовых клеток появились более 30 лет назад, что в то время вызвало большой интерес у исследователей [33]. Пуповинную кровь можно использовать при неполном соответствии донор-реципиент, подбирая таким образом донора даже для тех пациентов, у которых не было HLA-совместимых родственных или неродственных доноров. Использование пуповинной крови в настоящее время активно конкурирует с быстро развивающейся областью родственной гаплоидентичной трансплантации. По официальным данным, в государственных банках пуповинной крови по всему миру хранится более 600 000 единиц пуповинной крови, однако фактически эта цифра гораздо выше, если принимать во внимание количество частных банков. Данная совокупность представляет собой уникальный источник человеческого материала для начала производственного процесса препаратов для иммунотерапии. В ряде исследований сообщается о получении значительного количества функциональных НК-клеток как из полной единицы пуповинной крови, так и из небольшого образца [34], что может служить основой для производства аллогенных CAR НК-лимфоцитов.

Получение НК-клеток из эмбриональных или индуцированных плюрипотентных стволовых (иПС) клеток в настоящее время является крайне затруднительным. На плюрипотентность и способность к дифференцировке

репрограммированных иПС клеток влияют такие факторы, как выбор типа донорских соматических клеток-мишеней, методика генетических модификаций, а также метод, используемый для доставки факторов транскрипции в соматические клетки [35]. Получение НК-клеток с характерным рецепторным профилем и способностью к лизису клеток-мишеней возможно из эмбриональных клеток при 30-дневном культивировании отсортированных CD34<sup>+</sup>-клеток в присутствии фидеров и различных цитокинов [35]. В литературе также описан и другой метод экспансии натуральных киллеров из эмбриональной крови или иПС клеток [35].

При размножении первичных культур НК-клеток *ex vivo* они сохраняют жизнеспособность после адоптивного переноса в течение короткого промежутка времени. Для того чтобы увеличить жизнеспособность клеток, можно использовать клеточные линии натуральных киллеров, которые, кроме того, представляют собой более гомогенную популяцию, чем НК-клетки периферической крови. Наиболее изученной и подходящей для данных целей является клеточная линия NK-92 (NantKWest Inc., Калвер-Сити, Калифорния, США). Она обладает высокой цитотоксичностью и способностью к экспансивному росту [36]. Данную клеточную культуру также оценивали в доклинических исследованиях и клинических испытаниях (NCT00900809 и NCT00990717), однако NK-92 не обладала высокой эффективностью при лечении пациентов [37]. Внедрение CAR-рецептора на поверхность клеток NK-92 может повысить противоопухолевый потенциал данных клеток [38]. Однако данным клеткам требуется дополнительная трансфекция CD16-рецептора для появления АЗКЦ, что усложняет работу с указанной клеточной линией. Необходимо помнить, что по соображениям безопасности клеточная линия перед инфузией пациенту обязательно должна проходить этап облучения. Бесконтрольное деление клеточной культуры в организме пациента при сопутствующем наличии у него онкологического заболевания может быть серьёзным осложнением проводимой терапии.

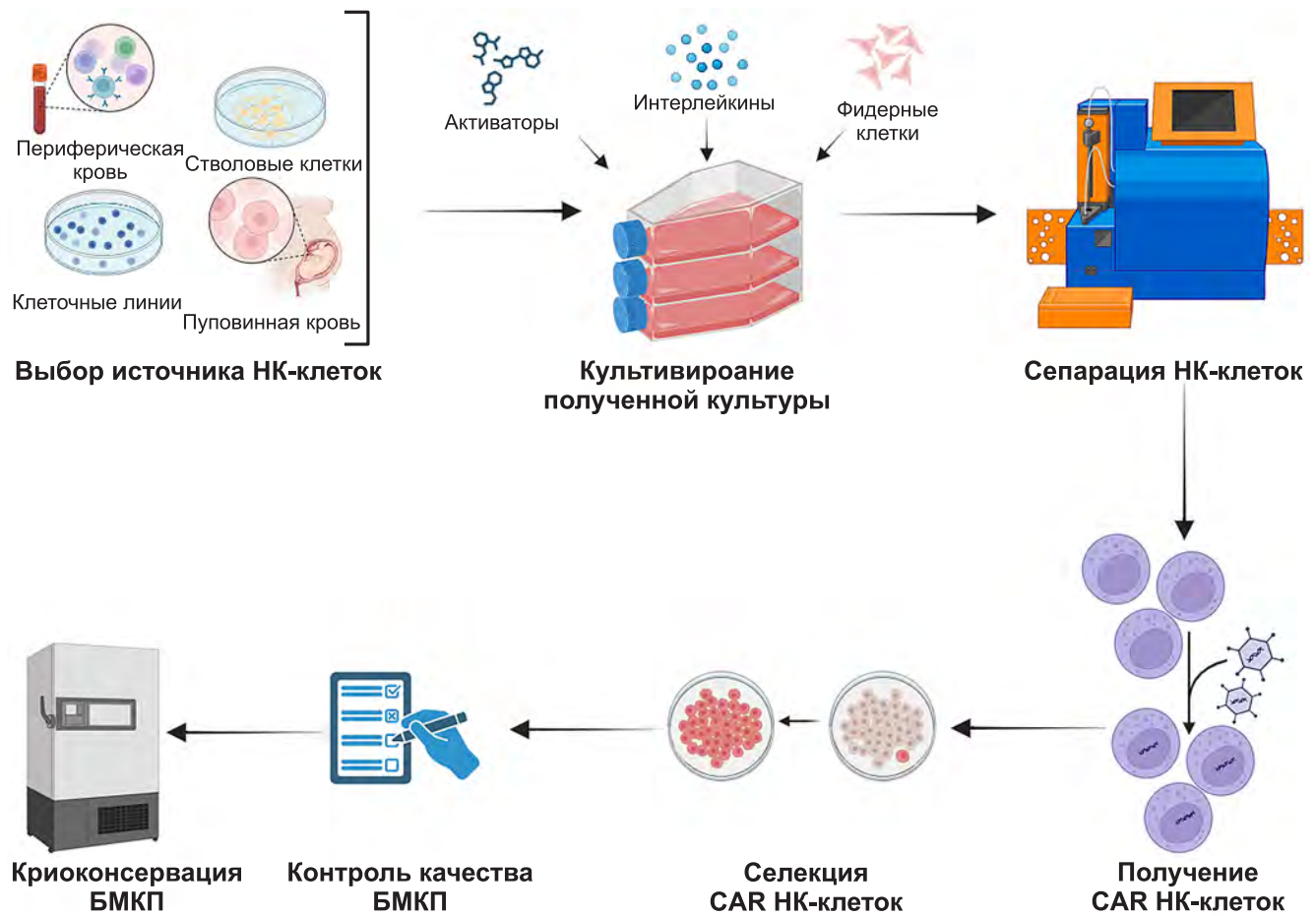
## РАЗДЕЛ 5. УСЛОВИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НК-КЛЕТОК

Основная цель культивирования НК-клеток *ex vivo* – это получение обогащённой популяции с высокой экспрессией активационных маркеров, высокой цитотоксической активностью и способностью к экспансии. При взятии любым из вышеописанных способов натуральных киллеров от пациента невозможно сразу получить популяцию исключительно НК-клеток, так как в организме человека изолированно она не существует. Обогащение натуральных киллеров, то есть получение гомогенной культуры, состоящей преимущественно из НК-клеток, возможно либо с помощью разделения клеточных популяций на клеточном сортере или путём магнитной сепарации, либо при длительном культивировании под воздействием определённых условий. Как обогащение в культуре, так и разделение популяций требуют одних и тех же этапов культивирования с добавлением различных стимуляторов и интерлейкинов.

Сепарацию CD3<sup>-</sup>/CD56<sup>+</sup>-клеток можно проводить либо сразу после забора материала, либо на финальном этапе культивирования [33]. Отложенная сепарация представляется более предпочтительной, так как на выживаемость и пролиферацию популяции НК-клеток влияет их микроокружение: другие фракции клеток секретируют дополнительные пролиферативные факторы, однако нельзя исключить и взаимного ингибирования между популяциями. Например, CD14<sup>+</sup>-лимфоциты усиливают пролиферацию НК-клеток *ex vivo* за счёт прямого клеточного контакта и секреции растворимых факторов [39]. Однако данный вариант требует большего количества реагентов для культивирования, так как необходимо поддерживать все присутствующие популяции лимфоцитов. Кроме значительного преимущества по обогащению популяции натуральных киллеров метод магнитной сепарации имеет несколько важных недостатков: как правило, проведение магнитной сепарации существенно снижает жизнеспособность полученной клеточной популяции, а также требует использования дорогих реагентов. Тем не менее, при культивировании НК-клеток из МНК без сепарации отмечается экстенсивная совместная экспансия нежелательных CD3<sup>+</sup>/CD56<sup>-</sup> Т-клеток и CD3<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup> НК-подобных Т-клеток (НКТ-клеток), составляющих большую часть клеток в конечном клеточном продукте.

В среднем для культивирования НК-клеток требуется от 7 до 21 дня. Помимо специфической ростовой среды, подбираемой исходя из источника НК-клеток, при культивировании также используются пулированная человеческая плазма, человеческая сыворотка или фетальная бычья сыворотка, хотя и существует тенденция к подбору бессывороточных сред. На конечном этапе культивирования НК-клеток предлагается проводить криоконсервацию с целью получения стабильного препарата для клеточной терапии с такими заданными характеристиками, как количество клеток в препарате, их цитолитическая активность, пролиферативный потенциал, отсутствие пирогенных и токсических веществ, солей тяжёлых металлов, а также микробной контаминации.

Кроме того, для культивирования и генетических манипуляций над НК-клетками необходимо присутствие активаторов, интерлейкинов и фидерных клеток. В литературе также описаны различные физические условия и длительность культивирования, однако не существует работы, объединяющей и сравнивающей между собой эффективность различных подходов к культивированию и обогащению НК-клеток. На рисунке 2 схематично представлена одна из методик получения CAR НК-клеток для лечения онкологических заболеваний.



**РИС. 2.**  
Основные этапы производства биомедицинского клеточного продукта на основе CAR НК-клеток

**FIG. 2.**  
Main stages of manufacturing biomedical cell product based on CAR NK cells

### Интерлейкины

Добавление в питательную среду интерлейкинов является наиболее простым в использовании методом активации и экспансии НК-клеток. ИЛ-2 играет важную роль в активации НК-клеток посредством связывания с рецептором ИЛ-2, который экспрессируется на НК-клетках. Поэтому ИЛ-2 с успехом используется для *ex vivo* размножения аллогенных донорских НК-клеток для адоптивной иммунотерапии [40]. Стимуляция НК-клеток *ex vivo* с помощью ИЛ-2 вызывает повышенную секрецию цитокинов, усиливает внутриклеточную передачу сигналов STAT3/АКТ и активирует различные NCR и NKG2D-рецептор [40]. ИЛ-2-активированные НК-клетки проявляют гораздо более высокую цитотоксическую активность в отношении культуры-мишени K562 по сравнению с нестимулированными НК-клетками [40]. Кроме того, после криоконсервации стимулированные ИЛ-2 НК-клетки имеют умеренную или высокую жизнеспособность при повторной активации данным цитокином, в то время как жизнеспособность нестимулированных ранее НК-клеток является низкой [41]. В различных клинических исследованиях были продемонстрированы безопасность и возможность использования ИЛ-2-активированных и размноженных НК-клеток для адоптивной иммунотерапии [42].

Для культивирования НК-клеток также важен ИЛ-15, который ингибирует индуцированную активацией гибель клеток и таким образом обеспечивает выживание натуральных киллеров [43]. Также ИЛ-15 повышает противоопухолевую активность НК-клеток посредством передачи сигналов через мишень рапамицина у млекопитающих (TOR, target of rapamycin) и посредством стресс-индуцированной экспрессии генов [44]. Однако при культивировании в присутствии ИЛ-15 необходимо подбирать оптимальную дозировку и кратность добавления данного цитокина, поскольку ИЛ-15-опосредованная передача сигналов может вызывать функциональное истощение НК-клеток за счёт снижения окисления жирных кислот, что приводит к снижению цитотоксичности как *in vitro*, так и *in vivo* [45].

В некоторых методиках экспансии НК-клеток в сочетании с ИЛ-2 или ИЛ-15 используется ИЛ-21 [46]. ИЛ-21 участвует в развитии НК-клеток из предшественников костного мозга и обеспечивает функциональное созревание данных клеток [46]. Было показано, что при туберкулёзе экспансия НК-клеток памяти зависит от ИЛ-21 [47]. При ВИЧ-инфекции были получены противоречивые данные: одна группа исследователей заявила о повышенной пролиферации CD56<sup>bright</sup>-популяции в присутствии ИЛ-21 [48], в то время как в других исследованиях влияние ИЛ-21 на пролиферацию НК-клеток не было установлено [49]. Также ИЛ-21 приводит к сокращению продолжительности жизни НК-клеток *in vitro* [50], поэтому, как и при использовании ИЛ-15, необходимо подбирать оптимальную дозировку ИЛ-21 при культивировании натуральных киллеров. Помимо воздействия на пролиферацию, ИЛ-21 усиливает эффекторные функции НК-клеток, включая секрецию цитокинов и прямую и непрямую цитотоксичность [51]. По результатам клинического исследования, НК-клетки, культивируемые с ИЛ-21 и ИЛ-15 без фидерных клеток, имели слабую пролиферативную активность, однако обладали высокой цито-

токсической активностью в отношении первичных лейкозов, их введение хорошо переносилось пациентами и коррелировало со снижением прогрессирования лейкемии по сравнению с историческим контролем [46].

ИЛ-12 является стимулятором НК-клеток, вызывая пролиферацию, повышенную цитотоксичность и секрецию IFN- $\gamma$  НК-клетками. ИЛ-12-опосредованная секреция НК-клетками IFN- $\gamma$  происходит при праймировании с ИЛ-18, который, как известно, усиливает ИЛ-15-индуцированную пролиферацию НК-клеток [52]. Так как интерлейкины обладают синергизмом, то кажется разумным комбинировать различные цитокины для *ex vivo* стимуляции НК-клеток. Поэтому комбинирование ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-18 вызывает особый интерес, так как это приводит к появлению т. н. «цитокин-индуцированных НК-клеток памяти» (CIML, cytokine-induced memory-like NK cells), которые проявляют повышенную способность продуцировать IFN- $\gamma$  при повторной стимуляции [53]. Адоптивный перенос CIML обладает существенной противоопухолевой активностью *in vivo* против меланомы или лимфомы [54]. Комбинация ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-18 также приводит к повышению чувствительности CIML к низкой концентрации ИЛ-2 *in vitro* и *in vivo* [55].

### Фидерные клетки

Большинство протоколов используют только стимуляцию цитокинами, однако это приводит к ограниченной экспансии НК-клеток. Использование фидерных клеток обеспечивает проведение дополнительных стимулирующих сигналов, так как они активируют межклеточное взаимодействие натуральных киллеров с моноцитами, в то время как цитокины представляют собой гуморальные факторы, воздействующие только на рецепторы к цитокинам. Следует отметить, что термин «фидерные клетки» применим для всех инактивированных клеток, которые добавляются к культуре, в то время как сокультивируемые не-НК-клетки, которые не подвергались инактивации, обозначаются как «вспомогательные клетки».

В качестве фидерных клеток используются или МНК (либо аутологичные, либо аллогенные) [56], или такие клеточные линии, как EBV-TM-LCL (В-клеточная лимфобластома, трансформированная вирусом Эпштейна – Барр), K562 (хроническая миелогенная лейкемия) с различными генетическими модификациями [57], U937 (промоноцитная лейкемия), СЕМ (Т-лимфобластная лейкемия), а также Jurkat (Т-лимфобластная лейкемия) [58].

При использовании фидерных клеток из МНК необходимо их облучение, чтобы избежать их размножения и снижения процентного соотношения НК-клеток в полученном БМКП. Помимо инактивации роста, облучение может вызывать активацию на МНК стресс-регулируемых поверхностных молекул, например ULBP1-3, которые дополнительно активируют НК-клетки [59]. Причём большим потенциалом обладают аутологичные МНК, которые до облучения подвергались активации ИЛ-2, ОКТ3 и Ретронектином [60]. Как показывают исследования, количество отдельных KIR<sup>+</sup> НК-клеток может увеличиваться в 160–390 раз за 19 дней при культивировании с ИЛ-2, ИЛ-15, ОКТ3 и облучёнными аутологичными МНК [61].

Использование аллогенных МНК может оказаться эффективным методом стимуляции НК-клеток [62],

особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом или транзиторным иммунодефицитом. Использование аллогенных МНК также упрощает разработку CAR НК-продукта для масштабного клинического применения, поставленного «на поток», поскольку активацию и криоконсервацию аллогенных фидеров можно проводить задолго до начала культивирования НК-клеток.

К другим подходам к стимуляции НК-клеток относится использование клеточных линий, обладающих определёнными преимуществами относительно первичных культур МНК: неприхотливость в питательных средах, простота культивирования, способность к неограниченному делению. Ещё одним достоинством клеточных линий является то, что их относительно легко генетически модифицировать с целью интеграции дополнительных факторов для пролиферации НК-клеток. Среди модифицированных клеток для стимуляции натуральных киллеров используется, например, культура K562, экспрессирующая мембраносвязанный ИЛ-15 и 41BBL (K562-mb15-41BBL) [63]. Неизменная культура K562 вызывает слабую пролиферацию НК-клеток (2,5-кратное увеличение за одну неделю), а с K562-mb15-41BBL количество НК-клеток может значительно увеличиться в 20 раз за одну неделю (или в 1000 раз за три недели) [63]. Кроме того, при стимуляции НК-клеток при помощи K562-mb15-41BBL они обладают значительным пролиферативным потенциалом *ex vivo* [63]. НК-клетки, культивируемые в присутствии K562-mb15-41BBL, проявляют повышенную прямую и непрямую цитотоксичность против нескольких аллогенных и аутологичных опухолей *in vitro*, а также способны бороться с опухолью у мышей [64]. Встраивание в мембрану клеток K562 ИЛ-21 вместо ИЛ-15 является ещё более эффективным методом экспансии натуральных киллеров, а еженедельная рестимуляция клеточной линией K562, экспрессирующей мембраносвязанный ИЛ-21 и 41BBL, обеспечивает устойчивую пролиферацию НК-клеток в течение нескольких недель [65]. При подобном сокультивировании у натуральных киллеров наблюдается увеличение длины теломера и усиление активации сигнального пути STAT-3, что объясняет положительный эффект данной культуры на размножение НК-клеток в течение длительного времени [65].

Стимулирующий эффект культуры EBV-LCL на пролиферацию НК-клеток был обнаружен более 40 лет назад [66]; в настоящее время исследуется возможность их применения для активации аутологичных клеток с последующим адоптивным переносом [67]. Согласно данным литературы, самым эффективным протоколом по экспансии НК-клеток с использованием фидерных клеток является стимуляция культурой SMI-LCL, культивирование в присутствии ИЛ-2 и добавление ИЛ-21 только в начале культивирования. При соблюдении этих условий наблюдается 1011-кратное увеличение количества НК-клеток [68]. Полученные таким образом НК-клетки обладают высокой цитотоксичностью *in vitro* и повышенной секрецией IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  и эффективно воздействуют на меланому на модели мышинного ксенотрансплантата [68].

Несмотря на эффективность применение фидерных клеток на доклиническом уровне, использование их при изготовлении БМКП вызывает некоторые затруднения, по-

скольку наличие остаточных фидерных клеток в конечном продукте представляет серьёзную проблему для клинического применения [69]. Также работа с фидерными клетками, особенно с аутологичными, обязательно должна включать регулярное тестирование на наличие вирусов, бактериальной и микоплазменной контаминации [70]. Поэтому в целях повышения безопасности и снижения трудоёмкости альтернативой фидерным клеткам могут служить клеточные лизаты, содержащие стимулирующие НК-клетки факторы. Было показано, что кратковременное культивирование НК-клеток с лизатом клеточной линии CTV-1 вызывает лизис клеток, устойчивых к неактивированным НК-клеткам [71]. Стимулирующий эффект CTV-1 на НК-клетки не зависит от KIR и не требует добавления ИЛ-2 или ИЛ-15, делая данный протокол по активации НК-клеток уникальным [72].

Вместо использования фидерных клеток или их лизатов также представляется возможным добавление в супернатант только определённых белков фидерных клеток, которые оказывают необходимое воздействие на натуральные киллеры. Например, НК-клетки можно размножить *ex vivo* с помощью добавления ИЛ-2 и частей плазматической мембраны, приготовленных из культуры K562-mb15-41BBL. При этом скорость размножения сравнима со скоростью деления НК-клеток, которые стимулировались интактными фидерными клетками, и намного превышает скорость размножения при использовании растворимых ИЛ-15, 41BBL и ИЛ-2 [73].

#### Активаторы

Кроме фидерных клеток, их лизатов и белков, а также различных цитокинов влиять на активацию и экспансию НК-клеток могут активаторы – растворимые вещества, способные связываться с определёнными рецепторами на поверхности натуральных киллеров и активировать их. ОКТЗ представляет собой моноклональное антитело к CD3-рецептору, которое используется для активации Т-клеток *in vitro* во многих методиках [74]. Стимуляция МНК ОКТЗ в присутствии ИЛ-2 приводит к секреции цитокинов, что влияет на экспансию НК-клеток [75]. Также Т-клетки способны влиять на пролиферацию НК-клеток после активации конканавалином А [76]. MICA, родственник МНС I белок, является лигандом для NKG2D-рецептора. Культивирование в присутствии MICA, ИЛ-15 и s4-1BBL приводит к экспансии НК-клеток и повышению у них противопухоловой активности в отношении клеток лейкемии [77]. Другие, более ранние, исследования показывают, что на активацию и пролиферацию натуральных киллеров положительно влияет липополисахарид [78], а фитогемагглютинин способен стимулировать НК-клетки даже сильнее, чем ОКТЗ [79].

## РАЗДЕЛ 6. ПОЛУЧЕНИЕ БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА НА ОСНОВЕ НК-КЛЕТОК

Поскольку CAR НК-клетки представляют собой БМКП, необходимо упомянуть о некоторых регуляторных аспектах. В клинических испытаниях доза НК-клеток при инфузии составляет в среднем от 5 до 50 × 10<sup>6</sup> клеток/кг [25]. Исхо-

дя из процентного содержания НК-клеток в исходных материалах, необходимо проводить массивную экспансию *in vitro* данных клеток, используя самые эффективные методики и реагенты. При проведении селекции и при культивировании без фидерных клеток прирост количества НК-клеток является небольшим [8]. Поэтому используемые методики по культивированию НК-клеток должны включать фидерные клетки, особенно аутологичные облученные МНК, так как это является самым безопасным вариантом.

Кроме того, необходимо создание критериев оценки эффективности различных протоколов по созданию CAR НК-продуктов. Такие критерии позволят сравнивать полученные по разным методикам CAR НК-клетки на предмет чистоты популяции НК-клеток, жизнеспособности клеток-мишеней, вирусной и бактериальной контаминации, стерильности и безопасности препарата [32]. Более сложное тестирование может включать дополнительную информацию, например, об уменьшении длины теломера, что указывает на старение клеток вследствие интенсивного клеточного деления в процессе культивирования [32]. Оценка фенотипического профиля и цитотоксической активности также помогла бы выявить наиболее эффективные БМКП, однако необходимо согласовать критерии оценки и определения панели фенотипических и функциональных биомаркеров.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, производство полноценного биомедицинского клеточного продукта на основе CAR НК-клеток представляет собой длительный и трудоёмкий процесс, включающий разработку как протокола для экспансии и активации натуральных киллеров, так и инструментов масштабирования и контроля качества полноценного производственного процесса. Создание БМКП начинается с выбора источника НК-клеток: это могут быть МНК периферической крови, стволовые клетки, пуповинная кровь или клеточные линии, причём каждый из названных источников обладает как достоинствами для использования, так и недостатками. При разработке CAR НК-клеток, в отличие от CAR T-клеток, требуется обязательный этап обогащения данной популяции, что затрудняет процесс производства БМКП. Обогащение популяции НК-клеток и получение чистого препарата без примесей клеток других популяций невозможно без использования методов сепарации или подбора оптимальных для пролиферации НК-клеток условий культивирования. К таким условиям относится использование активаторов, интерлейкинов или фидерных клеток. В качестве активаторов пролиферации НК-клеток можно использовать, например, антитела к CD3-рецептору, фитогемагглютинин или липополисахарид. Вероятно, экспансию НК-клеток способны усиливать и другие соединения, которые на данный момент изучены плохо или, в данном контексте, не изучены вовсе. Среди интерлейкинов, активирующих у НК-клеток эффекторные функции, а также процессы деления и созревания, наиболее предпочтительными являются ИЛ-2, ИЛ-15, ИЛ-21, а также комбинация из ИЛ-12, ИЛ-15

и ИЛ-18. При подборе концентрации и кратности использования цитокинов необходимо добиваться максимальной эффективности воздействия на НК-клетки без развития у них феномена истощённости. Альтернативным подходом для стимуляции НК-клеток является добавление облучённых аутологичных или аллогенных фидерных клеток, которые посредством межклеточного взаимодействия оказывают положительное влияние на натуральные киллеры. Многие подходы к культивированию НК-клеток включают использование интерлейкинов и фидерных клеток, в других протоколах дополнительно используют активаторы. Однако на данный момент не существует исследования, объединяющего и сравнивающего между собой эффективность различных подходов к культивированию НК-клеток. Для улучшения CAR НК-продукта этапы культивирования также должны быть направлены на повышение выживаемости натуральных киллеров их *in vivo* миграции в область опухоли, а также преодоление ингибирующего опухолевого микроокружения. Кроме того, непростой задачей представляется увеличение эффективности трансдукции, поскольку натуральные киллеры обладают мощным естественным противовирусным потенциалом. Тем не менее, ввиду важной клинической значимости использования в рамках CAR-терапии именно НК-клеток, а именно: отсутствия серьёзных побочных эффектов при введении CAR НК-клеток, их естественного противоопухолевого потенциала, а также возможности выбора аллогенных источников данной популяции иммунных клеток, автор данной статьи предполагает, что CAR НК-технология обладает существенными преимуществами относительно CAR T-иммунотерапии при лечении онкологических заболеваний. Дальнейшие усилия исследователей в данной области должны быть направлены на усовершенствование технологии получения активированных CAR НК-клеток как в лабораторных условиях, так и при крупномасштабном производстве. Кроме того, необходимо проведение ряда клинических испытаний. Ввиду новизны и недостаточности клинических исследований CAR НК-терапии её конечная эффективность *in vivo* и преимущества относительно CAR T-терапии на сегодняшний день являются открытой темой для обсуждения.

### Конфликт интересов

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

### Выражение признательности

Автор выражает благодарность коллективу лаборатории клеточного иммунитета Научно-исследовательского института экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России за помощь в написании данной работы.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Cianga VA, Campos Catafal L, Cianga P, Pavel Tanasa M, Cherry M, Collet P, et al. Natural killer cell subpopulations and inhib-

itory receptor dynamics in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Front Immunol.* 2021; 12: 665541. doi: 10.3389/fimmu.2021.665541

2. Грибкова И.В. CAR NK-клетки и возможность их использования для лечения гематологических новообразований. *Современная онкология.* 2022; 24(3): 331-335. [Gribkova IV. CAR NK-cells for the treatment of hematological malignancies: A review. *Journal of Modern Oncology.* 2022; 24(3): 331-335. (In Russ.)]. doi: 10.26442/18151434.2022.3.201699

3. Jorgovanovic D, Song M, Wang L, Zhang Y. Roles of IFN- $\gamma$  in tumor progression and regression: A review. *Biomark Res.* 2020; 8: 49. doi: 10.1186/s40364-020-00228-x

4. D'Silva SZ, Singh M, Pinto AS. NK cell defects: Implication in acute myeloid leukemia. *Front Immunol.* 2023; 14: 1112059. doi: 10.3389/fimmu.2023.1112059

5. Zhang L, Meng Y, Feng X, Han Z. CAR-NK cells for cancer immunotherapy: From bench to bedside. *Biomark Res.* 2022; 10(1): 12. doi: 10.1186/s40364-022-00364-6

6. Torelli GF, Rozera C, Santodonato L, Peragine N, D'Agostino G, Montefiore E, et al. A good manufacturing practice method to *ex vivo* expand natural killer cells for clinical use. *Blood Transfus.* 2015; 13: 464-471. doi: 10.2450/2015.0231-14

7. Yang YL, Yang F, Huang ZQ, Li YY, Shi HY, Sun Q, et al. T cells, NK cells, and tumor-associated macrophages in cancer immunotherapy and the current state of the art of drug delivery systems. *Front Immunol.* 2023; 14: 1199173. doi: 10.3389/fimmu.2023.1199173

8. Khawar MB, Sun H. CAR-NK cells: From natural basis to design for kill. *Front Immunol.* 2021; 12: 707542. doi: 10.3389/fimmu.2021.707542

9. Chohan KL, Siegler EL, Kenderian SS. CAR-T cell therapy: The efficacy and toxicity balance. *Curr Hematol Malig Rep.* 2023; 18(2): 9-18. doi: 10.1007/s11899-023-00687-7

10. Yu Y. The function of NK cells in tumor metastasis and NK cell-based immunotherapy. *Cancers (Basel).* 2023; 15(8): 2323. doi: 10.3390/cancers15082323

11. Carlsten M, Childs RW. Genetic manipulation of NK cells for cancer immunotherapy: Techniques and clinical implications. *Front Immunol.* 2015; 6: 266. doi: 10.3389/fimmu.2015.00266

12. Киселевский М.В., Чикилева И.О., Ситдикова С.М., Власенко Р.Я., Караулов А.В. Перспективы применения генетически модифицированных лимфоцитов с химерным Т-клеточным рецептором (CAR-T-клеток) для терапии солидных опухолей. *Иммунология.* 2019; 40(4): 48-55. [Kiselevsky MV, Chikileva IO, Sitdikova SM, Vlasenko RYa, Karaulov AV. Prospectives of application of the genetically modified lymphocytes with chimeric T-cell receptor (CAR-T-cells) for the therapy of solid tumors. *Immunologiya.* 2019; 40(4): 48-55. (In Russ.)]. doi: 10.24411/0206-4952-2019-14006

13. Duan D, Wang K, Wei C, Feng D, Liu Y, He Q, et al. The BCMA-targeted fourth-generation CAR-T cells secreting IL-7 and CCL19 for therapy of refractory/recurrent multiple myeloma. *Front Immunol.* 2021; 12: 609421. doi: 10.3389/fimmu.2021.609421

14. Кочнева Г.В., Сиволобова Г.Ф., Ткачева А.В., Горчаков А.А., Кулемзин С.В. Комбинированная терапия рака на основе онколитической виротерапии и таргетной CAR T/NK-клеточной иммунотерапии. *Молекулярная биология.* 2020; 54(1): 3-16. [Kochneva GV, Sivolobova GF, Tkacheva AV, Gorchakov AA, Kulemzin SV. Combined therapy of cancer on the basis of oncolytic virotherapy and targeted CAR T/NK-cell immunotherapy. *Molecular Biology.* 2020; 54(1): 3-16. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S0026898420010103

15. Fitzgerald JC, Weiss SL, Maude SL, Barrett DM, Lacey SF, Melnhorst JJ, et al. Cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Crit Care Med.* 2017; 45(2): e124-e131. doi: 10.1097/CCM.0000000000002053

16. Nazimuddin F, Finklestein JM, Gupta M, Kulikovskaya I, Ambrose DE, Gill S, et al. Long-term functional persistence, B cell aplasia and anti-leukemia efficacy in refractory B cell malignancies following T cell immunotherapy using CAR-redirectioned T cells targeting CD19. *Blood.* 2013; 122 (21): 163. doi: 10.1182/blood.V122.21.163.163

17. Liu E, Marin D, Banerjee P, Macapinlac HA, Thompson P, Basar R, et al. Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors. *N Engl J Med.* 2020; 382(6): 545-553. doi: 10.1056/NEJMoa1910607

18. Marin D, Li Y, Basar R, Rafei H, Daher M, Dou J, et al. Safety, efficacy and determinants of response of allogeneic CD19-specific CAR-NK cells in CD19<sup>+</sup> B cell tumors: A phase 1/2 trial. *Nat Med.* 2024; 30(3): 772-784. doi: 10.1038/s41591-023-02785-8

19. Pedroza-Pacheco I, Madrigal A, Saudemont A. Interaction between natural killer cells and regulatory T cells: Perspectives for immunotherapy. *Cell Mol Immunol.* 2013; 10(3): 222-229. doi: 10.1038/cmi.2013.2

20. Matosevic S. Viral and nonviral engineering of natural killer cells as emerging adoptive cancer immunotherapies. *J Immunol Res.* 2018; 2018: 678-689. doi: 10.1155/2018/4054815

21. Liu E, Tong Y, Dotti G, Shaim H, Savoldo B, Mukherjee M, et al. Cord blood NK cells engineered to express IL-15 and a CD19-targeted CAR show long-term persistence and potent antitumor activity. *Leukemia.* 2018; 32(2): 520-531. doi: 10.1038/leu.2017.226

22. Romee R, Schneider SE, Leong JW, Chase JM, Keppel CR, Sullivan RP, et al. Cytokine activation induces human memory-like NK cells. *Blood.* 2012; 120(24): 4751-4760. doi: 10.1182/blood-2012-04-419283

23. Romee R, Rosario M, Berrien-Elliott MM, Wagner JA, Jewell BA, Schappe T, et al. Cytokine-induced memory-like natural killer cells exhibit enhanced responses against myeloid leukemia. *Sci Transl Med.* 2016; 8(357): 357ra123-357ra123. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf2341

24. Castriconi R, Carrega P, Dondero A, Bellora F, Casu B, Regis S, et al. Molecular mechanisms directing migration and retention of natural killer cells in human tissues. *Front Immunol.* 2018; 9: 2324. doi: 10.3389/fimmu.2018.02324

25. Marofi F, Abdul-Rasheed OF, Rahman HS, Budi HS, Jalil AT, Yumashev AV, et al. CAR-NK cell in cancer immunotherapy: A promising frontier. *Cancer Sci.* 2021; 112(9): 3427-3436. doi: 10.1111/cas.14993

26. Daher M, Basar R, Shaim H, Gokdemir E, Uprety N, Kontoyianis A, et al. The TGF- $\beta$ /SMAD signaling pathway as a mediator of NK cell dysfunction and immune evasion in myelodysplastic syndrome. *Blood.* 2017; 130(Suppl 1): 53. doi: 10.1182/blood.V130.Suppl\_1.53.53.

27. Young A, Ngiow SF, Gao Y, Patch A-M, Barkauskas DS, Messaoudene M, et al. A2AR adenosine signaling suppresses natural killer cell maturation in the tumor microenvironment. *Cancer Res.* 2018; 78(4): 1003-1016. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2826

28. Xie G, Dong H, Liang Y, Ham JD, Rizwan R, Chen J. CAR-NK cells: A promising cellular immunotherapy for cancer. *EBioMedicine.* 2020; 59: 102975. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102975

29. Nanbakhsh A, Best B, Riese M, Rao S, Wang L, Medin J, et al. Dextran enhances the lentiviral transduction efficiency of murine and human primary NK cells. *J Vis Exp.* 2018; (131): 55063. doi: 10.3791/55063

30. Laskowski TJ, Biederstädt A, Rezvani K. Natural killer cells in antitumor adoptive cell immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2022; 22(10): 557-575. doi: 10.1038/s41568-022-00491-0
31. Merino A, Maakaron J, Bachanova V. Advances in NK cell therapy for hematologic malignancies: NK source, persistence and tumor targeting. *Blood Rev*. 2023; 60: 101073. doi: 10.1016/j.blre.2023.101073
32. Chabannon C, Mfarrej B, Guia S, Ugolini S, Devillier R, Blaise D, et al. Manufacturing natural killer cells as medicinal products. *Front Immunol*. 2016; 7: 504. doi: 10.3389/fimmu.2016.00504
33. Berrien-Elliott MM, Jacobs MT, Fehniger TA. Allogeneic natural killer cell therapy. *Blood*. 2023; 141(8): 856-868. doi: 10.1182/blood.2022016200
34. Vasu S, Berg M, Davidson-Moncada J, Tian X, Cullis H, Childs RW. A novel method to expand large numbers of CD56(+) natural killer cells from a minute fraction of selectively accessed cryopreserved cord blood for immunotherapy after transplantation. *Cytotherapy*. 2015; 17(11): 1582-1593. doi: 10.1016/j.jcyt.2015.07.020
35. Eguizabal C, Zenarruzabeitia O, Monge J, Santos S, Vesga MA, Maruri N, et al. Natural killer cells for cancer immunotherapy: pluripotent stem cells-derived NK cells as an immunotherapeutic perspective. *Front Immunol*. 2014; 5: 439. doi: 10.3389/fimmu.2014.00439
36. Kotzur R, Duev-Cohen A, Kol I, Reches A, Mandelboim O, Stein N. NK-92 cells retain vitality and functionality when grown in standard cell culture conditions. *PLoS One*. 2022; 17(3): e0264897. doi: 10.1371/journal.pone.0264897
37. Tonn T, Schwabe D, Klingemann HG, Becker S, Esser R, Koehl U, et al. Treatment of patients with advanced cancer with the natural killer cell line NK-92. *Cytotherapy*. 2013; 15(12): 1563-1570. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.06.017
38. Zhang Y, Zhou W, Yang J, Yang J, Wang W. Chimeric antigen receptor engineered natural killer cells for cancer therapy. *Exp Hematol Oncol*. 2023; 12(1): 70. doi: 10.1186/s40164-023-00431-0
39. Rölle A, Pollmann J, Ewen E, Le VTK, Halenius A, Hengel H, et al. IL-12-producing monocytes and HLA-E control HCMV-driven NKG2C+ NK cell expansion. *J Clin Invest*. 2014; 124: 5305-5316. doi: 10.1172/JCI77440
40. Huenecke S, Zimmermann SY, Kloess S, Esser R, Brinkmann A, Tramsen L, et al. IL-2-driven regulation of NK cell receptors with regard to the distribution of CD16<sup>+</sup> and CD16<sup>-</sup> subpopulations and *in vivo* influence after haploidentical NK cell infusion. *J Immunother*. 2010; 33: 200-210. doi: 10.1097/CJI.0b013e3181bb46f7
41. Koehl U, Brehm C, Huenecke S, Zimmermann S-Y, Kloess S, Bremm M, et al. Clinical grade purification and expansion of NK cell products for an optimized manufacturing protocol. *Front Oncol*. 2013; 3: 118. doi: 10.3389/fonc.2013.00118
42. Koehl U, Kalberer C, Spanholtz J, Lee D, Miller J, Cooley S, et al. Advances in clinical NK cell studies: Donor selection, manufacturing and quality control. *Oncoimmunology*. 2015; 5(4): e1115178. doi: 10.1080/2162402X.2015.1115178
43. Conlon KC, Lugli E, Welles HC, Rosenberg SA, Fojo AT, Morris JC, et al. Redistribution, hyperproliferation, activation of natural killer cells and CD8 T cells, and cytokine production during first-in-human clinical trial of recombinant human interleukin-15 in patients with cancer. *J Clin Oncol*. 2015; 33(1): 74-82. doi: 10.1200/JCO.2014.57.3329
44. Mao Y, van Hoef V, Zhang X, Wennerberg E, Lorent J, Witt K, et al. IL-15 activates mTOR and primes stress-activated gene expression leading to prolonged antitumor capacity of NK cells. *Blood*. 2016; 128: 1475-89. doi: 10.1182/blood-2016-02-698027
45. Felices M, Lenvik A, Chu S, McElmurry R, Cooley S, Tolar J, et al. Continuous IL-15 signaling leads to functional exhaustion of human natural killer cells through metabolic changes that alters their *in vivo* anti-tumor activity. *Blood*. 2016; 128(22): 551. doi: 10.1182/blood.V128.22.551.551
46. Choi I, Yoon SR, Park S-Y, Kim H, Jung S-J, Jang YJ, et al. Donor-derived natural killer cells infused after human leukocyte antigen-haploidentical hematopoietic cell transplantation: A dose-escalation study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014; 20: 696-704. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.01.031
47. Venkatasubramanian S, Cheekatla S, Paidipally P, Tripathi D, Welch E, Tvinnereim AR, et al. IL-21-dependent expansion of memory-like NK cells enhances protective immune responses against *Mycobacterium tuberculosis*. *Mucosal Immunol*. 2016; 10(4): 1-12. doi: 10.1038/mi.2016.105
48. Wendt K, Wilk E, Buyny S, Schmidt RE, Jacobs R. Interleukin-21 differentially affects human natural killer cell subsets. *Immunology*. 2007; 122: 486-495. doi: 10.1111/j.1365-2567.2007.02675.x
49. Strbo N, de Armas L, Liu H, Kolber MA, Lichtenheld M, Pahwa S. IL-21 augments natural killer effector functions in chronically HIV-infected individuals. *AIDS*. 2008; 22: 1551-1560. doi: 10.1097/QAD.0b013e3283089367
50. Li Q, Ye L-J, Ren H-L, Huyen T, Li J, Shi J-L, et al. Multiple effects of IL-21 on human NK cells in *ex vivo* expansion. *Immunobiology*. 2015; 220: 876-888. doi: 10.1016/j.imbio.2015.01.009
51. McMichael EL, Jaime-Ramirez AC, Guenterberg KD, Luedke E, Atwal LS, Campbell AR, et al. IL-21 enhances natural killer cell response to cetuximab-coated pancreatic tumor cells. *Clin Cancer Res*. 2017; 23: 489-502. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0004
52. Chaix J, Tessmer MS, Hoebe K, Fuseri N, Ryffel B, Dalod M, et al. Cutting edge: Priming of NK cells by IL-18. *J Immunol*. 2008; 181: 1627-1631. doi: 10.4049/jimmunol.181.3.1627
53. Terrén I, Orrantia A, Astarloa-Pando G, Amarilla-Irusta A, Zenarruzabeitia O, Borrego F. Cytokine-induced memory-like NK cells: From the basics to clinical applications. *Front Immunol*. 2022; 13: 884648. doi: 10.3389/fimmu.2022.884648
54. Ni J, Miller M, Stojanovic A, Garbi N, Cerwenka A. Sustained effector function of IL-12/15/18-preactivated NK cells against established tumors. *J Exp Med*. 2012; 209: 2351-2365. doi: 10.1084/jem.20120944
55. Leong JW, Chase JM, Romee R, Schneider SE, Sullivan RP, Cooper MA, et al. Preactivation with IL-12, IL-15, and IL-18 induces CD25 and a functional high-affinity IL-2 receptor on human cytokine-induced memory-like natural killer cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014; 20: 463-473. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.01.006
56. Koh EK, Lee HR, Son WC, Park GY, Bae J, Park YS. Antitumor effects of NK cells expanded by activation preprocessing of autologous feeder cells before irradiation in colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2023; 25(6): 232. doi: 10.3892/ol.2023.13818
57. Phan MT, Kim J, Koh SK, Lim Y, Yu H, Lee M et al. Selective expansion of NKG2C+ adaptive NK cells using K562 cells expressing HLA-E. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(16): 9426. doi: 10.3390/ijms23169426
58. Ojo EO, Sharma AA, Liu R, Moreton S, Checkley-Luttge MA, Gupta K, et al. Membrane bound IL-21 based NK cell feeder cells drive robust expansion and metabolic activation of NK cells. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 14916. doi: 10.1038/s41598-019-51287-6
59. Hosseinzadeh F, Ai J, Ebrahimi-Barough S, Seyhoun I, Hajifathali A, Muhammadnejad S, et al. Natural killer cell expansion with autologous feeder layer and anti-CD3 antibody for immune

cell therapy of hepatocellular carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2019; 20(12): 3797-3803. doi: 10.31557/APJCP.2019.20.12.3797

60. Sakamoto N, Ishikawa T, Kokura S, Okayama T, Oka K, Ideno M, et al. Phase I clinical trial of autologous NK cell therapy using novel expansion method in patients with advanced digestive cancer. *J Transl Med*. 2015; 13: 277. doi: 10.1186/s12967-015-0632-8

61. Siegler U, Meyer-Monard S, Jorger S, Stern M, Tichelli A, Gratwohl A, et al. Good manufacturing practice-compliant cell sorting and large-scale expansion of single KIR-positive alloreactive human natural killer cells for multiple infusions to leukemia patients. *Cytotherapy*. 2010; 12: 750-763. doi: 10.3109/14653241003786155

62. Liu S, Galat V, Galat Y, Lee YKA, Wainwright D, Wu J. NK cell-based cancer immunotherapy: From basic biology to clinical development. *J Hematol Oncol*. 2021; 14(1): 7. doi: 10.1186/s13045-020-01014-w

63. Gómez García LM, Escudero A, Mestre C, Fuster Soler JL, Martínez AP, Vagace Valero JM, et al. Phase 2 clinical trial of infusing haploidentical K562-mb15-41BBL-activated and expanded natural killer cells as consolidation therapy for pediatric acute myeloblastic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2021; 21(5): 328-337.e1. doi: 10.1016/j.clml.2021.01.013

64. Muñoz Builes M, Vela Cuenca M, Fuster Soler JL, Astigaraga I, Pascual Martínez A, Vagace Valero JM, et al. Study protocol for a phase II, multicentre, prospective, non-randomised clinical trial to assess the safety and efficacy of infusing allogeneic activated and expanded natural killer cells as consolidation therapy for paediatric acute myeloblastic leukaemia. *BMJ Open*. 2020; 10(1): e029642. doi: 10.1136/bmjopen-2019-029642

65. Denman CJ, Senyukov VV, Somanchi SS, Phatarpekar PV, Kopp LM, Johnson JL, et al. Membrane-bound IL-21 promotes sustained *ex vivo* proliferation of human natural killer cells. *PLoS One*. 2012; 7: e30264. doi: 10.1371/journal.pone.0030264

66. Hercend T, Meuer S, Reinherz EL, Schlossman SF, Ritz J. Generation of a cloned NK cell line derived from the "null cell" fraction of human peripheral blood. *J Immunol*. 1982; 129: 1299-1305.

67. Allan DSJ, Wu C, Mortlock RD, Chakraborty M, Rezvani K, Davidson-Moncada JK, et al. Expanded NK cells used for adoptive cell therapy maintain diverse clonality and contain long-lived memory-like NK cell populations. *Mol Ther Oncolytics*. 2022; 28: 74-87. doi: 10.1016/j.omto.2022.12.006

68. Granzin M, Stojanovic A, Miller M, Childs R, Huppert V, Cerwenka A. Highly efficient IL-21 and feeder cell-driven *ex vivo* expansion of human NK cells with therapeutic activity in a xenograft mouse model of melanoma. *Oncimmunology*. 2016; 5: e1219007. doi: 10.1080/2162402X.2016.1219007

69. Geraghty RJ, Capes-Davis A, Davis JM, Downward J, Freshney RI, Knezevic I, et al. Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. *Br J Cancer*. 2014; 111(6): 1021-1046. doi: 10.1038/bjc.2014.166

70. Lee DA. Regulatory considerations for NK cells used in human immuno-therapy applications. *Methods Mol Biol*. 2016; 1441: 347-361. doi: 10.1007/978-1-4939-3684-7\_29

71. North J, Bakhsh I, Marden C, Pittman H, Addison E, Navarrete C, et al. Tumor-primed human natural killer cells lyse NK-resistant tumor targets: Evidence of a two-stage process in resting NK cell activation. *J Immunol*. 2007; 178: 85-94. doi: 10.4049/jimmunol.178.1.85

72. Sabry M, Tsirogianni M, Bakhsh IA, North J, Sivakumaran J, Giannopoulos K, et al. Leukemic priming of resting NK cells is killer Ig-like receptors independent but requires CD15-mediated CD2 ligation and natural cytotoxicity receptors. *J Immunol*. 2011; 187: 6227-6234. doi: 10.4049/jimmunol.1101640

73. Oyer JL, Igarashi RY, Kulikowski AR, Colosimo DA, Solh MM, Zakari A, et al. Generation of highly cytotoxic natural killer cells for treatment of AML using feeder-free, particle based approach. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015; 21: 632-639. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.12.037

74. Ferry GM, Agbuduwe C, Forrester M, Dunlop S, Chester K, Fisher J, et al. A simple and robust single-step method for CAR-V $\delta$ 1  $\gamma$  $\delta$ T cell expansion and transduction for cancer immunotherapy. *Front Immunol*. 2022; 13: 863155. doi: 10.3389/fimmu.2022.863155

75. Sutlu T, Stellan B, Gilljam M, Quezada HC, Nahi H, Gahrton G, et al. Clinical-grade, large-scale, feeder-free expansion of highly active human natural killer cells for adoptive immunotherapy using an automated bioreactor. *Cytotherapy*. 2010; 12(8): 1044-1055. doi: 10.3109/14653249.2010.504770

76. Guan J, Wang G, Yang Q, Chen C, Deng J, Gu X, et al. Natural killer T cells in various mouse models of hepatitis. *Biomed Res Int*. 2021; 2021: 1782765. doi: 10.1155/2021/1782765

77. Jiang B, Wu X, Li XN, Yang X, Zhou Y, Yan H, et al. Expansion of NK cells by engineered K562 cells co-expressing 4-1BBL and mMICA, combined with soluble IL-21. *Cell Immunol*. 2014; 290(1): 10-20. doi: 10.1016/j.cellimm.2014.04.011

78. Goodier MR, Londei M. Lipopolysaccharide stimulates the proliferation of human CD56+CD3- NK cells: A regulatory role of monocytes and IL-10. *J Immunol*. 2000; 165(1): 139-147. doi: 10.4049/jimmunol.165.1.139

79. Peighambarzadeh F, Najafalizadeh A, Esmaeil N, Rezaei A, Ashrafi F, Ganjalikhani Hakemi M. Optimization of *in vitro* expansion and activation of human natural killer cells against breast cancer cell line. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2020; 12(1): 17-23.

#### Сведения об авторе

**Фёдорова Полина Олеговна** – младший научный сотрудник лаборатории прикладной вирусологии, аспирант, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»; лаборант-исследователь лаборатории клеточного иммунитета, Научно-исследовательский институт экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), e-mail: ppolite@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7478-8783>

#### Information about the author

**Polina O. Fedorova** – Junior Research Officer at the Laboratory of Applied Virology, Postgraduate, I.I. Mechnikov Vaccine and Serum Research Institute; Clinical Research Assistant at the Laboratory of Cell Immunity, Research Institute of Experimental Therapy and Diagnostics of Tumor, N.N. Blokhin National Medical Center of Oncology; Teaching Assistant at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: ppolite@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7478-8783>

## ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ТКАНЕВОЙ ГИПОКСИИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФАЗАХ АКТИВНОСТИ ЭНДОКРИННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИИ

Таскина Е.С.,  
Харинцева С.В.,  
Караваяева Т.М.

ФГБОУ ВО «Читинская  
государственная медицинская академия»  
Минздрава России (672000, г. Чита,  
ул. Горького, 39а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Таскина Елизавета Сергеевна,  
e-mail: taskins@yandex.ru

### РЕЗЮМЕ

Эндокринная офтальмопатия (ЭОП) является экстракореоидным осложнением дисфункции щитовидной железы, характеризующимся хроническим аутоиммунным воспалением мягких ретробульбарных тканей. Данные по изучению роли окислительного и гипоксического стресса при ЭОП неоднородны, что обуславливает необходимость дальнейшего их исследования.

**Цель исследования.** Оценить показатели окислительного стресса и тканевой гипоксии при различных фазах активности эндокринной офтальмопатии.

**Материалы и методы.** Проведено клинико-инструментальное и лабораторное обследование пациентов с ЭОП ( $n = 32$ ), с аутоиммунной патологией щитовидной железы ( $n = 18$ ) и здоровых лиц ( $n = 15$ ). Исследование включало офтальмологическое обследование и забор крови на определение концентрации антител к рецептору тиреотропного гормона, интерлейкина 17А (ИЛ-17А), гипоксия-индуцибельного фактора 1а (HIF-1а, hypoxia-inducible factor 1а), ТБК-активных продуктов и расчёт общей антиоксидантной активности (ОАО).

**Результаты исследования.** Выявлено повышение концентрации ТБК-активных продуктов в клинической группе по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). Показатель ОАО снижен при всех фазах активности ЭОП в сравнении с контрольной группой ( $p < 0,001$ ). Уровень HIF-1а не имел различий в группах исследования ( $H = 3,29$ ;  $p = 0,51$ ). Выявлены прямые умеренные связи между концентрацией ИЛ-17А и уровнем ТБК-активных продуктов ( $p = 0,001$ ), а также обратные умеренные связи – со значением ОАО ( $p = 0,007$ ). Активность ЭОП по Clinical Activity Score имела слабые обратные связи с ОАО ( $p < 0,001$ ). Статистически значимые зависимости между показателями окислительного стресса и тканевой гипоксии не обнаружены.

**Заключение.** При ЭОП независимо от фазы активности наблюдается нарушение баланса между параметрами системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита», которое проявляется увеличением ТБК-активных продуктов при одновременном уменьшении ОАО. Показатели тканевой гипоксии не имели различий в группах исследования. Выявленные связи между показателями активности аутоиммунного воспаления в орбите и оксидативным стрессом подчёркивают патогенетическую обусловленность назначения антиоксидантных препаратов в терапии ЭОП.

**Ключевые слова:** эндокринная офтальмопатия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная активность, гипоксия-индуцибельный фактор 1а, антитела к рецептору тиреотропного гормона, интерлейкин 17А

Статья поступила: 07.12.2023  
Статья принята: 10.10.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Таскина Е.С., Харинцева С.В., Караваяева Т.М. Показатели оксидативного стресса и тканевой гипоксии при различных фазах активности эндокринной офтальмопатии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 66-74. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.7

## INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS AND TISSUE HYPOXIA IN VARIOUS PHASES OF GRAVES' ORBITOPATHY ACTIVITY

Taskina E.S.,  
Kharintseva S.V.,  
Karavaeva T.M.

Chita State Medical Academy  
(Gorkogo str. 39A, Chita 672000,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
Elizaveta S. Taskina,  
e-mail: taskins@yandex.ru

### ABSTRACT

*Graves' orbitopathy (GO) is an extrathyroid complication of thyroid dysfunction characterized by chronic autoimmune inflammation of soft retrobulbar tissues. The data on the role of oxidative and hypoxic stress in GO are heterogeneous, which necessitates further research.*

**The aim of the study.** *To evaluate the indicators of oxidative stress and tissue hypoxia at various phases of Graves' orbitopathy activity.*

**Material and methods.** *Examination of patients with GO (n = 32), with autoimmune thyroid pathology (n = 18) and healthy individuals (n = 15) was performed. The study included ophthalmological examination and blood sampling to determine the concentration of antibodies to the thyroid-stimulating hormone receptor, interleukin 17A (IL-17A), hypoxia inducible factor 1a (HIF-1a), TBK-active products and calculation of total antioxidant activity.*

**Results.** *An increase in the concentration of TBK-active products in the clinical group was revealed compared with the control ( $p < 0.001$ ). The total antioxidant activity was reduced at all phases of GO activity than in the control ( $p < 0.001$ ). The level of HIF-1a did not differ in the study groups ( $H = 3.29$ ;  $p = 0.51$ ). Direct moderate correlations were found between the concentration of IL-17A and the level of TBA-active substances ( $p = 0.001$ ), as well as inverse moderate correlations with the value of total antioxidant activity ( $p = 0.007$ ). The activity of GO had weak correlations with total antioxidant activity ( $p < 0.001$ ). Significant correlations between indicators of oxidative stress and tissue hypoxia were not found.*

**Conclusion.** *In GO, regardless of the activity phase, there is an imbalance between the parameters of the "lipid peroxidation – antioxidant protection" system, which is manifested by an increase in TBA-active substances while reducing the total antioxidant activity. The indicators of tissue hypoxia did not differ in the study groups. The revealed correlations between the autoimmune inflammation activity in the orbit and oxidative stress emphasize the pathogenetic conditionality of the antioxidant drugs appointment in the therapy of GO.*

**Key words:** *Graves' orbitopathy, lipid peroxidation, antioxidant activity, hypoxia inducible factor 1a, antibodies to the thyroid-stimulating hormone receptor, interleukin 17A*

Received: 07.12.2023  
Accepted: 10.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Taskina E.S., Kharintseva S.V., Karavaeva T.M. Indicators of oxidative stress and tissue hypoxia in various phases of Graves' orbitopathy activity. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 66-74. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.7

## ОБОСНОВАНИЕ

Согласно современным представлениям, эндокринная офтальмопатия (ЭОП) рассматривается как экстра-тиреоидное осложнение дисфункции щитовидной железы, характеризующееся лимфоцитарной инфильтрацией, отёком и ремоделированием глазодвигательных мышц и/или орбитальной клетчатки [1, 2]. При длительном течении заболевания возможно фибрирование мягких ретробульбарных тканей с формированием стойкого проптоза, страбизма и бинокулярной диплопии, что оказывает существенное негативное влияние на психическое здоровье, социально-экономический статус и на качество жизни пациентов в целом [3].

Недавние исследования показали, что активированные фибробласты мягких ретробульбарных тканей обладают свойствами стволовых клеток и играют ключевую роль в развитии и прогрессии ЭОП. На мембране их клеток экспрессируются матричные РНК, кодирующие внеклеточную часть патологического рецептора тиреотропного гормона, который рассматривается иммунной системой как антиген. Под влиянием антител к рецептору тиреотропного гормона (АТ рТТГ), различных провоспалительных цитокинов и ростовых факторов происходит активация двух функционально и фенотипически неоднородных фибробластов орбиты: профибротической субпопуляции (CD90<sup>+</sup>), секретирующих избыточное количество компонентов межклеточного матрикса (гликозаминогликаны, коллаген, эластин и фибронектин) и проадипогенной (CD90<sup>-</sup>) субпопуляции, запускающей процесс адипогенеза в орбите [4].

В патогенезе многих аутоиммунных заболеваний важное значение отводят интерлейкину 17 (ИЛ-17), который обладает мощным провоспалительным эффектом и ускоряет миграцию, подвижность, пролиферацию и дифференцировку мезенхимальных клеток, в том числе и фибробластов орбиты [5, 6]. Определение концентрации АТ рТТГ и наиболее активной изоформы А ИЛ-17 (ИЛ-17А) в сыворотке крови может быть использовано как лабораторный диагностический критерий иммуновоспалительной активности ЭОП [6].

Аутоиммунное воспаление в орбите при ЭОП начинается отёком и лейкоцитарной инфильтрацией, а при хронизации процесса происходит постепенное ремоделирование мягких ретробульбарных тканей с развитием фиброза. Патогенетический механизм сложен и многофакторен [1, 2, 4]. Накапливающиеся данные свидетельствуют об участии локального гипоксического и окислительного стресса в патогенезе ЭОП. Курение сигарет как основной фактор риска развития данной патологии индуцирует образование активных форм кислорода, окислительное повреждение и активацию орбитальных фибробластов [7]. Последнее время активно исследуется патогенетическая роль восприимчивого к кислороду протеинового комплекса – гипоксия-индуцибельного фактора 1α (HIF-1α, hypoxia-inducible factor 1α), который обеспечивает стремительный отклик на локальную тканевую гипоксию, индуцируя гены, отвечающие за регуляцию ангиогенеза, вазомоторного кон-

троля, эритропоэза, клеточного энергетического метаболизма и апоптоза. Также гипоксия может поддерживать локальное воспаление, привлекая воспалительные клетки, такие как макрофаги [8]. Данные по изучению роли окислительного стресса и гипоксии с одновременной активацией аутоиммунитета при ЭОП противоречивы, что обуславливает необходимость дальнейшего изучения.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить показатели оксидативного стресса и тканевой гипоксии при различных фазах активности эндокринной офтальмопатии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в отделении офтальмологии клиничко-диагностического подразделения диагностической поликлиники клиники ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, отделения офтальмологии ГУЗ «Краевая клиническая больница № 1» (Чита) и в лаборатории биохимии Научно-исследовательского института молекулярной медицины ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Для достижения поставленной цели обследовано 65 человек. Сформированы 3 группы исследования: пациенты с ЭОП средней степени тяжести различных фаз активности (клиническая группа;  $n = 32$ ); пациенты с аутоиммунной патологией щитовидной железы без ЭОП (группа сравнения;  $n = 18$ ); здоровые лица, сопоставимые по возрастным и гендерным параметрам (контрольная группа;  $n = 15$ ). Для оценки тяжести ЭОП использованы классификации NOSPECS (No physical signs or symptoms, Only signs, Soft tissue involvement, Proptosis, Extraocular muscle signs, Corneal involvement, and Sight loss), EUGOGO (European Group of Graves' Orbitopathy) [9, 10].

В исследование вошло 65 человек (24 мужчины и 41 женщина: 130 глаз) в возрасте 43 [35; 50] лет. Сформированы группа сравнения с патологией щитовидной железы без ЭОП ( $n = 18$ ) и клиническая группа с активной и неактивной фазами ЭОП средней степени тяжести ( $n = 32$ ). Контрольная группа включала 15 человек, сопоставимых по полу и возрасту (табл. 1).

Пациенты клинической группы распределены на две подгруппы: активная ЭОП (до и после проведения пульс-терапии глюкокортикоидами (ГК)) – 1-я подгруппа ( $n = 15$ ); неактивная ЭОП в стадии фиброза глазодвигательных мышц и ретробульбарной клетчатки – 2-я подгруппа ( $n = 17$ ). Критерии распределения пациентов клинической группы на подгруппы: степень активности по шкале Clinical Activity Score (CAS) в баллах [11] и стаж заболевания в месяцах, а также состояние глазодвигательных мышц и ретробульбарной клетчатки по данным компьютерной томографии орбит. Величины АТ рТТГ и ИЛ-17А в сыворотке крови использова-

**ТАБЛИЦА 1**  
**ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ В ГРУППАХ**  
**ИССЛЕДОВАНИЯ**

**TABLE 1**  
**CHARACTERISTICS OF PATIENTS IN THE STUDY GROUPS**

Параметры	Контрольная группа (n = 15)	Группа сравнения (n = 18)	Клиническая группа (n = 32)		Тестовая статистика	
			Активная ЭОП (n = 15)			
			до лечения ГК	после лечения ГК		
Возраст, годы	43 [33; 47]	45 [40; 49]	46 [35; 52]	46 [35; 52]	46 [35; 51]	H = 2,11 df = 2 p = 0,715
Стаж ЭОП, месяцы	0 [0; 0]	0 [0; 0]	3 [3; 5]	5 [5; 6]	24 [19; 25]	H = 36,21 df = 2 p < 0,001
CAS, баллы	0 [0; 0]	0 [0; 0]	4 [4; 5]	2 [2; 2]	1 [0; 2]	H = 69,26 df = 2 p < 0,001

**Примечание.** n – количество наблюдений в группах; ГК – пульс-терапия глюкокортикоидами; CAS – Clinical Activity Score.

ны как лабораторные диагностические критерии, характеризующие активность ЭОП [6].

Проведено клиничко-инструментальное и лабораторное обследование пациентов, включающее комплексный офтальмологический осмотр (опрос, осмотр органа зрения, экзофтальмометрия, биомикроскопия переднего отрезка глаза, авторефрактометрия, визометрия, периметрия, тонометрия, непрямая офтальмоскопия), определение концентрации АТ рТТГ, ИЛ-17А, ИФ-1α, ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) и расчёт общей антиоксидантной активности (ОАО) сыворотки крови. Подгруппу пациентов с активной ЭОП обследовали двукратно – до и после проведения пульс-терапии ГК (суммарная нагрузочная доза 6–8 мг метилпреднизолона).

Кровь забирали в 8:00 часов утра из вены, натощак, в положении исследуемых сидя. Уровни АТ рТТГ (MEDIPAN GMBH, Германия), ИЛ-17А (Cloud-Clone Corp., США), ИФ-1α (Cloud-Clone Corp., США) в сыворотке крови определяли методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа, содержание ТБК-АП исследовали с помощью теста Л.И. Андреевой [12], АОА – по методу М.Ш. Промыслова и соавт. [13].

В исследование включались пациенты старше 18 лет с подтверждённой аутоиммунной патологией щитовидной железы (аутоиммунный тиреоидит и диффузный токсический зоб) и/или диагнозом ЭОП средней степени тяжести. Все пациенты, включённые в исследование, имели компенсированный тиреоидный статус. В контрольную группу входили лица, считавшие себя практически здоровыми, не принимающие лекарственные препараты на момент обследования, с нормальным психосоматическим состоянием и обследованные смежными специалистами в порядке диспансеризации. Критерии исключения из исследования: системные аутоиммунные заболевания; инфекционные заболевания; сахарный диабет; болезни орбиты другой этиологии; онкологические

заболевания; тяжёлая соматическая патология, препятствующая проведению дальнейшего исследования; беременность и лактация.

Исследование одобрено на заседании локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 81 от 28.10.2016). Все клиничко-инструментальные и лабораторные обследования у пациентов выполнены с их информированного добровольного согласия и соответствовали предъявляемым Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации этическим принципам проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта (World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects) 2013 г.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics, version 25.0 (IBM Corp., США). Описание выборки производили с помощью подсчёта средней и медианы с интерквартильным размахом в виде 25-го и 75-го перцентилей (Me [25; 75]). Для сравнения независимых групп использовался Н-критерий Краскела – Уоллиса, попарное сравнение независимых групп проводили с помощью U-критерия Манна – Уитни с учётом поправки Бонферрони ( $p < 0,0125$ ), а зависимых групп – с использованием Z-критерия Вилкоксона. Характер корреляционных взаимосвязей между показателями рассчитывали с использованием коэффициента корреляции Спирмена  $r$ . Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока. Показатели анализировали при помощи критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ) с поправкой на правдоподобие. Вычисляли относительный риск (ОР) развития активной фазы ЭОП при повышении концентрации лабораторных показателей в сыворотке крови при значении 95%-го доверительного интервала (95% ДИ). Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$  [14].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание АТ рТТГ в сыворотке крови в контроле составило 0,01 [0; 0,27] МЕд/л. У пациентов с патологией щитовидной железы обнаружено, что титр данных антител не имел статистически значимых различий ( $p = 0,53$ ) по сравнению с контрольной группой. Значение АТ рТТГ статистически значимо выше в клинической группе с ЭОП ( $p < 0,001$ ), чем в группе сравнения и контроля. У всех пациентов с активной фазой ЭОП выявлено максимальное увеличение АТ рТТГ – до 16,9 [7,78; 24,4] МЕд/л. После пульс-терапии метилпреднизолоном титр данных антител снижается на 93,13 % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с активной фазой ЭОП до лечения. В группе с неактивной фазой в стадии фиброза мягких ретробульбарных тканей содержание данных антител уменьшается до 0,51 [0,25; 0,82] МЕд/л (табл. 2).

Концентрация в сыворотке крови ИЛ-17А у пациентов группы контроля составила 1,27 [0; 2,33] пг/мл. Выявлено увеличение данного интерлейкина в 7,8 раза в группе с патологией щитовидной железы и в 5,3 раза в группе с активной фазой ЭОП до лечения по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ). После проведения пульс-терапии ГК уровень ИЛ-17А приближался к нулевому показателю и составил 0 [0; 2,18] пг/мл ( $p < 0,001$ ). В группе пациентов с неактивной фазой ЭОП в стадии фиброза глазодвигательных мышц и/или орбитальной клетчатки вновь отмечается повышение ИЛ-17А до референсных значений контрольной группы ( $p = 0,117$ ) (табл. 2). Полученные данные по концентрации в сыворотке крови АТ рТТГ и ИЛ-17А подтверждают корректность распределения пациентов по группам исследования [6].

Содержание ТБК-АП в группе контроля составило 3,56 [3,36; 3,57] мкмоль/л. Выявлено увеличение концентрации ТБК-АП в группе с патологией щитовидной железы без ЭОП в 2,07 [1,78; 2,66] раза, а у пациентов с активной ЭОП до лечения – в 1,88 [1,56; 2,16] раза по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). В группе пациентов с ЭОП после пульс-терапии метилпреднизолоном концентрация данного показателя не имела статистически значимых различий со значениями до лечения ( $p = 0,683$ ) и была в 1,63 [1,67; 2,04] раза выше по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ). У пациентов с неактивной ЭОП в стадии фиброза содержание ТБК-АП составило 5,83 [4,89; 6,45] мкмоль/л, что в 1,64 [1,45; 1,8] раза больше референсных значений группы контроля ( $p < 0,001$ ) (табл. 2).

АОА сыворотки крови в контрольной группе составила 10,2 [10,15; 10,36] %. Установлено статистически значимое снижение АОА в группе сравнения в 1,25 [1,4; 1,15] раза, а в группе с активной ЭОП до лечения – в 1,22 [1,36; 1,23] раза в сравнении с контролем ( $p < 0,001$ ). После проведения пульс-терапии ГК значение АОА достигло 7,34 [7,2; 9,14] %, но не имело статистически значимых различий со значениями до лечения ( $p = 0,345$ ). В группе с неактивной ЭОП в стадии фиброза отмечается, что АОА сыворотки крови снижена до 8,45 [7,39; 8,56] %, что в 1,2 [1,37; 1,21] раза меньше значений контрольной группы ( $p < 0,001$ ) (табл. 2).

Все пациенты с активной фазой ЭОП (15/15) до лечения метилпреднизолоном имели положительный титр АТ рТТГ в сыворотке крови выше или равный 1,5 МЕд/л ( $\chi^2 = 33,03$ ;  $p < 0,001$ ). Распространённость пациентов с активной ЭОП и содержанием ИЛ-17А выше 3,5 пг/мл составила 75 % (11/15) ( $\chi^2 = 19,21$ ;  $p < 0,001$ ).

Число пациентов с ЭОП и титром АТ рТТГ в сыворотке крови, выше или равным 1,5 МЕд/л, и содержанием ТБК-АП выше или равным 6 мкмоль/л составило 34 % (16/47), а с титром АТ рТТГ ниже 1,5 МЕд/л и содержанием ТБК-АП ниже 6 мкмоль/л – 42,5 % (20/47) ( $\chi^2 = 13,16$ ;  $p < 0,001$ ). Число пациентов с ЭОП и титром АТ рТТГ в сыворотке крови выше или равным 1,5 МЕд/л и значением АОА менее 8,25 % составило 25,5 % (12/47), а с титром АТ рТТГ ниже 1,5 МЕд/л и АОА более и равной 8,25 % – 51 % (24/47) ( $\chi^2 = 11,75$ ;  $p < 0,001$ ).

Число пациентов с ЭОП и уровнем в сыворотке крови ИЛ-17А выше или равным 3,5 пг/мл и концентрацией ТБК-АП выше или равной 6 мкмоль/л составило 38 % (18/47), а с уровнем ИЛ-17А ниже 3,5 пг/мл и ТБК-АП ниже 6 мкмоль/л – 22 % (13/47) ( $\chi^2 = 6,59$ ;  $p = 0,01$ ). Число пациентов с ЭОП и уровнем в сыворотке крови ИЛ-17А выше или равным 3,5 пг/мл и значением АОА менее 8,25 % составило 32 % (15/47), а с содержанием ИЛ-17А ниже 3,5 пг/мл и АОА более и равной 8,25 % – 36 % (17/47) ( $\chi^2 = 9,34$ ;  $p = 0,002$ ).

Частота регистрации пациентов с активной фазой ЭОП ( $CAS \geq 3$ ) и концентрацией ТБК-АП выше или равной 6 мкмоль/л в сыворотке крови составила 32 % (15/47), а с неактивной ЭОП ( $CAS < 3$ ) и уровнем ТБК-АП ниже 6 мкмоль/л – 36 % (17/47) ( $\chi^2 = 7,97$ ;  $p = 0,004$ ). Повышение концентрации ТБК-АП до уровня выше или равного 6 мкмоль/л увеличивает риск развития активной ЭОП в 3,7 раза (95% ДИ: 1,23–11,08).

Распространённость пациентов с активной фазой ЭОП ( $CAS \geq 3$ ) и снижением АОА менее 8,25 % составила 34 % (16/47), а с неактивной ЭОП ( $CAS < 3$ ) и АОА более и равной 8,25 % – 36 % (17/47) ( $\chi^2 = 9,34$ ;  $p = 0,002$ ). Понижение АОА сыворотки крови менее 8,25 % увеличивает риск развития активной ЭОП в 3,95 раза (95% ДИ: 1,33–11,74).

Концентрация HIF-1 $\alpha$  в контрольной группе составила 0,96 [0,68; 1,15] нг/мл. При сравнении групп исследования данный показатель не имел статистически значимых различий ( $H = 3,29$ ;  $df = 2$ ;  $p = 0,51$ ) (табл. 2).

При проведении корреляционного анализа установлены статистически значимые заметные прямые связи ( $r = 0,689$ ;  $p < 0,001$ ) между титром АТ рТТГ и концентрацией ИЛ-17А, а также высокие прямые связи ( $r = 0,766$ ;  $p < 0,001$ ) с активностью заболевания по  $CAS$  (табл. 3), что демонстрирует правильность формирования групп исследования [6].

Наличие статистически значимых заметных прямых связей ( $r = -0,709$ ;  $p < 0,001$ ) между концентрацией ТБК-АП и значением АОА показывает корректность лабораторного расчёта данных параметров (табл. 3).

Дальнейшим этапом исследования была оценка корреляционных связей показателей системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» с пара-

**ТАБЛИЦА 2**  
**КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИТЕЛ К РЕЦЕПТОРУ**  
**ТИРЕОТРОПНОГО ГОРМОНА, ИНТЕРЛЕЙКИНА 17А,**  
**ТБК-АКТИВНЫХ ПРОДУКТОВ, АНТИОКСИДАНТНОЙ**  
**АКТИВНОСТИ И ГИПОКСИЯ-ИНДУЦИБЕЛЬНОГО**  
**ФАКТОРА 1А В ГРУППАХ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**TABLE 2**  
**CONCENTRATION OF ANTIBODIES**  
**TO THYROID-STIMULATING HORMONE RECEPTOR,**  
**INTERLEUKIN 17A, TBA-ACTIVE SUBSTANCES,**  
**ANTIOXIDANT ACTIVITY, AND HYPOXIA-INDUCIBLE**  
**FACTOR 1A IN THE STUDY GROUPS**

Параметры	Контрольная группа (n = 15)	Группа сравнения (n = 18)	Клиническая группа (n = 32)		Тестовая статистика	
			Активная ЭОП (n = 15)			Неактивная ЭОП (n = 17)
			до лечения ГК	после лечения ГК		
АТ рТТГ, МЕд/л	0,01 [0; 0,27]	0,1 [0; 0,3] $p = 0,539$ ( $U = 117,5$ )	16,9 [7,78; 24,4] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ ) $p_1 < 0,001$ ( $U_1 = 0,0$ )	1,16 [0,16; 6,33] $p = 0,005$ ( $U = 46$ ) $p_1 = 0,006$ ( $U_1 = 60,5$ ) $p_2 < 0,001$ ( $Z = 126$ )	0,51 [0,25; 0,82] $p < 0,001$ ( $U = 28$ ) $p_1 < 0,001$ ( $U_1 = 51$ ) $p_3 < 0,001$ ( $U_3 = 1$ ) $p_4 = 0,597$ ( $U_4 = 113$ )	$H = 49,3$ $df = 2$ $p_5 < 0,001$
ИЛ-17А, пг/мл	1,27 [0; 2,33]	9,86 [1,95; 14,6] $p < 0,001$ ( $U = 45$ )	6,77 [3,56; 8,2] $p < 0,001$ ( $U = 19,5$ ) $p_1 = 0,212$ ( $U_1 = 100$ )	0 [0; 2,18] $p = 0,419$ ( $U = 93,5$ ) $p_1 < 0,001$ ( $U_1 = 39$ ) $p_2 < 0,001$ ( $Z = 134$ )	1,75 [0; 5,63] $p = 0,3548$ ( $U = 103$ ) $p_1 = 0,003$ ( $U_1 = 65,5$ ) $p_3 = 0,006$ ( $U_3 = 56$ ) $p_4 = 0,117$ ( $U_4 = 85,5$ )	$H = 30,64$ $df = 2$ $p_5 < 0,001$
ТБК-АП, мкмоль/л	3,56 [3,36; 3,57]	7,4 [5,97; 9,5] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ )	6,69 [5,23; 7,72] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ ) $p_1 = 0,166$ ( $U_1 = 96$ )	5,81 [5,63; 7,31] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ ) $p_1 = 0,022$ ( $U_1 = 72$ ) $p_2 = 0,683$ ( $Z = 222$ )	5,83 [4,89; 6,45] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ ) $p_1 < 0,001$ ( $U_1 = 56$ ) $p_3 = 0,018$ ( $U_3 = 65$ ) $p_4 = 0,261$ ( $U_4 = 97$ )	$H = 44,49$ $df = 2$ $p_5 < 0,001$
АОА, %	10,2 [10,15; 10,36]	8,13 [7,2; 9,03] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ )	8,34 [7,45; 8,4] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ ) $p_1 = 0,605$ ( $U_1 = 120$ )	7,34 [7,2; 9,14] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ ) $p_1 = 0,845$ ( $U_1 = 129,5$ ) $p_2 = 0,345$ ( $Z = 209,5$ )	8,45 [7,39; 8,56] $p < 0,001$ ( $U = 0,0$ ) $p_1 = 0,613$ ( $U_1 = 137$ ) $p_3 = 0,655$ ( $U_3 = 115$ ) $p_4 = 0,655$ ( $U_4 = 115$ )	$H = 36,67$ $df = 2$ $p_5 < 0,001$
НIF-1α, нг/мл	0,96 [0,68; 1,15]	1,03 [0,75; 1,28] $p = 0,401$ ( $U = 111,5$ )	0,97 [0,82; 1,63] $p = 0,148$ ( $U = 77,5$ ) $p_1 = 0,509$ ( $U_1 = 116$ )	1,12 [0,96; 1,26] $p = 0,098$ ( $U = 72,5$ ) $p_1 = 0,556$ ( $U_1 = 118,5$ ) $p_2 = 0,967$ ( $Z = 231$ )	1,04 [0,86; 1,22] $p = 0,23$ ( $U = 95$ ) $p_1 = 0,909$ ( $U_1 = 149$ ) $p_3 = 0,766$ ( $U_3 = 119,5$ ) $p_4 = 0,551$ ( $U_4 = 111,5$ )	$H = 3,29$ $df = 2$ $p_5 = 0,51$

**Примечание.**  $n$  – количество наблюдений в группах;  $p$  – статистическая значимость при сравнении с контролем;  $p_1$  – статистическая значимость при сравнении с группой сравнения;  $p_2$  – статистическая значимость в группе с активной ЭОП до и после пульс-терапии ГК;  $p_3$  – статистическая значимость между активной ЭОП до пульс-терапии ГК и неактивной ЭОП в стадии фиброза;  $p_4$  – статистическая значимость между активной ЭОП после пульс-терапии ГК и неактивной ЭОП в стадии фиброза;  $p_5$  – статистическая значимость при сравнении всех выборок.

**ТАБЛИЦА 3**  
**РЕЗУЛЬТАТЫ КОРРЕЛЯЦИОННОГО АНАЛИЗА**  
**ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ**

**TABLE 3**  
**RESULTS OF CORRELATION ANALYSIS OF LABORATORY**  
**PARAMETERS**

Коррелирующие признаки	Показатели корреляции	
	Коэффициент корреляции, <i>r</i>	Уровень статистической значимости, <i>p</i>
АТ рТТГ / ИЛ-17А	0,689	< 0,001
АТ рТТГ / CAS	0,766	< 0,001
ИЛ-17А / CAS	0,831	< 0,001
ТБК-активные продукты / АОА	-0,709	< 0,001
ТБК-активные продукты / CAS	0,193	0,086
ТБК-активные продукты / АТ рТТГ	0,128	0,257
ТБК-активные продукты / ИЛ-17А	0,378	0,001
АОА / CAS	-0,297	0,007
АТ рТТГ / АОА	-0,182	0,106
ИЛ-17А / АОА	-0,416	< 0,001
НIF-1α / CAS	0,134	0,236
НIF-1α / АТ рТТГ	0,035	0,76
НIF-1α / ИЛ-17А	0,068	0,548
НIF-1α / ТБК-активные продукты	0,141	0,212
НIF-1α / АОА	0,069	0,544

метрами активности ЭОП, включающих баллы CAS, титром АТ рТТГ и уровнем ИЛ-17А. Концентрация ТБК-АП не имела корреляций с баллами CAS ( $r = 0,193$ ;  $p = 0,086$ ) и титром АТ рТТГ ( $r = 0,128$ ;  $p = 0,257$ ), но обнаружены прямые умеренные связи ( $r = 0,378$ ;  $p = 0,001$ ) с содержанием ИЛ-17А. Установлены слабые обратные связи между значением АОА сыворотки крови с баллами CAS ( $r = -0,297$ ;  $p < 0,001$ ) и умеренные обратные связи с уровнем ИЛ-17А ( $r = -0,416$ ;  $p = 0,007$ ). При этом АОА сыворотки крови не имеет статистически значимых связей ( $r = -0,182$ ;  $p = 0,106$ ) с титром АТ рТТГ (табл. 3).

Уровень НIF-1α не имел статистически значимых связей с показателями активности ЭОП ( $p > 0,05$ ). Данные корреляционного анализа представлены в таблице 3.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе ЭОП, участвуя в гиперпродукции провоспалительных цитокинов, факторов роста, хемокинов и компонентов межклеточного матрикса, а также в стимулировании пролиферации и дифференцировки орбитальных фибробластов. Выявленный дисбаланс в системе «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» с преобладанием деструктивного действия активных форм кислорода на фоне пониженной активации антиоксидант-

ной защиты, присутствующий в очаге воспаления, вместе с отёком способствует ремоделированию мягких тканей орбиты при ЭОП [15]. Полученные нами данные полностью согласуются с патогенетически обусловленными рекомендациями по назначению антиоксидантных препаратов при ЭОП различных фаз активности, к которым относятся препараты селена, пентоксифиллин, витамин С, N-ацетил-L-цистеин и мелатонин [15, 16].

Учитывая выявленные статистически значимые корреляционные связи АОА с баллами CAS, а также ИЛ-17А с ТБК-АП и АОА, предложено использовать их в качестве дополнительного лабораторного критерия активности аутоиммунного воспаления в орбите и оценке эффективности проводимого лечения.

Установленные нами положительные взаимосвязи иммуновоспалительной активности ЭОП, величин ИЛ-17, ТБК-АП также подтверждаются недавними открытиями. С.Т. Liu и соавт. показали, что ИЛ-17А индуцирует воспаление и окислительный стресс путём активации митоген-активируемой протеинкиназы и ядерного фактора κВ в клетках [17], кроме того, митохондриальные активные формы кислорода способствуют образованию Th17-клеток через цепь переноса электронов *in vitro* и усугубляют аутоиммунные заболевания, связанные с ИЛ-17А [16, 18, 19].

Среди патогенетических механизмов фиброгенеза экстраокулярных мышц и ретробульбарной клет-

чатки при ЭОП занимают также местные ишемические процессы. В ходе проведённого исследования уровень HIF-1 $\alpha$  не продемонстрировал статистически значимых различий. Данные по изучению роли HIF-1 $\alpha$  в патогенезе ЭОП немногочисленны и достаточно противоречивы. Н. Есе и соавт. не нашли корреляции между высоким уровнем HIF-1 $\alpha$  у пациентов с узловым зобом и малигнизацией процесса [20]. G.E. Görtz и соавт. выявили корреляцию между высокой концентрацией HIF-1 $\alpha$  и активностью ЭОП по CAS на фоне курения, однако в своей работе они не сопоставляли полученные данные с цитокиновым профилем и титром АТ рТТГ [21]. M.I. Malkov и соавт. также продемонстрировали выраженный гипоксический ответ орбитальных фибробластов у пациентов с ЭОП на фоне курения [22].

HIF – это гетеродимерные факторы транскрипции, регулирующие клеточный ответ на снижение доступности кислорода посредством экспрессии сотен генов, зависящих от гипоксии. HIF состоит из одной из трёх кислородзависимых альфа-субъединиц (HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  и HIF-3 $\alpha$ ) и конститутивно экспрессируемой нечувствительной к кислороду бета-субъединицы (HIF-1 $\beta$ /ARNT). Как HIF-1 $\alpha$ , так и HIF-2 $\alpha$  имеют сходную структуру и связаны с повышенной экспрессией генов при гипоксии, однако они регулируют перекрывающиеся, но различные наборы генов-мишеней в зависимости от доступности кислорода и типа ткани [22]. Считаем перспективным изучить все изоформы HIF с различными фазами активности и при различных степенях тяжести ЭОП, а также прицельно оценить фактор курения в развитии и прогрессии данного заболевания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведённого исследования установлено повышение активности перекисного окисления липидов с увеличением концентрации ТБК-активных продуктов на фоне понижения общей антиоксидантной активности сыворотки крови при ЭОП независимо от фазы активности заболевания. Содержание HIF-1 $\alpha$  в сыворотке не имело статистически значимых различий в группах исследования.

Корреляционный анализ показал наличие прямых умеренных связей между концентрацией ИЛ-17А и уровнем ТБК-АП, а также обратных умеренных связей со значением ОАО. Более того, активность ЭОП по CAS имеет слабые обратные связи с ОАО. Статистически значимые зависимости между показателями системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» и тканевой гипоксии не обнаружены. Считаем актуальным дальнейшее изучение роли оксидантного стресса и тканевой гипоксии в патогенезе развития и прогрессии иммуномедианного воспаления мягкой тканей орбиты при ЭОП.

## Финансирование

Никто из авторов данной статьи не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zheng J, Duan H, You S, Liang B, Chen Y, Huang H. Research progress on the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy: Based on immunity, noncoding RNA and exosomes. *Front Immunol.* 2022; 13: 952954. doi: 10.3389/fimmu.2022.952954
- Taylor PN, Zhang L, Lee RWJ, Muller I, Ezra DG, Dayan CM, et al. New insights into the pathogenesis and nonsurgical management of Graves orbitopathy. *Nat Rev Endocrinol.* 2020; 16(2): 104-116. doi: 10.1038/s41574-019-0305-4
- Hoang TD, Stocker DJ, Chou EL, Burch HB. 2022 update on clinical management of Graves disease and thyroid eye disease. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2022; 51(2): 287-304. doi: 10.1016/j.ecl.2021.12.004
- Таскина Е.С., Харинцева С.В. Морфофункциональная характеристика и иммунологическая регуляция функции орбитальных фибробластов при эндокринной офтальмопатии. *Клиническая и экспериментальная тиреологическая.* 2018; 14(4): 183-191. [Taskina ES, Kharintseva SV. Morphofunctional characteristics and immunological regulation of the orbital fibroblasts function in endocrine ophthalmopathy. *Clinical and Experimental Thyroidology.* 2018; 14(4): 183-191. (In Russ.)]. doi: 10.14341/ket10147
- Longo CM, Higgins PJ. Molecular biomarkers of Graves' ophthalmopathy. *Exp Mol Pathol.* 2019; 106: 1-6. doi: 10.1016/j.yexmp.2018.11.004
- Харинцева С.В., Таскина Е.С. Значение интерлейкинов 17, 23 и антител к рецептору тиреотропного гормона в патогенезе эндокринной офтальмопатии. *Клиническая и экспериментальная тиреологическая.* 2018; 14(2): 72-80. [Charinzeva SV, Taskina ES. The role of interleukins 17, 23 and antibodies to the thyroid-stimulating hormone receptor in the pathogenesis of endocrine ophthalmopathy. *Clinical and Experimental Thyroidology.* 2018; 14(2): 72-80. (In Russ.)]. doi: 10.14341/ket9703
- Hou TY, Wu SB, Kau HC, Tsai CC. The role of oxidative stress and therapeutic potential of antioxidants in Graves' ophthalmopathy. *Biomedicines.* 2021; 9(12): 1871. doi: 10.3390/biomedicines9121871
- Görtz GE, Philipp S, Bruderek K, Jesenek C, Horstmann M, Henning Y, et al. Macrophage-orbital fibroblast interaction and hypoxia promote inflammation and adipogenesis in Graves' orbitopathy. *Endocrinology.* 2022; 164(2): bqac203. doi: 10.1210/endo/bqac203
- Werner SC. Modification of the classification of the eye changes of Graves' disease. *Am J Ophthalmol.* 1977; 83(5): 725-727. doi: 10.1016/0002-9394(77)90140-4
- Barrio-Barrio J, Sabater AL, Bonet-Farriol E, Velazquez-Villoria A, Galofre JC. Graves' ophthalmopathy: VISA versus EUGOGO classification, assessment, and management. *J Ophthalmol.* 2015; 2015: 249125. doi: 10.1155/2015/249125
- Mourits MP, Koornneef L, Wiersinga WM. Clinical criteria for the assessment of disease activity in Graves' ophthalmopathy: A novel approach. *Br J Ophthalmol.* 1989; 73(8): 639-644. doi: 10.1136/bjo.73.8.639

12. Алексеев В.В., Карпищенко А.И. *Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической и лабораторной диагностике*; 3-е изд., перераб. и доп. М.: GEOTAR-Media; 2013; 2. [Alekseev VV, Karpishchenko AI. *Medical laboratory technologies: Guideline to clinical and laboratory diagnostics*. 3rd edition, revised and enlarged. Moscow: GEOTAR-Media; 2013; 2. (In Russ.)].
13. Промыслов М.Ш., Демчук М.Л. Модификация метода определения суммарной антиоксидантной активности сыворотки крови. *Вопросы медицинской химии*. 1990; 36(4): 90-92. [Promyshlov MSh, Demchuk ML. A modified method of determination of the total serum antioxidant activity. *Voprosy meditsinskoi khimii*. 1990; 36(4): 90-92. (In Russ.)].
14. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков 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. *Transbaikalian Medical Bulletin*. 2020; 1: 140-150. (In Russ.)] doi: 10.52485/19986173\_2020\_1\_140
15. Lanzolla G, Marcocci C, Marinò M. Antioxidant therapy in Graves' orbitopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11: 608733. doi: 10.3389/fendo.2020.608733
16. Wang F, Li C, Li S, Cui L, Zhao J, Liao L. Selenium and thyroid diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023; 14: 1133000. doi: 10.3389/fendo.2023.1133000
17. Liu CT, Yen JJ, Brown DA, Song YC, Chu MY, Hung YH, et al. Targeting Nrf2 with 3H-1,2-dithiole-3-thione to moderate OXPHOS-driven oxidative stress attenuates IL-17A-induced psoriasis. *Biomed Pharmacother*. 2023; 159: 114294. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114294
18. Gross CJ, Mishra R, Schneider KS, Medard G, Wettmarshausen J, Dittlein DC, et al. K(+) efflux-independent NLRP3 inflammasome activation by small molecules targeting mitochondria. *Immunity*. 2016; 45(4): 761-773. doi: 10.1016/j.immuni.2016.08.010
19. Mogilenko DA, Haas JT, L'Homme L, Fleury S, Quemener S, Levasseur M, et al. Metabolic and innate immune cues merge into a specific inflammatory response via the UPR. *Cell*. 2019; 177(5): 1201-1216 e19. doi: 10.1016/j.cell.2019.03.018
20. Ece H, Mehmet E, Cigir BA, Yavuz D, Muammer K, Cumhuri G, et al. Serum 8-OHdG and HIF-1 $\alpha$  levels: Do they affect the development of malignancy in patients with hypoactive thyroid nodules? *Contemp Oncol (Pozn)*. 2013; 17(1): 51-57. doi: 10.5114/wo.2013.33774
21. Görtz GE, Horstmann M, Aniol B, Reyes BD, Fandrey J, Eckstein A, et al. Hypoxia-dependent HIF-1 activation impacts on tissue remodeling in Graves' ophthalmopathy-implications for smoking. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101: 4834-4842. doi: 10.1210/jc.2016-1279
22. Malkov MI, Lee CT, Taylor CT. Regulation of the hypoxia-inducible factor (HIF) by pro-inflammatory cytokines. *Cells*. 2021; 10: 2340. doi: 10.3390/cells10092340

#### Сведения об авторах

**Таскина Елизавета Сергеевна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: taskins@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6223-8888>

**Харинцева Светлана Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой офтальмологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: s.v.19.28@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8899-5465>

**Караваева Татьяна Михайловна** – кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории клинической и экспериментальной биохимии и иммунологии Научно-исследовательского института молекулярной медицины, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: KaTany1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0487-6275>

#### Information about the authors

**Elizaveta S. Taskina** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Ophthalmology, Chita State Medical Academy, e-mail: taskins@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6223-8888>

**Svetlana V. Kharintseva** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Ophthalmology, Chita State Medical Academy, e-mail: s.v.19.28@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8899-5465>

**Tatyana M. Karavaeva** – Cand. Sc. (Med.), Docent, Senior Research Officer at the Laboratory of Clinical and Experimental Biochemistry and Immunology, Research Institute of Molecular Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: KaTany1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0487-6275>

# ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

## КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА МЕТИОНИН-АМИНОПЕПТИДАЗЫ БАКТЕРИИ *THERMUS THERMOPHILUS* И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА

Быков В.В.,  
Вологжанникова А.А.,  
Трунилина М.В.,  
Кудряшов Т.А.,  
Соколов А.С.,  
Лаптева Ю.С.

Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН» (142290, г. Пушкино, просп. Науки, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Лаптева Юлия Сергеевна,  
e-mail: yulia.s.lapteva@gmail.com

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Метионин-аминопептидазы (МАП) – это класс ферментов, которые катализируют удаление N-концевого иницирующего метионина из полипептидной цепи. Бактериальные МАП рассматриваются в качестве мишеней для разработки антибактериальных препаратов широкого спектра действия, а применение МАП в биотехнологии обуславливает поиск новых МАП, исследование механизмов их функционирования и ингибирования. **Цель исследования.** Идентификация метионин-аминопептидазы в геноме *Thermus thermophilus* (Tt-МАП) и подтверждение её функциональной активности.

**Материалы и методы.** Для идентификации Tt-МАП был проведён анализ генома *Thermus thermophilus* в базе данных GeneBank. Для клонирования в векторе pHUE предполагаемой открытой рамки считывания (ОРС), кодирующей Tt-МАП, были использованы современные методы генной инженерии (полимеразная цепная реакция, рестрикция, трансформация, гетерологичная экспрессия). Для получения очищенного препарата фермента были использованы различные методы хроматографии (аффинная, ионообменная и эксклюзионная). Для подтверждения специфической функциональной аминокептидазной активности фермента использовали флюорогенный субстрат L-метионин 7-амино-4-метилкумарин (Met-АМС).

**Результаты.** В геноме бактерии *Thermus thermophilus* идентифицирована ОРС, кодирующая МАП. На основании нуклеотидной последовательности были составлены олигонуклеотидные праймеры. ОРС клонирована в векторе, и проведена наработка рекомбинантного фермента в клетках *E. coli*. С использованием ряда последовательных хроматографий разработана методика очистки фермента до гомогенного состояния, позволяющая получить до 30 мг с 1 л культуры. С использованием флюорогенного субстрата Met-АМС была показана специфическая функциональная активность фермента (фермент отщепляет метионин от субстрата).

**Заключение.** Нами проведена идентификация МАП *Thermus thermophilus* и проверка её функциональной активности. Показано, что продукт ОРС ТТНА1670 кодирует специфичную к метионину аминокептидазу, т. е. метионин-аминопептидазу. Фермент может быть использован в различных отраслях биотехнологии и научных исследованиях.

**Ключевые слова:** метионин-аминопептидаза, *Thermus thermophilus*, гетерологичная экспрессия, удаление N-концевого метионина

Статья поступила: 26.02.2024

Статья принята: 16.09.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Быков В.В., Вологжанникова А.А., Трунилина М.В., Кудряшов Т.А., Соколов А.С., Лаптева Ю.С. Клонирование гена метионин-аминопептидазы бактерии *Thermus thermophilus* и подтверждение функциональной активности фермента. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 75-83. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.8

## CLONING OF THE *THERMUS THERMOPHILUS* METHIONINE AMINOPEPTIDASE GENE AND CONFIRMATION OF THE ENZYME FUNCTIONAL ACTIVITY

Bykov V.V.,  
Vologzhannikova A.A.,  
Trunilina M.V.,  
Kudryashov T.A.,  
Sokolov A.S.,  
Lapteva Yu.S.

Institute for Biological Instrumentation  
of the Russian Academy of Sciences,  
Pushchino Scientific Center  
for Biological Research  
of the Russian Academy of Sciences  
(Nauki Ave. 3, Pushchino 142290,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
Yulia S. Lapteva,  
e-mail: yulia.s.lapteva@gmail.com

### ABSTRACT

**Background.** Methionine aminopeptidases (MAPs) are a class of enzymes that catalyze the removal of the N-terminal initiator methionine from a polypeptide chain. Bacterial MAPs are considered as targets for the development of broad-spectrum antibacterial drugs, and using MAPs in biotechnology necessitates the search for new MAPs and the study of their functioning and inhibition mechanisms.

**The aim of the study.** To identify methionine aminopeptidase in the *Thermus thermophilus* genome (Tt-MAP) and to confirm its functional activity.

**Materials and methods.** To identify Tt-MAP, we analyzed the *Thermus thermophilus* genome in the GeneBank database. Modern genetic engineering techniques (polymerase chain reaction, restriction, transformation, heterologous expression) were used to clone the putative open reading frame (ORF) encoding Tt-MAP in the pHUE vector. Various chromatography techniques (affinity, ion exchange, and size-exclusion) were used to obtain a purified enzyme preparation. The fluorogenic substrate L-methionine 7-amino-4-methylcoumarin (Met-AMC) was used to confirm the specific functional aminopeptidase activity of the enzyme.

**Results.** An ORF encoding MAP was identified in the *Thermus thermophilus* bacterium genome. Oligonucleotide primers were designed based on the nucleotide sequence. The ORF was cloned in the vector, and the recombinant enzyme was produced in *E. coli* cells. A method for purifying the enzyme to a homogeneous state was developed using a series of sequential chromatographies, allowing up to 30 mg to be obtained from 1 liter of culture. Using the fluorogenic substrate Met-AMC, the specific functional activity of the enzyme was demonstrated (the enzyme cleaves methionine from the substrate).

**Conclusion.** We have identified the *Thermus thermophilus* MAP and tested its functional activity. It has been shown that the ORF product TTHA1670 encodes a methionine-specific aminopeptidase, i. e. methionine aminopeptidase. The enzyme can be used in various fields of biotechnology and scientific research.

**Key words:** methionine aminopeptidase, *Thermus thermophilus*, heterologous expression, removal of N-terminal methionine

Received: 26.02.2024  
Accepted: 16.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Bykov V.V., Vologzhannikova A.A., Trunilina M.V., Kudryashov T.A., Sokolov A.S., Lapteva Yu.S. Cloning of the *Thermus thermophilus* methionine aminopeptidase gene and confirmation of the enzyme functional activity. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 75-83. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.8

## ВВЕДЕНИЕ

Метионин-аминопептидазы (МАП) – это класс ферментов, которые катализируют удаление N-концевого иницирующего метионина из полипептидной цепи (NME, N-terminal methionine excision). Данная посттрансляционная модификация обнаружена у всех организмов, от бактерий до высших эукариот, и затрагивает 50–70 % клеточных белков [1]. Показано, что удаление N-концевого метионина необходимо для правильной субклеточной локализации белков, осуществляет контроль продолжительности жизни белков и предшествует другим посттрансляционным модификациям, например, N-концевому ацетилированию [1], миристоилированию, метилированию белков и др. [2]. Удаление N-концевого метионина катализируется специфическими ферментами – метионин-аминопептидазами (МАП). МАП из разных организмов различаются по субстратной специфичности, а эффективность NME ограничивается радиусом боковой цепи ( $< 1,29 \text{ \AA}$ ) предпоследнего остатка, т. е. второго остатка после метионина. Обычно это небольшой, незаряженный остаток, такой как Gly, Ala, Ser, Pro, Thr или Val [3, 4]. Специфичность МАП *E. coli* убывает в ряду Ala > Gly > Ser > Pro > Thr > Val, а МАП архея *P. furiosus* в ряду Ala > Gly > Pro > Ser [5].

МАП эволюционно близки к креатиназе, пролидазе и аминопептидазе Р и принадлежат к семейству M24 (клан MG) [6]. Экзопептидазы клана MG представляют собой металл-зависимые ферменты, для активности которых требуются два иона  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  или  $\text{Fe}^{2+}$ .  $\text{Co}^{2+}$  является одним из лучших активаторов ферментов данного класса. В МАП из *Escherichia coli* (Ec-МАП) два иона кобальта связаны лигандами пяти аминокислотных остатков – один ион кобальта координируется Asp108, His171 и Glu204, второй – Asp97, Asp108 и Glu235 [7]. Константы связывания ионов  $\text{Co}^{2+}$  составляют  $0,3 \pm 0,2 \text{ мкМ}$  и  $\sim 2,5 \text{ мМ}$  для каждого из центров соответственно [8, 9].

Семейство МАП делится на два типа – тип I и тип II. Тип II характеризуется вставкой из  $\sim 60$  аминокислот в аминопептидазный домен. В бактериях функционирует только МАП I типа, а в археях только МАП II типа [10]. В клетках эукариот обнаружены МАП I и II типа [11, 12]. Эти ферменты жизненно необходимы для роста и развития как про-, так и эукариот, а делеции генов МАП летальны для организма. В клетках эукариот МАП выполняют регуляторную функцию в ангиогенезе и прогрессировании опухолей и рассматриваются в качестве мишеней для терапии различных видов опухолей и паразитарных инфекций [13–17]. Бактериальные МАП интересны в качестве мишеней для разработки антибактериальных препаратов селективного действия [18–22]. Кроме того, МАП применяют в технологии пищевой промышленности, научных исследованиях и биотехнологии получения рекомбинантных ферментов, белков, пептидов, гормонов (например, интерферона альфа, ряда трансфераз, гормона роста и др.) [5, 23, 24]. Всё это обуславливает актуальность изучения механизмов функционирования МАП и их ингибирования. В настоящее время хорошо изучены МАП патогенных бактерий, однако нет исследований, посвящён-

ных МАП из термофильных бактерий. Ферменты бактерий рода *Thermus*, такие как полимеразы, протеазы, фосфатазы и др., широко применяются в различных областях биотехнологии ввиду их высокой стабильности к широкому диапазону температур, pH и денатурирующих веществ.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Идентификация метионин-аминопептидазы в геноме *Thermus thermophilus* и подтверждение её функциональной активности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Штаммы бактерий, плазмиды и условия культивирования

В качестве источника гена МАП использовали геномную ДНК бактерии *T. thermophilus* HB8 (Tt-МАП) Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ В-1605). Штаммы *E. coli* E. cloni (F-mcrA  $\Delta$ (mrr-hsdRMS-mcrBC) endA1 recA1  $\Phi$ 80dlacZ $\Delta$ M15  $\Delta$ lacX74 araD139  $\Delta$ (ara,leu)7697 galU galK rpsL nupG  $\lambda$ -tonA (StrR)) и BL21(DE3) (fhuA2 [lon] ompT gal ( $\lambda$  DE3) [dcm]  $\Delta$ hdsS  $\lambda$  DE3 =  $\lambda$  sBamHI  $\Delta$  EcoRI-B int::(lacI::PlacUV5::T7 ген1) i21  $\Delta$  nin5) использовали в качестве хозяев для генетических манипуляций с плазмидами и для сверхэкспрессии белка соответственно. Плазмиду pHUE, любезно предоставленную R.T. Baker и соавт. [25], использовали для клонирования и экспрессии в *E. coli* BL21(DE3) OPG метионин-аминопептидазы *T. thermophilus*.

*T. thermophilus* выращивали при 60 °C в течение 16 ч при интенсивной аэрации со скоростью 180 об./мин в шейкере-инкубаторе или на чашках со средой *Thermus ruber* (5,0 г пептона, 1,0 г дрожжевого экстракта, 1,0 г крахмала), агаризованной 1,2%-м бакто-агаром. Штаммы *E. coli* выращивали при 37 °C в среде LB с добавлением ампициллина (100 мг/л) для селекции. Геномную ДНК *T. thermophilus* HB8 (идентификатор генома NCBI: NC\_006461.1) получали при помощи коммерческого набора для выделения геномной ДНК (Евроген).

### Клонирование гена метионин-аминопептидазы

Ген метионин-аминопептидазы *TTNA1670* (идентификатор гена NCBI: 3168294) был амплифицирован из геномной ДНК *T. thermophilus* с помощью ПЦР с использованием праймеров 5-TTCCGCGGTGGTGCCATCAAGCTGAAAAGCCCCTGG-3 и 5-TTTGGATCCTTACTACTCGGCCCGCGCCAG-3. Ген был клонирован под контроль промотора фага T7 между сайтами рестрикции *SacII* и *BamHI* в вектор pHUE. При такой стратегии клонирования целевой белок Tt-МАП находится в единой полипептидной цепи с убиквитином (UB-МАП), который предотвращает агрегацию рекомбинантных белков и позволяет слитым с ним белкам находиться в растворимом состоянии. На N-конце убиквитин содержит 6 остатков гистидина, что позволяет использовать металл-хелатную хроматографию для очистки белка. Вектор pHUE был любезно предоставлен коллегами из Австралии [25]. Нуклеотидные последователь-

ности плазмид подтверждали рестрикционным анализом и автоматическим секвенированием ДНК вставок.

### **Экспрессия фермента Tt-МАП с убиквитином в клетках *E. coli***

Сконструированные плазмиды были трансформированы в экспрессионный штамм клеток *E. coli* BL21 (DE3). Клетки высевали на питательную среду LB с селективным антибиотиком ампициллином. Для наработки фермента в препаративных количествах клетки нарабатывали в объёме 1 л среды 2YT с ампициллином в концентрации 100 мкг/мл. Когда культура достигала оптической плотности 0,6–0,8 ОЕ, проводили индукцию синтеза белка путём добавления индуктора изопропил- $\beta$ -D-1-тиогалактопиранозид (ИПТГ) в концентрации 0,5 мМ и далее растили при температуре 22 °С в течение 3 ч. Биомассу осаждали при помощи центрифугирования и хранили при –70 °С или же сразу использовали для выделения. Анализ индукции проводили при помощи электрофореза в 15%-м полиакриламидном геле (ПААГ) в трис-глицериновом буфере.

### **Методика выделения и очистки фермента Tt-МАП**

Биомассу клеток ресуспендировали в 30 мл буфера для лизиса (буфер А: 50 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1 М NaCl, 5 мМ имидазола, 1 мМ фенилметилсульфонилфторида (ФМСФ) – ингибитора сериновых протеаз, 1 мМ бета-меркаптоэтанол ( $\beta$ -МЕ), 0,1 мг/мл лизоцима, pH = 8,0) и дезинтегрировали при помощи ультразвукового гомогенизатора Sonicator Q125 (Qsonica 125, США) при 75 % мощности в режиме работа/отдых прибора 15 с/30 с в течение часа на ледяной водяной бане. Растворимую фракцию белков отделяли от клеточного дебриса при помощи центрифугирования при 25000 g в течение 40 мин при 4 °С. Для очистки белка использовали программируемую хроматографическую станцию AKTA Start (GE Healthcare, США). Супернатант наносили на колонку Bio-Scale Mini Profinity IMAC (Bio-Rad, США), заряженную никелем, объёмом 5 мл, уравновешенную буфером А, со скоростью 0,5 мл/мин. Затем колонку промывали десятью объёмами (50 мл) буфера А со скоростью 1 мл/мин. Белок элюировали буфером Б (50 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 300 мМ имидазола, pH = 7,5) при скорости 0,5 мл/мин и собирали фракции по 1 мл. По результатам электрофоретического анализа фракции, содержащие химерный белок убиквитин-МАП (UB-МАП), объединяли, трижды подвергали диализу против 100-кратного избытка буфера 20 мМ Трис (pH = 8,2). Одновременно для расщепления полипептидной цепи химерного белка UB-МАП на последовательность убиквитина (UB) и целевого белка (Tt-МАП) проводили обработку химерного белка убиквитин-специфичной протеазой Usp2 (50–100-кратный молярный избыток целевого белка над протеазой) в течение 16 ч при 37 °С. При диализе наблюдается образование осадка ряда клеточных белков, который удаляется при помощи последующего центрифугирования при 25000 g в течение 40 мин при 4 °С. Для очистки Tt-МАП от убиквитина использовали ионообменную хро-

матографию и программируемую хроматографическую станцию AKTA Start (GE Healthcare, США). Раствор белка наносили на анионообменную колонку (объёмом 6 мл) TOYOPEARL® SuperQ-650 (Tosoh Bioscience, Япония), уравновешенную буфером 20 мМ Трис pH = 8,2, со скоростью 0,5 мл/мин. При этом убиквитин не садится на колонку и выходит в проскоке. Для удаления примесных белков колонку промывали буфером 20 мМ Трис pH = 8,2 со скоростью 1 мл/мин. Целевой белок Tt-МАП элюировали линейным градиентом NaCl от 0 до 1,5 М в буферной системе 20 мМ Трис pH = 8,2. Объём градиента составил 30 мл, скорость потока – 1 мл/мин. Затем белок Tt-МАП дополнительно очищали при помощи гель-фильтрации с использованием колонки Hi Prep™ 26/60 Sephacryl® S-100 HR (Cytiva, США), уравновешенной буфером 20 мМ Трис pH = 8,2 (скорость потока 1 мл/мин). Очищенный белок подвергали диализу при температуре 4 °С против буфера 20 мМ Трис pH = 8,0, 50 % глицерина, 1 мМ  $\beta$ -МЕ и хранили при –20 °С.

Концентрацию белка измеряли и рассчитывали при помощи аналитического спектрофотометра Agilent Technologies Cary 100 с учётом молекулярной массы (27819 Да) и молярного коэффициента экстинкции ( $30940 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), рассчитанных на основе аминокислотной последовательности согласно С.Н. Расе и соавт. [26].

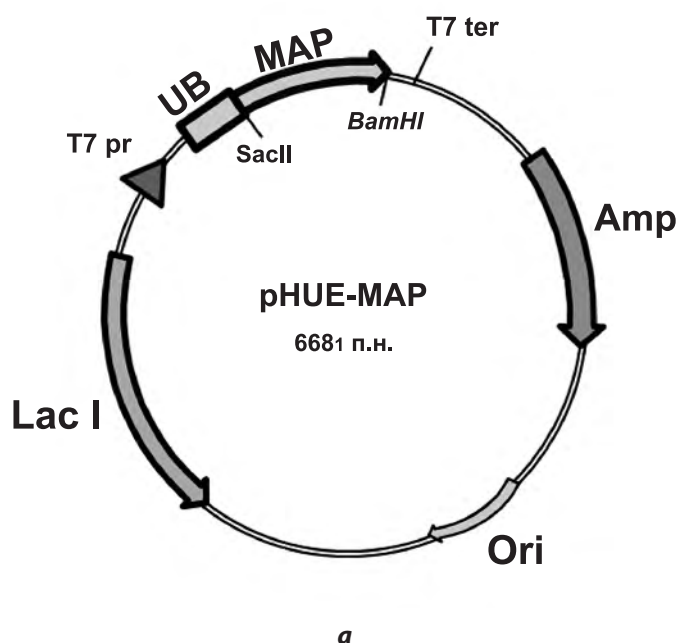
### **Проверка функциональной активности метионин-аминопептидазы**

Функциональную активность Tt-МАП измеряли с помощью специфического субстрата L-метионин-7-амино-4-метилкумарина (Met-АМС). После отщепления L-метионина 7-амино-4-метилкумарин флуоресцирует (длина волны возбуждения 380 нм, эмиссии – 460 нм). Анализ проводили в 100 мкл реакционной смеси, содержащей 25 мМ HEPES pH = 7,5, 150 мМ KCl, 100 мкМ  $\text{CoCl}_2$ , 1–4 мкМ Tt-МАП и различные концентрации субстрата Met-АМС (0–600 мкМ). Сухой Met-АМС растворяли в диметилсульфоксиде и хранили при температуре –20 °С. Tt-МАП добавляли к реакционной смеси без Met-АМС и инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. Реакцию запускали добавлением Met-АМС, отслеживание эмиссии флуоресценции высвободившихся свободных АМС осуществляли с использованием ридера для микропланшетов BioTek Synergy H1 и чёрных 384-луночных микропланшетов Greiner Bio-One #781906. Длина волны возбуждения флуоресценции – 380 нм, эмиссии – 460 нм. Измерения проводили при температуре 45 °С (максимально возможная температура эксплуатации прибора) в течение 1 ч с интервалом в 1 мин (60 измерений), с орбитальным встряхиванием перед каждым измерением. Эксперименты проводились однократно. Для расчёта кинетических параметров Tt-МАП мы использовали следующие концентрации субстрата Met-АМС: 25, 100, 200, 300, 400 и 500 мкМ. Кинетические параметры определялись из наклона кривых флуоресценции при различных концентрациях субстрата путём их обработки при помощи программного обеспечения Microcal OriginPro 9.1 (OriginLab Corp., США). Среднее значение константы Михаэлиса – Ментен и стандартное отклоне-

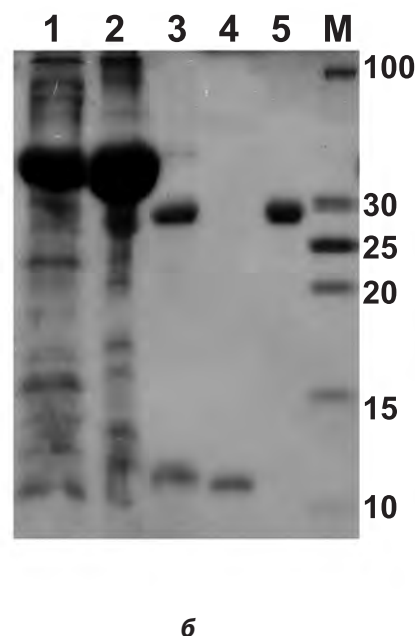


белка использовали ИПТГ. При подборе условий индукции мы определили, что оптимальная концентрация индуктора – 0,5 мМ ИПТГ, температура культивирования – 22 °С, время роста клеток после индукции – 3 ч (рис. 2б). Электрофорез клеток *E. coli* с плазмидой pHUE-MAP после 3 ч индукции представлен на дорожке 1 рисунка 2б. Как видно, в клетках нарабатывается химерный белок (UB-МАП) массой примерно ~40 кДа, что соответствует сумме расчётных масс Тt-МАП (27,8 кДа) и убиквитина (~10 кДа). Убиквитин содержит шесть остатков гистидина на N-конце, что позволило нам очистить химерный белок UB-МАП при помощи аффинной металл-хелатной хроматографии. Тотальный препарат элюции с колонки Bio-Scale Mini Profinity IMAC (Bio-Rad, США) представлен на дорожке 2 рисунка 2б. Как видно из рисунка, помимо целевого белка UB-МАП, препарат содержит примеси других клеточных белков *E. coli*. Для дальнейшей

очистки Тt-МАП от примесей и убиквитина проводили обработку UB-МАП убиквитин-специфичной протеазой (Usp2) и разделяли их при помощи анионообменной хроматографии. Хочется отметить, что при переводе препарата из буфера 50 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 300 мМ имидазола, рН = 7,5 в буфер 20 мМ Трис, рН = 8,2 ряд клеточных белков выпадают в осадок, что способствует дополнительной очистке целевого белка. Препарат UB-МАП после гидролиза Usp2 и до анионообменной хроматографии представлен на дорожке 3 рисунка 2б. Как видно, препарат представлен двумя белками массой ~10 кДа и ~28 кДа, что соответствует убиквитину и Тt-МАП соответственно. При дальнейшей очистке препарата на анионообменном сорбенте TOYOPEARL SuperQ-650, убиквитин не садится на колонку и выходит в проскоке при нанесении (рис. 2, дорожка 4), а элюция Тt-МАП достигается за счёт градиента NaCl (рис. 2, дорожка 5). Тt-МАП



**РИС. 2.**  
**а** – схема плазмидной конструкции pHUE-MAP, показывающая область убиквитина (UB; серый прямоугольник), область метионин-аминопептидазы (MAP; серая стрелка), промотор РНК-полимеразы Т7 (тёмно-серый треугольник) и другие области (серые стрелки), включая ColE1-ориджин репликации (Ori), ген репрессора LacI (LacI) и β-лактамазы (Amp). Стрелки указывают направление транскрипции. Показаны сайты рестрикции SacII/BamHI, использованные для клонирования гена Тt-МАП.  
**б** – экспрессия в штамме *E. coli* BL21(DE3) и очистка Тt-МАП, отслеживаемая при помощи электрофореза в 15%-м ПААГ в денатурирующих условиях (окраска Кумасси бриллиантовым синим R-250): дорожка 1 – растворимый экстракт клеток после индукции; дорожка 2 – аффинно очищенный химерный белок UB-МАП до расщепления протеазой Usp2; дорожка 3 – аффинно очищенный химерный белок UB-МАП после расщепления протеазой Usp2; дорожка 4 – отделение молекулы убиквитина (дорожка 4) от Тt-МАП (дорожка 5); М – маркеры молекулярной массы (кДа)



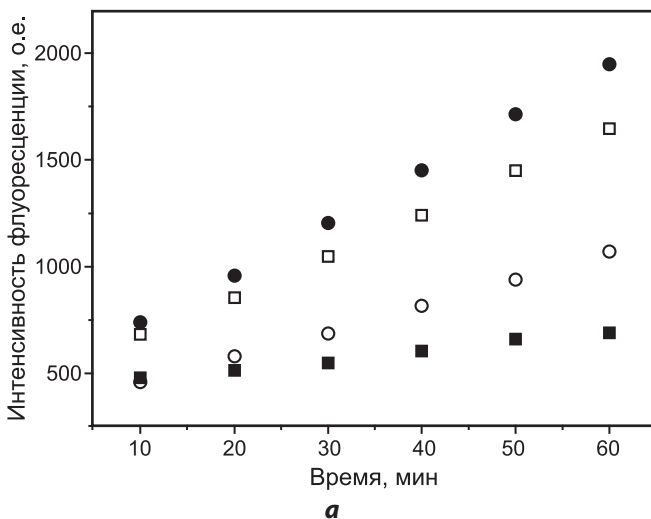
**FIG. 2.**  
**а** – plasmid map of pHUE-MAP vector showing the ubiquitin (UB) coding region (gray box), methionine aminopeptidase (MAP) region (gray arrow), T7 RNA polymerase promoter (dark gray triangle), and other regions (gray arrows), including the ColE1 origin of replication (Ori), the LacI repressor gene (LacI), and β-lactamases (Amp). Arrows indicate the direction of transcription. The SacII/BamHI restriction sites used for cloning Tt-MAP gene are shown.  
**б** – expression in *E. coli* strain BL21(DE3) and purification of Tt-MAP, monitored by reducing SDS-PAGE (15%; Coomassie brilliant blue R-250 staining): lane 1 – soluble cell extract after induction; lane 2 – affinity purified UB-MAP chimeric protein before cleavage by Usp2 protease; lane 3 – affinity purified UB-MAP chimeric protein after cleavage by Usp2 protease; separation of the ubiquitin molecule (lane 4) from Tt-MAP (lane 5) on TOYOPEARL SuperQ-650; M – molecular mass markers (kDa)

дополнительно очищали с использованием метода гель-фильтрации, переводили фермент в раствор с глицерином и хранили при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Таким образом, нами разработана методика получения в клетках *E. coli* рекомбинантного фермента МАП из *T. thermophilus*, позволяющая получать до 30 мг/л высокоочищенного препарата белка.

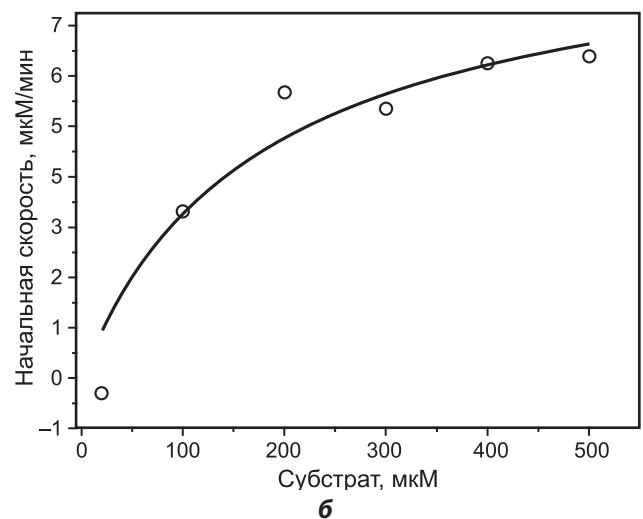
**Проверка функциональной активности метионин-аминопептидазы**

Для проверки функциональной активности различных МАП используют гидролизуемые хромогенные субстраты, такие как L-метионин паранитроанилид (Met-pNA) [29] или Met-АМС [30]. Для последнего константы Михаэлиса ( $K_m$ ) таких ферментов, как МАП 2 и аминопептидаза N, составляют 310 и 377 мкМ соответственно ( $\text{pH} = 7,5$ , температура  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Для проверки активности Tt-МАП мы использовали субстрат Met-АМС. Реакцию проводили в буферной системе HEPES  $\text{pH} = 7,5$  (25 мМ) при максимально возможной для планшетного ридера температуре –  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Поскольку МАП – это металл-зависимые протеазы, то для стимуляции активности Tt-МАП использовали ионы кобальта (0,1 мМ). С целью определения оптимального уровня сигнала флуоресценции использовалось разное соотношение фермент/субстрат. В качестве отрицательного контроля и для определения фоновой флуоресценции мы использовали реакцию, не содержащую Tt-МАП, но содержащую Met-АМС. 7-амино-4-метилкумарин, высвобождающийся при отщеплении метионина от Met-АМС, флуоресцирует при  $\lambda_{\text{возб.}} = 380\text{ нм}$ ,  $\lambda_{\text{исп.}} = 460\text{ нм}$ . График за-

висимости интенсивности флуоресценции от времени при различных соотношениях фермент/субстрат приведён на рисунке 3. Как видно из рисунка 3а, на протяжении 60 мин уровень фоновой флуоресценции в контроле не превышает 600 единиц флуоресценции, в то время как в опытных образцах происходит значительное усиление сигнала из-за появления в реакции свободного АМС. Это свидетельствует о том, что Tt-МАП проявляет специфическую функциональную активность в отношении метионина и следовательно является метионин аминопептидазой. Диапазон констант для МАП из различных видов бактерий варьирует от 250 до 980 мкМ [11]. Для расчёта  $K_m$  Tt-МАП мы использовали значения начальных скоростей реакций гидролиза ферментом следующих концентраций Met-АМС: 25, 100, 200, 300, 400 и 500 мкМ. Кинетические кривые обрабатывали при помощи программного обеспечения Microcal OriginPro 9.1 (OriginLab Corp., США). Среднее значение константы Михаэлиса – Ментен и стандартное отклонение получены из подгонки экспериментальных данных согласно уравнению Михаэлиса – Ментен. Рассчитанная нами  $K_m$  для Tt-МАП в отношении Met-АМС при температуре  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  составляет  $173 \pm 93\text{ мкМ}$  (рис. 3б), что свидетельствует о высоком сродстве Tt-МАП к анализируемому субстрату. Очевидно, что температура  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  не является оптимальной для работы фермента Tt-МАП из термофильной бактерии (фермент стабилен до  $79\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) [31], однако это максимально возможная температура работы прибора для считывания кинетических параметров гидролиза Met-АМС. В дальнейшем мы планируем решить



**РИС. 3.** Проверка функциональной активности Tt-МАП: **а** – график зависимости интенсивности флуоресценции в реакции гидролиза Met-АМС при различных соотношениях фермент/субстрат (чёрный квадрат (■) – точки в контрольной реакции с Met-АМС без Tt-МАП; пустой кружок (○) – точки в реакции с 100 мкМ Met-АМС и 4 мкМ Tt-МАП; пустой квадрат (□) – точки в реакции с 200 мкМ Met-АМС и 4 мкМ Tt-МАП; чёрный кружок (●) – точки в реакции с 200 мкМ Met-АМС и 8 мкМ Tt-МАП); **б** – график Михаэлиса – Ментен гидролиза Met-АМС ферментом Tt-МАП в 25 мМ HEPES, 150 мМ KCl, 0,1 мМ CoCl<sub>2</sub> при 45 °C



**FIG. 3.** Testing the functional activity of Tt-MAP: **a** – graph of fluorescence intensity in the Met-AMC hydrolysis reaction at different enzyme/substrate ratios (black squares (■) indicate the points in the control reaction with Met-AMC without Tt-MAP; empty circles (○) indicate points in the reaction with 100 μM of Met-AMC and 4 μM of Tt-MAP; empty squares (□) indicate points in the reaction with 200 μM of Met-AMC and 4 μM of Tt-MAP; black circles (●) indicate the points in the reaction with 200 μM of Met-AMC and 8 μM of Tt-MAP); **б** – Michaelis – Menten plot for the hydrolysis of Met-AMC by Tt-MAP in 25 mM HEPES, 150 mM of KCl, 0.1 mM of CoCl<sub>2</sub> at 45 °C

данную техническую проблему и исследовать температурный оптимум работы фермента и другие параметры.

Таким образом, проведённые в данной работе исследования, полученные результаты и разработанные методики создают хорошую базу для дальнейшего изучения фермента Tt-МАП из *T. thermophilus* и возможностей его применения в биотехнологии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения данной работы нами проведена идентификация МАП *Thermus thermophilus* и проведена проверка её функциональной активности. Нами показано, что продукт ОРС *ТТНА1670* кодирует специфичную к метионину аминопептидазу, т. е. метионин-аминопептидазу. Разработанная нами оригинальная методика позволяет получать до 30 мг высокоочищенного фермента с 1 л культуры *E. coli*. Фермент может быть использован в различных отраслях биотехнологии и научных исследованиях для отщепления N-концевого метионина в белках и пептидах.

### Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-24-00563 (Соколов А.С.).

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Соблюдение этических норм

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gamerding M, Deuerling E. Cotranslational sorting and processing of newly synthesized proteins in eukaryotes. *Trends Biochem Sci.* 2024; 49(2): 105-118. doi: 10.1016/j.tibs.2023.10.003
- Chen L, Kashina A. Post-translational modifications of the protein termini. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9: 719590. doi: 10.3389/fcell.2021.719590
- Nguyen KT, Kim JM, Park SE, Hwang CS. N-terminal methionine excision of proteins creates tertiary destabilizing N-degrons of the Arg/N-end rule pathway. *J Biol Chem.* 2019; 294(12): 4464-4476. doi: 10.1074/jbc.RA118.006913
- Wingfield PT. N-terminal methionine processing. *Curr Protoc Protein Sci.* 2017; 88: 6.14.1-6.14.3. doi: 10.1002/cpps.29
- Arif A, Mohammed K, Nadeem MS. Biochemical and *in silico* evaluation of recombinant *E. coli* aminopeptidase and *in vitro* processed human interferon alpha-2b. *Turk J Biol.* 2018; 42(3): 240-249. doi: 10.3906/biy-1801-83
- Rawlings ND. Using the MEROPS database for investigation of lysosomal peptidases, their inhibitors, and substrates. *Methods Mol Biol.* 2017; 1594: 213-226. doi: 10.1007/978-1-4939-6934-0\_14
- Roderick SL, Matthews BW. Structure of the cobalt-dependent methionine aminopeptidase from *Escherichia coli*: A new type of proteolytic enzyme. *Biochemistry.* 1993; 32(15): 3907-3912. doi: 10.1021/bi00066a009
- D'souza VM, Bennett B, Copik AJ, Holz RC. Divalent metal binding properties of the methionyl aminopeptidase from *Escherichia coli*. *Biochemistry.* 2000; 39(13): 3817-3826. doi: 10.1021/bi9925827
- Meng L, Ruebush S, D'souza VM, Copik AJ, Tsunasawa S, Holz RC. Overexpression and divalent metal binding properties of the methionyl aminopeptidase from *Pyrococcus furiosus*. *Biochemistry.* 2002; 41(23): 7199-7208. doi: 10.1021/bi020138p
- Bala S, Reddi B, Addlagatta A. A single amino acid difference between archaeal and human type 2 methionine aminopeptidases differentiates their affinity towards ovalicin. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom.* 2023; 1871(2): 140881. doi: 10.1016/j.bbapap.2022.140881
- Bala SC, Haque N, Pillalamarri V, Reddi R, Kashyap R, Marapaka AK, et al. Discovery of a new class of type 1 methionine aminopeptidases that have relaxed substrate specificity. *Int J Biol Macromol.* 2019; 129: 523-529. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.02.055
- Arya T, Reddi R, Kishor C, Ganji RJ, Bhukya S, Gumpena R, et al. Identification of the molecular basis of inhibitor selectivity between the human and streptococcal type I methionine aminopeptidases. *J Med Chem.* 2015; 58(5): 2350-2357. doi: 10.1021/jm501790e
- Goya Grocin A, Kallemeijn WW, Tate EW. Targeting methionine aminopeptidase 2 in cancer, obesity, and autoimmunity. *Trends Pharmacol Sci.* 2021; 42(10): 870-882. doi: 10.1016/j.tips.2021.07.004
- Friese-Hamim M, Ortiz Ruiz MJ, Bogatyrova O, Keil M, Rohdich F, Blume B, et al. Novel methionine aminopeptidase 2 inhibitor M8891 synergizes with VEGF receptor inhibitors to inhibit tumor growth of renal cell carcinoma models. *Mol Cancer Ther.* 2024; 23(2): 159-173. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-23-0102
- Watanabe N, Saito-Nakano Y, Kurisawa N, Otomo K, Suenaga K, Nakano K, et al. Fumagillin inhibits growth of the enteric protozoan parasite *Entamoeba histolytica* by covalently binding to and selectively inhibiting methionine aminopeptidase 2. *Antimicrob Agents Chemother.* 2023; 67(11): e0056023. doi: 10.1128/aac.00560-23
- Carducci MA, Wang D, Habermehl C, Bödding M, Rohdich F, Lignet F, et al. A first-in-human, dose-escalation study of the methionine aminopeptidase 2 inhibitor M8891 in patients with advanced solid tumors. *Cancer Res Commun.* 2023; 3(8): 1638-1647. doi: 10.1158/2767-9764.CRC-23-0048
- Steinberg E, Esa R, Schwob O, Stern T, Orehov N, Zamir G, Hubert A, et al. Methionine aminopeptidase 2 as a potential target in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Am J Transl Res.* 2022; 14(9): 6243-6255.
- Helgren TR, Chen C, Wangtrakuldee P, Edwards TE, Staker BL, Abendroth J, et al. *Rickettsia prowazekii* methionine aminopeptidase as a promising target for the development of antibacterial agents. *Bioorg Med Chem.* 2017; 25(3): 813-824. doi: 10.1016/j.bmc.2016.11.013
- Zhang M, He S, Han X, Cui J, Wang H, Huo X, et al. Discovery of potential antituberculosis agents targeted methionine aminopeptidase 1 of *Mycobacterium tuberculosis* by the developed fluorescent probe. *Anal Chem.* 2023; 95(44): 16210-16215. doi: 10.1021/acs.analchem.3c02952
- Ye M, Xiong L, Dong Y, Xie C, Zhang Z, Shen L, et al. The potential role of the methionine aminopeptidase gene *PxMetAP1*

in a cosmopolitan pest for *Bacillus thuringiensis* toxin tolerance. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(21): 13005. doi: 10.3390/ijms232113005

21. Reddi B, Kishor C, Jangam A, Bala S, Rajeswari Batchu U, Gundla R, et al. Regioselectivity in inhibition of peptide deformylase from *Haemophilus influenzae* by 4- vs 5-azaindole hydroxamic acid derivatives: Biochemical, structural and antimicrobial studies. *Bioorg Chem.* 2022; 128: 106095. doi: 10.1016/j.bioorg.2022.106095

22. Bala S, Yellamanda KV, Kadari A, Ravinuthala VSU, Kattula B, Singh OV, et al. Selective inhibition of *Helicobacter pylori* methionine aminopeptidase by azaindole hydroxamic acid derivatives: Design, synthesis, *in vitro* biochemical and structural studies. *Bioorg Chem.* 2021; 115: 105185. doi: 10.1016/j.bioorg.2021.105185

23. Nandan A, Nampootheri KM. Therapeutic and biotechnological applications of substrate specific microbial aminopeptidases. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2020; 104(12): 5243-5257. doi: 10.1007/s00253-020-10641-9

24. Pasquini M, Grosjean N, Hixson KK, Nicora CD, Yee EF, Lipton M, et al. Zng1 is a GTP-dependent zinc transferase needed for activation of methionine aminopeptidase. *Cell Rep.* 2022; 39(7): 110834. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110834

25. Baker RT, Catanzariti AM, Karunasekara Y, Soboleva TA, Sharwood R, Whitney S, et al. Using deubiquitylating enzymes as research tools. *Methods Enzymol.* 2005; 398: 540-554. doi: 10.1016/S0076-6879(05)98044-0

26. Pace CN, Vajdos F, Fee L, Grimsley G, Gray T. How to measure and predict the molar absorption coefficient of a protein. *Protein Sci.* 1995; 4(11): 2411-2423. doi: 10.1002/pro.5560041120

27. You C, Lu H, Sekowska A, Fang G, Wang Y, Gilles AM, et al. The two authentic methionine aminopeptidase genes are differentially expressed in *Bacillus subtilis*. *BMC Microbiol.* 2005; 5: 57. doi: 10.1186/1471-2180-5-57

28. Sievers F, Higgins DG. Clustal Omega for making accurate alignments of many protein sequences. *Protein Sci.* 2018; 27(1): 135-145. doi: 10.1002/pro.3290

29. Reddi R, Arya T, Kishor C, Gumpena R, Ganji RJ, Bhukya S, et al. Selective targeting of the conserved active site cysteine of *Mycobacterium tuberculosis* methionine aminopeptidase with electrophilic reagents. *FEBS J.* 2014; 281(18): 4240-4248. doi: 10.1111/febs.12847

30. Irfan I, Ali A, Reddi B, Khan MA, Hasan P, Ahmed S, et al. Design, synthesis and mechanistic studies of novel isatin-pyrazole hydrazone conjugates as selective and potent bacterial MetAP inhibitors. *Antibiotics (Basel).* 2022; 11(8): 1126. doi: 10.3390/antibiotics11081126

31. Lapteva YS, Bykov VV, Trunilina MV, Boldaevsky IS, Kudryashov TA, Vologzhannikova AA, et al. Obtaining overstable methionine aminopeptidase for the removal of methionine from recombinant proteins. *Journal Biomed.* 2023; 19(3E): 47-51. doi: 10.33647/2713-0428-19-3E-47-51

#### Сведения об авторах

**Быков Вячеслав Владимирович** – техник лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: naggilan88@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-3978-7862>

**Воложаникова Алиса Андреевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: lisiks.av@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5550-2129>

**Трунилина Мария Викторовна** – инженер-биотехнолог лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: masha.trunilina@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-9171-3083>

**Кудряшов Тимофей Андреевич** – младший научный сотрудник лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: kudryashovtimm@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-2092-7028>

**Соколов Андрей Сергеевич** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: 212sok@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7145-251X>

**Лapteва Юлия Сергеевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории новых методов в биологии, Институт биологического приборостроения с опытным производством РАН – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», e-mail: yulia.s.lapteva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6607-9861>

#### Information about the authors

**Vyacheslav V. Bykov** – Technician at the Laboratory of New Methods in biology, Institute for Biological Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: naggilan88@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-3978-7862>

**Alisa A. Vologzhannikova** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of New Methods in biology, Institute for Biological Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: lisiks.av@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5550-2129>

**Maria V. Trunilina** – Biotechnology Engineer at the Laboratory of New Methods in biology, Institute for Biological Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: masha.trunilina@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-9171-3083>

**Timofey A. Kudryashov** – Junior Research Officer at the Laboratory of New Methods in biology, Institute for Biological Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: kudryashovtimm@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-2092-7028>

**Andrey S. Sokolov** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of New Methods in biology, Institute for Biological Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: 212sok@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7145-251X>

**Yulia S. Lapteva** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of New Methods in biology, Institute for Biological Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences, e-mail: yulia.s.lapteva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6607-9861>

## РАЗРАБОТКА ОТ-рвПЦР ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ «ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА» АСТВ И SDHA В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ-ХОЗЯЕВ ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Ляпунова Н.А.,  
Хаснатинов М.А.,  
Данчинова Г.А.,  
Соловаров И.С.

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

Автор, ответственный за переписку:  
Ляпунова Наталья Андреевна,  
e-mail: nataly2193@mail.ru

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Исследования экспрессии генов в клетках животных-хозяев зоонозных инфекций необходимы для понимания механизмов взаимодействия патогена и хозяина и способов существования патогенов в природе. Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени с обратной транскрипцией (ОТ-рвПЦР) – один из наиболее надёжных и доступных современных методов сравнительного изучения экспрессии генов, поэтому подбор эндогенных стандартов (референтных генов) для нормализации результатов ПЦР является необходимым этапом исследования.

**Цель исследования.** Разработка ОТ-рвПЦР для выявления транскриптов (матричной РНК (мРНК)) генов субъединицы А сукцинатдегидрогеназы (SDHA) и бета-актина (АСТВ) в культурах клеток млекопитающих – хозяев зоонозных инфекций.

**Методы.** Культуры клеток почки восточноазиатской лесной мыши *ArpK* и почки эмбриона свиньи СПЭВ выращивали в 24-луночных планшетах. Монослои клеток открепляли трипсином и выделяли суммарную РНК/ДНК. Геномную ДНК удаляли ДНКазой I, свободной от РНКаз. Далее проводили одностадийную ОТ-рвПЦР с использованием разработанных наборов праймеров и соответствующих гидролизующих зондов TaqMan к SDHA и АСТВ. Эксперимент проводили в четырёх независимых воспроизведениях.

**Результаты.** При детекции мРНК гена АСТВ в обеих культурах клеток и гена SDHA в культуре СПЭВ линейность, эффективность, повторяемость и воспроизводимость теста соответствуют современным требованиям к ОТ-рвПЦР. Детекция мРНК SDHA в клетках *ArpK* отвечает требованиям к линейности и эффективности реакции, однако повторяемость ( $CV = 2,7\%$ ) и воспроизводимость ( $CV = 5,8\%$ ) теста несколько превышают рекомендуемые пределы. Для использования этого гена в качестве референтного требуется исследовать особенности экспрессии SDHA в клетках *ArpK*.

**Заключение.** Разработана методика ОТ-рвПЦР для оценки экспрессии генов «домашнего хозяйства» АСТВ и SDHA в клетках восточноазиатской лесной мыши (*A. peninsulae*) и свиньи (*S. scrofa*). На следующем этапе исследования необходимо валидировать эти гены в качестве референтных для количественной оценки экспрессии генов млекопитающих-хозяев зоонозных инфекций в норме и при патологии.

**Ключевые слова:** *Apodemus peninsulae*, *Sus scrofa*, клеточные линии, экспрессия, мРНК, SDHA, АСТВ, гены «домашнего хозяйства», количественная ОТ-ПЦР

Статья поступила: 18.10.2024

Статья принята: 05.11.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Соловаров И.С. Разработка ОТ-рвПЦР для оценки экспрессии генов «домашнего хозяйства» АСТВ и SDHA в культурах клеток млекопитающих-хозяев зоонозных инфекций. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 84-95. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.9

## DEVELOPMENT OF RT-qPCR ASSAY FOR ASSESSING THE EXPRESSION OF *ACTB* AND *SDHA* HOUSEKEEPING GENES IN THE CELL CULTURES OF MAMMALIAN HOSTS OF ZONOTIC INFECTIONS

Liapunova N.A.,  
Khasnatinov M.A.,  
Danchinova G.A.,  
Solovarov I.S.

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

Corresponding author:  
Natalia A. Liapunova,  
e-mail: nataly2193@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** The molecular mechanisms behind the maintenance of zoonotic pathogens in nature can be better understood by examining the gene expression in host cells in response to the infection. Reverse transcription and quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) is a powerful method to study gene expression, especially with the use of endogenous reference genes (RG) to normalize the data. Therefore, it is critical to develop the reliable qRT-PCR assay and validate that selected RGs are stably expressed in the studied organism or cell culture.

**The aim.** In this work, we aimed to develop the real-time qRT-PCR method for detecting mRNA of two candidate RGs, succinate dehydrogenase subunit A (*SDHA*) and beta-actin (*ACTB*), in the cell lines of mammalian hosts of zoonotic infections.

**Materials and methods.** The SPEV (porcine embryonic kidney cell line) and ApnK (Korean field mouse kidney cell line) cells were grown in 24-well culture plates. Total RNA/DNA was isolated from trypsin-detached cell monolayers. Genomic DNA in the samples was removed with RNase-free DNase I, and one-step RT-qPCR was performed using primers for *SDHA* and *ACTB* gene fragments and the corresponding TaqMan hydrolysis probes. The experiment was performed in 4 independent replicates.

**Results.** In the Korean field mouse cells, the linearity, efficiency, repeatability, and reproducibility of the RT-qPCR for *ACTB* gene mRNA corresponded to the modern requirements. However, RT-qPCR for *SDHA* exhibited good linearity and efficiency of the reaction, but CV values for repeatability and reproducibility slightly exceeded the recommended standards. In porcine cells, both assays had acceptable parameters. Thus, to use the *SDHA* as RG for ApnK cells, a detailed study of the stability of its expression in this particular model is required.

**Conclusions.** New qRT-PCR assay was developed to assess the expression of housekeeping genes *ACTB* and *SDHA* in the cells of the Korean field mouse and domestic pig. Further research is necessary to validate these genes as references for quantitative assessment of gene expression in the cells of mammalian hosts of zoonotic infections.

**Key words:** *Apodemus peninsulae*, *Sus scrofa*, cell lines, expression, mRNA, *SDHA*, *ACTB*, housekeeping genes, quantitative RT-PCR

Received: 18.10.2024  
Accepted: 05.11.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A., Solovarov I.S. Development of RT-qPCR assay for assessing the expression of *ACTB* and *SDHA* housekeeping genes in the cell cultures of mammalian hosts of zoonotic infections. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 84-95. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.9

## ОБОСНОВАНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и по результатам научных исследований, свыше 60 % современных патогенов человека имеют зоонозное происхождение, при этом более 70 % из них перешли к человеку от диких животных [1]. Зоонозные инфекции в естественной среде циркулируют среди диких и домашних животных. Установлено, что существование 65 % патогенов в природе зависит не от одного вида животного-хозяина, а от целого сообщества резервуарных хозяев. Среди млекопитающих наиболее часто с персистенцией патогенов ассоциированы животные из отрядов грызунов, парнокопытных и хищных [2]. При этом роль конкретных видов млекопитающих – резервуарных, индикаторных и случайных хозяев патогенных вирусов и бактерий – определяется как врожденной резистентностью, так и специфическим иммунным ответом организма-хозяина [3]. Для изучения механизмов взаимодействия патогенных микроорганизмов и различных животных-хозяев на клеточном уровне необходим инструмент, позволяющий достоверно определять профиль экспрессии различных генов хозяйскими клетками.

Одним из наиболее доступных и эффективных методов анализа профиля экспрессии является определение относительной концентрации матричной РНК (мРНК) целевых генов с помощью обратной транскрипции в сочетании с количественной полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-рвПЦР) [4]. Однако при оценке экспрессии генов в разных образцах методом ОТ-рвПЦР важно принимать во внимание экспериментальные вариации, такие как количество клеток, качество очистки РНК, целостность РНК, эффективность обратной транскрипции, эффективность амплификации ПЦР и др. [5]. Чтобы учесть эти вариации, необходимо нормализовать ОТ-рвПЦР по внутреннему контролю, называемому референтным геном (РГ) или геном домашнего хозяйства ("housekeeping gene") [6]. Гены домашнего хозяйства – это гены, которые всегда экспрессируются в клетках для поддержания функционирования клетки [4]. Сравнение количества мРНК целевого гена с РГ в одном и том же образце обеспечивает надёжную интерпретацию данных экспрессии генов [7]. Однако во многих исследованиях убедительно показано, что уровни экспрессии различных генов домашнего хозяйства могут существенно варьировать в зависимости от гена, типа клетки, тканевой специфичности, вида животного и экспериментальных условий [7, 8]. Уже на ранних этапах развития технологии количественной ПЦР было установлено, что необходимая точность измерения уровня экспрессии достигается только при сравнении со средним геометрическим значением нескольких независимых РГ [8]. В настоящее время считается, что валидные данные могут быть получены при нормализации данных по двум-пяти РГ [5]. Вследствие всех этих особенностей для каждого нового исследования необходимо подбирать и валидировать специфичный для используемых организмов и тканей набор РГ.

Ранее нами была разработана перевиваемая клеточная линия почки одного из важнейших хозяев многих зоонозных инфекций, восточноазиатской лесной мыши *Apodemus peninsulae* (Thomas, 1907) и проведена оценка репродукции вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в клетках резервуарного позвоночного хозяина в сравнении с общепринятой лабораторной моделью инфекции ВКЭ – клетками почки эмбриона свиньи СПЭВ [9]. В рамках развития этой модельной системы необходимо разработать инструмент для количественной оценки экспрессии в норме и в ходе инфекционного процесса в клеточных линиях *A. peninsulae* и *Sus scrofa*, поскольку даже для одного вида млекопитающих могут требоваться разные РГ для разных типов ткани в разных условиях [10]. При этом если для *S. scrofa* опубликованные к настоящему моменту данные по отбору и валидации РГ довольно представительны, то для *A. peninsulae* подобных исследований нами в открытых источниках не обнаружено.

В настоящее время для сравнительных исследований экспрессии генов млекопитающих широко используется более 15 основных РГ [10, 11]. В рамках данного исследования мы сконцентрировали внимание на двух генах, кодирующих бета-актин (*ACTB*) и субъединицу А сукцинатдегидрогеназного комплекса (*SDHA*). Бета-актин – это белок, участвующий в подвижности, структуре и целостности клеток-эукариот [12]. Субъединица А сукцинатдегидрогеназного комплекса входит в белковый комплекс, который встраивается в мембрану митохондрий и участвует в работе цикла Кребса и дыхательной цепи [13]. Известно, что ген *ACTB* является очень варибельным [11], и, тем не менее, он широко используется в научных исследованиях по изучению экспрессии генов [8, 11], поскольку экспрессируется повсеместно [11]. Помимо прочего, *ACTB* является одним из наиболее валидных РГ для 17 различных тканей свиней, включая ткани почек [14]. Основным аргументом в пользу выбора *SDHA* стало то, что он является одним из наиболее стабильно экспрессируемых генов домашнего хозяйства как у близкородственного вида грызунов – желтогорлой лесной мыши *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) [15], так и у свиней [14, 16]. Установлена стабильность экспрессии генов *ACTB* и *SDHA* в самых разных организмах, тканях и органах, включая опухолевые клетки мозга человека [17], субпопуляции CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов после короткого и длительного периодов активации [18], клетках тонкого и толстого кишечника овец, заражённых желудочно-кишечными нематодами [19], здоровых и раковых клетках человека, мыши и собаки [20]. Следует отметить, что в нашем исследовании использованы низкопассажные перевиваемые клеточные линии, поэтому можно предположить, что выбранные в качестве референтов гены будут экспрессироваться не менее стабильно, чем в раковых клетках. Также показана эффективность *ACTB* и *SDHA* в качестве РГ для профилирования экспрессии при заражении культур клеток и лабораторных животных инфекционными агентами, включая вирус лихорадки Денге [21], вирус японского энцефалита [22], морбилливирусы [23], возбудитель болезни Лайма *Borrelia burgdorferi sensu stricto* [24].

В связи с этим **целью данного исследования** стала разработка методики ОТ-рвПЦР для выявления транскриптов генов *SDHA* и *ACTB* в культурах клеток млекопитающих – хозяев зоонозных инфекций.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Разработка праймеров

В работе использовались разработанные специфичные и универсальные праймеры, а для повышения специфичности реакции – соответствующие гибридизационные зонды TaqMan (табл. 1). Публично доступные в базе данных National Center for Biotechnology Information (NCBI) последовательности мРНК генов *SDHA* (номера доступа GenBank NM\_023281, XM\_014548703, XM\_006762445, XM\_036308495 и XM\_021076931) и *ACTB* (XM\_003124280, AB547904 и XM\_005878947) для грызунов рода *Apodemus* sp. и парнокопытных рода кабанов *Sus* sp. выравнивали попарно с использованием алгоритма CLUSTAL W, встроенного в программу BioEdit 7.0.5.3, и ручной доработки.

Также в работе использовали веб-инструмент для проектирования олигонуклеотидов OligoCalc<sup>1</sup>. Специфичность праймеров и зондов была протестирована *in silico* с помощью инструмента BLAST<sup>2</sup>.

### Культуры клеток млекопитающих

Перевиваемая клеточная линия почки эмбриона свиной СПЭВ была приобретена в «Коллекции клеточных линий человека и животных для исследований в области вирусологии» (ФГБУ «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург). Перевиваемая адгезивная клеточная линия почки *Apodemus peninsulae* (Thomas, 1907)

ArpK была получена в лаборатории трансмиссивных инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск) [9]. В работе использовали сток клеток на 60-м пассаже. Поддержание культур клеток осуществляли на среде RPMI1640 с добавлением антибиотиков и 10%-й (ArpK) или 5%-й (СПЭВ) эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) HyClone (Thermo Fisher Scientific, Великобритания).

### Подготовка клеток

Для исследования экспрессии генов клетки открепляли с помощью трипсина с добавлением 0,5 mM EDTA (Т/Е), ресуспендировали в ростовой среде, определяли концентрацию с помощью камеры Горяева и сеяли в 24-луночные планшеты в количестве  $1 \times 10^5$  клеток на лунку. Планшеты инкубировали в течение 16–18 ч при 37 °C в атмосфере 5 % CO<sub>2</sub>. На следующее утро ростовую среду заменяли средой поддержки (RPMI1640 с добавлением антибиотиков и 2%-й ЭТС). Через 24 ч инкубации среду поддержки удаляли, клетки трижды промывали бессывороточной средой и открепляли 0,25 мл Т/Е. После этого в каждую лунку добавляли 0,25 мл среды поддержки, клетки ресуспендировали и переносили в 1,5 мл пробирки «Эппендорф». Клетки осаждали центрифугированием при +4 °C, ресуспендировали в 1 мл стерильного фосфатно-солевого буфера (PBS; pH = 7,4), определяли концентрацию клеток и переносили в криопробирки в аликвотах, содержащих по  $5 \times 10^4$  клеток для каждого образца. Клетки осаждали центрифугированием при +4 °C, супернатант удаляли, осадок клеток хранили при –70 °C и использовали целиком однократно для выделения РНК. Все этапы работы по сбору образцов клеток проводились на льду. Эксперимент проводился в 4 независимых воспроизведениях.

ТАБЛИЦА 1  
ПРАЙМЕРЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В ОТ-рвПЦР

TABLE 1  
PRIMERS USED FOR RT-qPCR

Локус	Специфичность	Обозначение	Последовательность	Предназначение	Длина ампликона, н. о.
SDHA	Sus scrofa СПЭВ	Sdha-17-F-Sus	GGCCTAACTTCGCTCCAAC	прямой	106
		Sdha-123-R-Sus	AATGAACCAGTGCTCGCAG	обратный	
		Sdha-54-Prb-Sus	FAM-ACTGCTCGATACAGGAAGCTCCGGCTC-BHQ-1	зонд	
	Muridae ArpK	Sdha-447-F-Mus	ATCCAYTACATGACAGAGCA	прямой	
		Sdha-656-R-Mus	AGAYCTCCATACAACGTGTG	обратный	
ACTB	Mammalia СПЭВ ArpK	Sdha-557-Prb-Mus	FAM-CCTTCCCAAAGCTTGAGGCTCTGT-BHQ-1	зонд	120
		Actb-618-F-Sus	GTGCCCATCTACGAGGG	прямой	
		Actb-738-R-Sus	TGGTGGTGAAGCTGTAGC	обратный	
		Actb-661-Prb-Sus	Cy5-TCAGGTCCCGCCAGCCAGGTCCAGAC-BHQ-2	зонд	

<sup>1</sup> <https://biotools.nubic.northwestern.edu/OligoCalc.html>

<sup>2</sup> <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

### Выделение РНК

Для каждого образца РНК выделяли из  $5 \times 10^4$  клеток с использованием наборов HiPure Total RNA Kit (Magen Biotechnology, Гуанчжоу) и RNase Free DNaseI Set (Magen Biotechnology, Гуанчжоу) согласно инструкции производителя. Объём очищенного препарата РНК составлял 100 мкл. Контроль качества очистки РНК от геномной ДНК производили с помощью ПЦР без стадии обратной транскрипции с праймерами к целевым генам. Препараты РНК считали пригодными для дальнейших исследований при отсутствии накопления специфического флуоресцентного сигнала в рвПЦР и при отсутствии специфических ампликонов в электрофорезе после рутинной ПЦР. В качестве матрицы для проведения одностадийной ОТ-рвПЦР использовали 1 мкл суммарной РНК. В каждой постановке использовали отрицательные контроли выделения РНК.

### Обратная транскрипция и ПЦР

Одностадийную ОТ-рвПЦР проводили с помощью набора реагентов Luna Universal Probe One-Step RT qPCR (New England Biolabs, США) согласно инструкции производителя. Реакцию проводили в режиме реального времени в объёме 20 мкл. В реакционную смесь добавляли два специфических праймера до рабочей концентрации 400 нМ каждого праймера, соответствующий зонд до концентрации 200 нМ и 1 мкл РНК-матрицы. Режим ПЦР включал обратную транскрипцию при 55 °С в течение 10 мин, инактивацию ревертазы при 95 °С в течение 1 мин и 45 циклов ПЦР: 95 °С – 10 с; температура отжига ( $T_a$ , °С) – 1 с; 60 °С – 20 с. Температуру отжига праймеров и зондов оптимизировали в диапазоне от 55 °С до 66 °С. Рутинную рвПЦР проводили с использованием набора реагентов Encyclo (Евроген, Москва) согласно инструкции производителя в режиме: 95 °С в течение 1 мин и 45 циклов ПЦР: 95 °С – 10 с;  $T_a$  – 1 с; 60 °С – 20 с. Интенсивность флуоресценции измеряли на стадии 60 °С каждого цикла ПЦР по каналам FAM и Cy5. Циклом количественного определения ( $C_q$ , quantification cycle) считали первый цикл, при котором интенсивность флуоресцентного сигнала превышала 10 стандартных отклонений от фона. Фоновая составляющая учитывалась с 1-го по 10-й цикл. Расчёты выполняли с помощью программы BioRad CFX Manager v. 3.1 (Bio-Rad Laboratories Inc., США). Для ОТ-рвПЦР и рвПЦР использовали два разных амплификатора CFX96 C1000 Touch (Bio-Rad Laboratories Inc., США). В каждой постановке использовали отрицательные (PCR-) и положительные (PCR+) контроли ПЦР, в качестве PCR+ использовали препарат суммарных нуклеиновых кислот соответствующей клеточной линии до обработки DNaseI. Все четыре этапа: подготовку образцов клеток, выделение РНК, приготовление реакционных смесей и ПЦР, – проводили в разных помещениях с использованием отдельных наборов оборудования, инструментов и посуды.

### Электрофоретическое разделение продуктов ПЦР

Для оценки специфичности ПЦР и наличия неспецифических продуктов реакции амплифицированные ПЦР-

продукты разделяли методом электрофореза в 2%-м агарозном геле с использованием следующих параметров: 100 V, 80 W, 400 mA. В лунки геля вносили по 10 мкл исследуемых продуктов ПЦР. Фрагменты ДНК окрашивали бромистым этидием и визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм. Для определения размеров ампликонов параллельно загружали маркер молекулярного веса ДНК с набором фрагментов от 100 до 1500 н. о. (БиоСан, Новосибирск).

### Оценка вариабельности ОТ-рвПЦР

Вариабельность теста ОТ-рвПЦР оценивали на основе 10 повторов одного и того же образца РНК. Для полученных значений  $C_q$  анализировали максимальное, минимальное и медианное значения, 25%-й и 75%-й квантили и интерквартильный размах (IQR, interquartile range). Данные выражали в виде боксплот-графика с указанием всех сравниваемых параметров. Далее исследовали вариабельность определения  $C_q$  каждого из генов в пределах одной клеточной линии (например, вариабельность  $C_q$  *ACTB* в сравнении с  $C_q$  *SDHA* в СПЭВ) и вариабельность анализа одного и того же гена в разных культурах клеток (например, вариабельность  $C_q$  *ACTB* в СПЭВ в сравнении с  $C_q$  *ACTB* в АрНК). Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

### Оценка линейности и эффективности ОТ-рвПЦР

Для каждого из четырёх независимых повторов РНК приготавливали серию из трёх независимых десятикратных разведений в свободной от РНКаз воде от  $10^{-1}$  до  $10^{-3}$ . Для каждого образца РНК рассчитывали средние значения  $C_q$ , полученные в ОТ-рвПЦР в ходе одного теста и стандартные отклонения средних значений. По средним значениям строили калибровочную кривую, на основании углового коэффициента (slope) которой рассчитывали эффективность реакции ( $E$ ) в процентах.

### Оценка повторяемости и воспроизводимости ОТ-рвПЦР

Повторяемость теста определяли как коэффициент вариации (CV, coefficient of variation; %) четырёх независимых воспроизведений ОТ-рвПЦР в ходе одного теста всех сравниваемых образцов, выполненного в один день и на одном и том же приборе. Воспроизводимость анализа определяли как CV% средних значений независимых воспроизведений ОТ-рвПЦР в ходе четырёх тестов всех сравниваемых образцов, выполненных в разные дни и на разных приборах.

### Статистическая обработка

Линейный регрессионный анализ с коэффициентом детерминации  $R^2$  использовали в исследовании для определения линейности стандартной кривой. Зависимость  $C_q$  от концентрации РНК считали линейной при  $R^2 > 0,8$ . Наклон графика использовался для определения эффективности реакции ПЦР ( $E$ ), которую выражали в процентах и рассчитывали по формуле:  $(10[-1/k] - 1) \times 100$ , где  $k$  – угловой коэффициент (slope)

стандартной кривой. Для оценки вариабельности наблюдений рассчитывали стандартное отклонение средних значений. Статистическую значимость различий медианных значений между группами оценивали с помощью двустороннего U-критерия Манна – Уитни при 95%-м уровне статистической значимости. Выпадающие значения циклов количественного определения РНК исключали с помощью квартильного метода [25]. Для выявления корреляции между концентрацией РНК и показателями сходности ПЦР-анализа использовали двусторонний метод ранговой корреляции Спирмена. Расчёты производили с помощью программ MS Excel 2003 (Microsoft Corp., США) и MaxStat Lite v. 3.06 (MaxStat, Германия).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Отработка условий ОТ-ПЦР

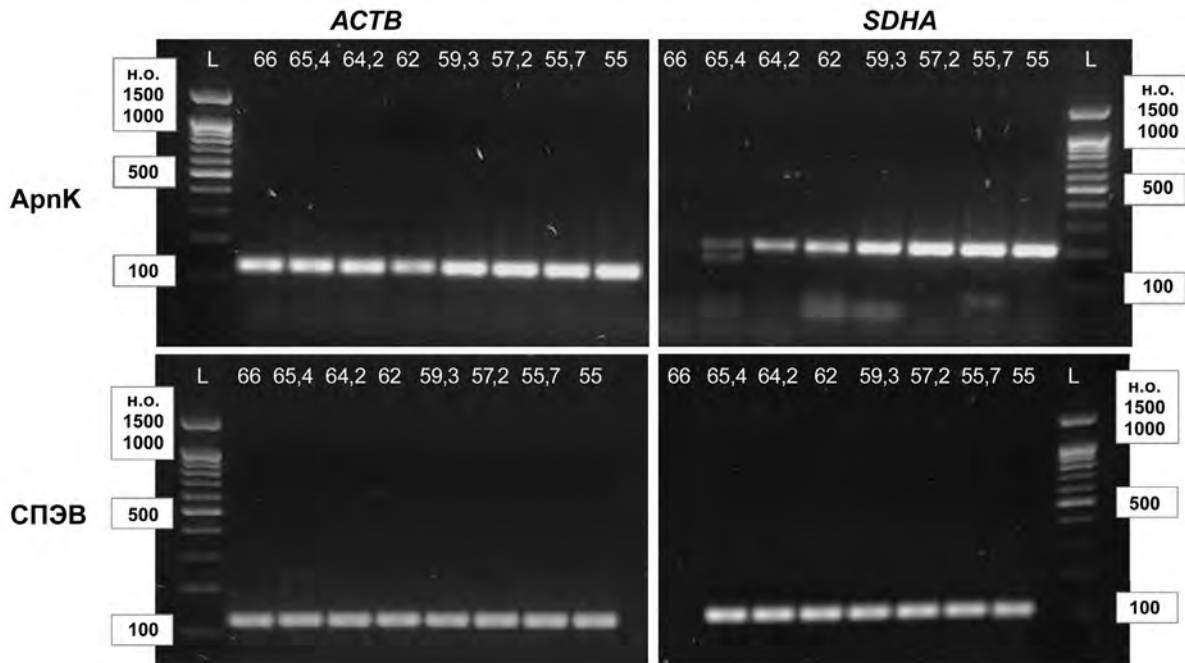
Для обоих генов в обеих клеточных линиях амплифицировались фрагменты ожидаемой длины (табл. 1; рис. 1). Однако в ряде случаев при высоких температурах (62–66 °С) количество ПЦР продукта снижалось или амплификации не происходило. Кроме того, в ПЦР с праймерами к гену *SDHA* в клеточной линии АрпК наблюдалась наработка продуктов ПЦР неспецифической длины при большинстве температур, за исключением  $T_a = 55$  °С и  $T_a = 57,2$  °С. Для сохранения возможности

мультиплексирования реакций и дальнейшего совершенствования теста в качестве рабочей была выбрана  $T_a = 55$  °С как минимальная температура, при которой во всех комбинациях праймеров и матрицы нарабатывались только специфичные ампликоны в высоких концентрациях.

Результаты ОТ-ПЦР в режиме реального времени показывают, что кривые амплификации имеют чётко выраженную сигмовидную форму, фоновая флуоресценция незначительна (рис. 2). В положительных контрольных образцах цикл количественного определения *Cq* был ожидаемо выше тестовых образцов по обоим генам, в отрицательных контрольных образцах *Cq* не определялся, что свидетельствует о приемлемом качестве РНК и о пригодности разработанных наборов праймеров и зондов для детекции мРНК генов *ACTB* и *SDHA* исследуемых животных.

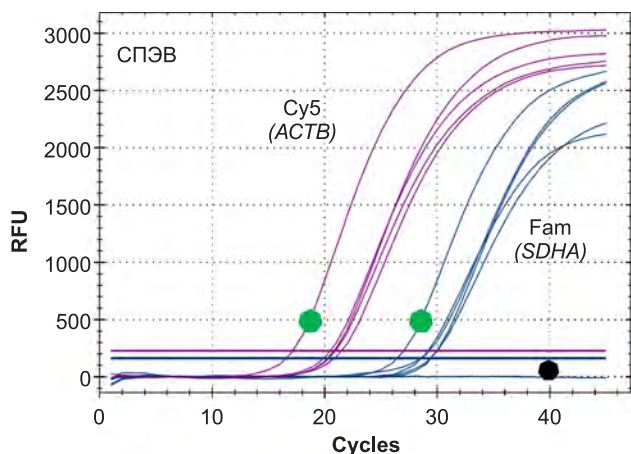
### Вариабельность определения мРНК референтных генов в ОТ-рвПЦР

При сравнительном анализе исходных препаратов РНК в обеих культурах клеток медианные значения *Cq* для гена *ACTB* были существенно меньше, чем для *SDHA* (рис. 3). Так, в СПЭВ медиана *Cq* *ACTB* составила 19,5 цикла, а *Cq* *SDHA* – 27,4 цикла ( $D = 7,9$  *Cq*;  $U = 100$ ;  $p = 0,0002$ ). В клеточной линии АрпК наблюдаемые различия оказались аналогичными: медиана *Cq* составила 17,0 для *ACTB* и 27,0 – для *SDHA* ( $D = 10$  *Cq*;  $U = 99$ ;  $p = 0,0002$ ).



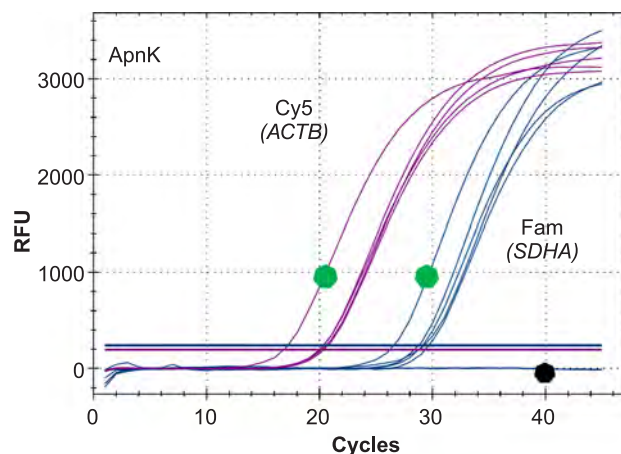
**РИС. 1.** Отработка амплификации фрагментов мРНК-транскриптов *ACTB* и *SDHA* (столбцы) в клеточных линиях АрпК и СПЭВ (строки): L – маркер молекулярного веса ДНК; фрагменты длиной 100, 500, 1000 и 1500 н. о. обозначены по краям электрофореграмм; вверху дорожек обозначена соответствующая температура отжига (°С)

**FIG. 1.** Amplification of the *ACTB* and *SDHA* mRNA transcript fragments (columns) in ArpK and SPEV cell lines (rows): L – DNA molecular weight marker; the fragments of 100, 500, 1000 and 1500 base pairs are labeled at the edges of the electropherograms; the corresponding annealing temperatures (°C) are indicated at the top of the lanes



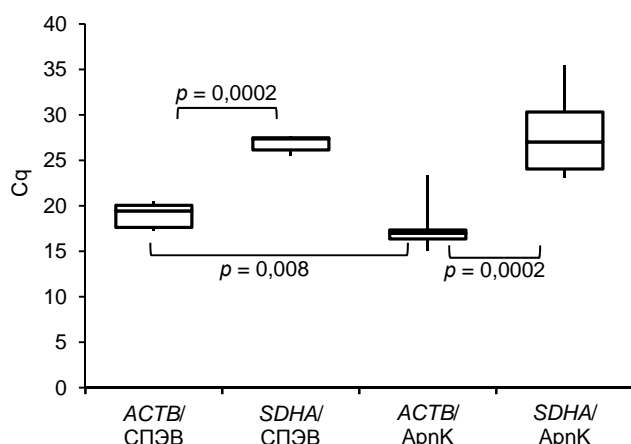
**РИС. 2.**

ОТ-рвПЦР на матрице РНК клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ) и восточноазиатской лесной мыши (АрпК): фиолетовые треки – канал флуоресценции Cy5 (детекция ACTB), голубые треки – канал FAM (детекция SDHA); прямые горизонтальные линии – отсекающие значения цикла количественного определения (quantification threshold); зелёные точки – положительные контрольные образцы ПЦР (ДНК-матрица); чёрные точки – отрицательные контрольные образцы (РНК-матрица без обратной транскрипции)



**FIG. 2.**

The real-time RT-qPCR on the mRNA of pig embryo kidney (SPEV) and Korean field mouse kidney (ArpK) cell lines: violet traces – Cy5 fluorescent signal (ACTB detection); blue traces – FAM signal (SDHA detection); straight horizontal lines – cutoff values of the quantification cycle (quantification threshold); green dots designate the traces corresponding to the positive control samples (DNA template); black dots designate the traces corresponding to the negative control samples (RNA without reverse transcription stage)



**РИС. 3.**

Вариабельность 10 повторов ОТ-рвПЦР детекции ( $C_q$ , ось ординат) мРНК генов бета-актина (ACTB) и субъединицы А сукцинатдегидрогеназного комплекса (SDHA). Тестовые группы обозначены на оси абсцисс: ACTB/СПЭВ – детекция мРНК ACTB в клеточной линии СПЭВ ( $n = 10$ ); SDHA/СПЭВ – детекция мРНК SDHA в СПЭВ ( $n = 10$ ); ACTB/АрпК – детекция мРНК ACTB в клеточной линии АрпК ( $n = 10$ ); SDHA/АрпК – детекция мРНК SDHA в АрпК ( $n = 10$ ). Медианные значения выборок обозначены горизонтальными линиями, боксы соответствуют 25%–75%-м процентилям, усы отражают разброс крайних значений; статистически значимые различия медианных значений отмечены горизонтальными скобками с указанием значений  $p$  (двусторонний U-тест Манна – Уитни)

**FIG. 3.**

Variability of 10 repeats of real-time RT-qPCR detection ( $C_q$ , Y-axis) of beta-actin (ACTB) and succinate dehydrogenase complex subunit A (SDHA) mRNA. Test groups are indicated on the X-axis: ACTB/SPEV – detection of ACTB mRNA in the SPEV cell line ( $n = 10$ ); SDHA/SPEV – detection of SDHA mRNA in the SPEV cell line ( $n = 10$ ); ACTB/ArpK – detection of ACTB mRNA in the ArpK cell line ( $n = 10$ ); SDHA/ArpK – detection of SDHA mRNA in the ArpK cell line ( $n = 10$ ). Median values of samples are indicated by horizontal lines, boxes correspond to 25%–75% percentiles, whiskers reflect the extreme values scatter; statistically significant differences in median values are indicated by horizontal brackets with  $p$  values (two-tailed Mann – Whitney U-test)

SPEV – detection of SDHA mRNA in SPEV cell line ( $n = 10$ ); ACTB/ArpK – detection of ACTB mRNA in the ArpK cell line ( $n = 10$ ); SDHA/ArpK – detection of SDHA mRNA in ArpK cell line ( $n = 10$ ). Median values of samples are indicated by horizontal lines, boxes correspond to 25%–75% percentiles, whiskers reflect the extreme values scatter; statistically significant differences in median values are indicated by horizontal brackets with  $p$  values (two-tailed Mann – Whitney U-test)

В целом в клетках СПЭВ результаты ПЦР были более однородны, чем в АрпК. Так, в СПЭВ разброс крайних значений по ACTB составил 3,27 цикла, при этом IQR составил 2,44 цикла. По SDHA эти показатели составили 2,12 и 1,34 Cq соответственно. В АрпК аналогичные показатели составили соответственно 8,22 и 1,00 цикла по ACTB и 12,39 и 6,27 цикла по SDHA. Относительно широкий диапазон крайних значений (до 12 циклов) при более узком IQR позволяет предположить, что крайние значения  $C_q$  обусловлены наличием выбросов и, скорее всего, являются следствием случайных и технических факторов. Для исключения случайных ошибок в последующих экспериментах в каждом повторе для каждого серийного разведения выявляли выпадающие значения  $C_q$ , и те повторы, в которых было обнаружено хотя бы одно выпадающее значение, полностью исключали из анализа.

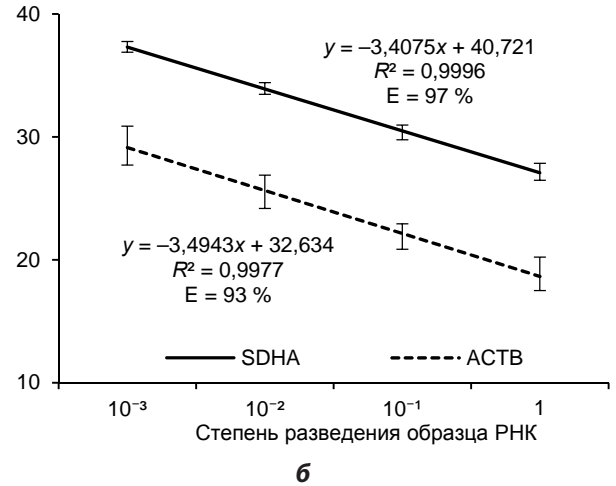
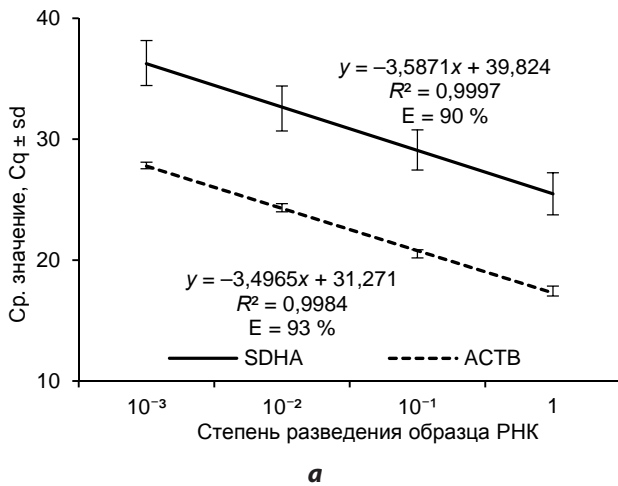
**Линейность и эффективность ПЦР**

Для всех калибровочных кривых значение коэффициента детерминации  $R^2$  (линейность) превышало 0,99 (рис. 4). Это позволяет предположить, что во всех исследованных вариантах ОТ-рвПЦР зависимость  $C_q$  от кон-

центрации целевой РНК соответствует линейной модели и стремится к функциональной. Средние значения эффективности рвПЦР для клеток АрпК составили 93 % (ACTB) и 90 % (SDHA) с угловыми коэффициентами калибровочных кривых  $-3,5$  и  $-3,59$  соответственно. Для клеток СПЭВ полученные значения эффективности ПЦР составили 93 % (ACTB) и 97 % (SDHA), чему соответствовали угловые коэффициенты  $-3,49$  и  $-3,41$  соответственно.

**Повторяемость и воспроизводимость ПЦР-тестов**

Коэффициенты вариации при оценке внутритестовой и межтестовой сходимости определения SDHA и ACTB указаны в таблице 2. Суммируя результаты, можно отметить, что детекция мРНК SDHA была более стабильна в клеточной линии СПЭВ (повторяемость 0,8 %, воспроизводимость 2 %) нежели в линии АрпК (2,7 % и 5,8 % соответственно). Однако для мРНК ACTB картина была обратной: в СПЭВ оба показателя были выше,



**РИС. 4.** Оценка линейности и эффективности ОТ-рвПЦР с прямыми к генам субъединицы А сукцинатдегидрогеназного комплекса (SDHA) и бета-актина (ACTB) в клеточных линиях АрпК (а) и СПЭВ (б)

**FIG. 4.** Assessment of the linearity and efficiency of real-time RT-qPCR targeting the succinate dehydrogenase subunit A (SDHA) and beta-actin (ACTB) gene transcripts in the ApnK (a) and SPEV (b) cell lines

**ТАБЛИЦА 2**  
**ПОВТОРЯЕМОСТЬ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ ОТ-рвПЦР ПРИ ДЕТЕКЦИИ мРНК ГЕНОВ SDHA И ACTB В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ СПЭВ И АрпК**

**TABLE 2**  
**REPEATABILITY AND REPRODUCIBILITY OF REAL-TIME RT-qPCR ASSAY FOR mRNA OF SDHA AND ACTB GENES IN SPEV AND ApnK CELL LINES**

Гены	Разведение РНК	Клеточная линия СПЭВ						Клеточная линия АрпК					
		в. т. Cq	SD	CV, %	м. т. Cq	SD	CV, %	в. т. Cq	SD	CV, %	м. т. Cq	SD	CV, %
SDHA	1	27,4	0	0,2	27,1	0,8	3	23,8	0,5	1,9	25,5	1,8	7,1
	10 <sup>-1</sup>	30,5	0,4	1,3	30,3	0,7	2,2	27,1	0,8	2,9	29,3	1,6	5,5
	10 <sup>-2</sup>	34,1	0,3	0,9	33,9	0,5	1,5	30,5	0,8	2,7	32,6	1,8	5,7
	10 <sup>-3</sup>	37,7	0,2	0,6	37,2	0,4	1,2	34,6	1,2	3,3	36,4	1,9	5,1
Средняя повторяемость детекции SDHA в СПЭВ – 0,8 %; в АрпК – 2,7 % Средняя воспроизводимость детекции SDHA в СПЭВ – 2 %, в АрпК – 5,8 %													
ACTB	1	17,4	0,1	0,5	18,9	1,3	6,9	17,5	0,1	0,7	17,5	0,4	2,5
	10 <sup>-1</sup>	20,9	0,3	1,6	21,8	1	4,4	20,7	0,2	0,9	20,6	0,3	1,5
	10 <sup>-2</sup>	24,1	0,2	0,9	25,4	1,3	5,1	24,3	0,3	1,2	24,3	0,3	1,1
	10 <sup>-3</sup>	27,7	0,4	1,5	29,1	1,6	5,4	27,5	0,1	0,4	27,8	0,2	0,9
Средняя повторяемость детекции ACTB в СПЭВ – 1,1 %, в АрпК – 0,8 % Средняя воспроизводимость детекции ACTB в СПЭВ – 5,5 %, в АрпК – 1,5 %													

**Примечание.** в. т. Cq – средние циклы количественного определения четырёх внутритестовых повторов; м. т. Cq – средние циклы количественного определения четырёх межтестовых воспроизведений.

чем в АрпК (1,1 % и 5,5 % против 0,8 % и 1,5 % соответственно). В большинстве случаев не было выявлено корреляций между концентрацией РНК и показателями схожести, однако при определении мРНК *ACTB* в клетках АрпК обнаружена сильная статистически значимая положительная взаимосвязь концентрации РНК с воспроизводимостью ( $r = 1; p < 0,0001$ ). Также при детекции *SDHA* в клетках АрпК отмечались выраженная статистически не значимая отрицательная взаимосвязь концентрации РНК с показателями повторяемости ( $r = -0,8; p = 0,2$ ) и положительная – с показателями воспроизводимости ( $r = 0,8; p = 0,2$ ) (табл. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка внутренних количественных стандартов на основе генов домашнего хозяйства с помощью одностадийной ОТ-рвПЦР – это необходимая мера контроля качества и надёжности при исследовании экспрессии целевых генов. При нормализации результатов количественного определения целевых генов по РГ крайне важно убедиться, что каждый РГ стабильно экспрессируется как в норме, так и в экспериментальных условиях, поскольку множество факторов способствуют экспериментальной изменчивости и влияют на количество повторов, необходимых для достижения заданной статистической мощности [5]. Очевидно, что высокое качество и техническая воспроизводимость используемого ПЦР-теста являются необходимым условием для оценки стабильности экспрессии РГ.

В этой работе мы проанализировали пригодность разработанных ОТ-рвПЦР тестов для детекции мРНК генов *ACTB* и *SDHA* в клеточных линиях двух животных, относящихся к разным отрядам – грызуны (Rodentia) и парнокопытные (Artiodactyla). При этом экспрессия генов домашнего хозяйства в клетках важнейшего резервуарного хозяина зоонозных инфекций – восточноазиатской лесной мыши *A. peninsulae* – исследована впервые.

Для гена *ACTB* нам удалось подобрать универсальные праймеры и TaqMan-зонд, которые при моделировании *in silico* выявляли мРНК как свиньи, так и восточноазиатской лесной мыши. Ген *SDHA* оказался более варибельным, и для каждого из животных пришлось подбирать родоспецифичные праймеры и зонд. В эксперименте все три комплекта праймеров синтезировали ампликоны ожидаемой длины для обеих культур клеток, а в формате ОТ-рвПЦР в обеих культурах клеток кривые накопления флуоресцентного сигнала по каждому гену имели сопоставимую форму и показатели количественного определения (Cq). При оптимизации ОТ-рвПЦР оказалось, что все три теста могут проводиться в одинаковых условиях. В сочетании с дифференциально мечеными зондами (детекция *SDHA* идёт по каналу FAM, а детекция *ACTB* – по Cy5) это открывает возможность для мультиплексирования реакции определения мРНК РГ.

Варибельность результатов ПЦР-теста является важной технической характеристикой, поскольку различия между повторами в 3 цикла соответствуют де-

сятикратной разнице в концентрации матрицы. С этой точки зрения, в клетках СПЭВ оба ПЦР теста показывают удовлетворительные результаты – IQR после 10 повторов составил 1,5–2,5 цикла. Это означает, что большинство результатов отличаются от медианного значения не более чем на 1–1,5 цикла в большую или меньшую сторону. В клетках АрпК результаты не столь однозначны. По мРНК гена *ACTB* получены удовлетворительные результаты с IQR всего в 1 цикл. Однако по мРНК *SDHA* отклонение составило примерно 3 цикла в большую или меньшую сторону от медианного значения (IQR = 6,27), что соответствует десятикратной погрешности при измерении концентрации мРНК. Также для всех тестов, кроме детекции *SDHA* в клетках СПЭВ, отмечаются завышенные показатели крайних значений (разброс до 12 циклов). Это может указывать на наличие технических погрешностей при проведении тестов и на появление связанных с этим единичных аномальных результатов ПЦР. Для устранения влияния случайных выбросов на дальнейшую работу нами была, с одной стороны, проведена стандартизация процедуры подготовки ПЦР, а с другой – применено исключение из анализа как невалидных тех повторов, в которых с помощью статистических методов были выявлены выпадающие значения.

Эффективность амплификации ПЦР была установлена с помощью построения калибровочных кривых, что обеспечивает простое, быстрое и воспроизводимое показание средней эффективности ПЦР, аналитической чувствительности и надёжности анализа [5]. В ходе работы показано, что оба РГ как в клетках АрпК, так и в СПЭВ попадали в диапазон оптимальных значений эффективности ПЦР ( $E$ ), определяемый как  $90\% < E < 110\%$  [7, 26, 27], и допустимых значений углового коэффициента – в пределах от  $-3,1$  до  $-3,6$  [27]. В то же время значение  $E = 90\%$ , полученное для *SDHA* в клетках АрпК, близко к нижней границе оптимального диапазона чувствительности ОТ-рвПЦР. Таким образом, по этим параметрам разработанные нами ПЦР-тесты пригодны для детекции генов бета-актина и субъединицы А сукцинатдегидрогеназного комплекса в мышинных и свиных клетках, но для повышения надёжности анализа не исключается возможность дальнейшей оптимизации условий ПЦР и проведения повторных измерений свежеприготовленных десятикратных разведений образца РНК. Идеальным результатом является  $R^2 = 1, E = 100\%$  и  $k = -3,32$  [26, 27].

На современном уровне исследований считается, что при оценке повторяемости и воспроизводимости результатов количественной ПЦР «удовлетворительный» диапазон значений CV может варьировать от 20 % до 25 %, однако если расчеты основаны на необработанных значениях циклов количественного определения, рекомендуется использовать более жёсткие критерии: приемлемыми будут значения  $\leq 2\%$  для оценки внутритестовой и  $\leq 5\%$  для оценки межтестовой схожести результатов [27]. В нашем случае все разработанные тесты соответствуют «мягким» критериям пригодности, однако превышение внутритестовой повторяемости до 2,7 % и межтестовой воспроизводимости до 5,8 % по гену *SDHA* в клетках АрпК, а также межтестовой вос-

производимости до 5,5 % по гену *ACTB* в клетках СПЭВ указывает на менее надёжную количественную оценку этих транскриптов. В свою очередь, результаты, полученные по гену *ACTB* в клетках АрнК и по *SDHA* в клетках СПЭВ соответствуют «жёстким» критериям, что говорит о надёжности данных и пригодности выбранных условий реакции для детекции в клеточных линиях млекопитающих с использованием ОТ-рвПЦР.

Суммируя все полученные данные (табл. 3) можно отметить, что ОТ-рвПЦР тест для детекции гена *ACTB* в обеих клеточных линиях по большинству параметров соответствует критериям, предъявляемым к РГ, для изучения экспрессии в клетках млекопитающих. Доработки требуют только повышенный разброс крайних значений и несколько завышенная (на 0,5 %) вариабельность при межтестовом сравнении в клетках СПЭВ. ОТ-рвПЦР тест для детекции *SDHA* полностью соответствовал «жёсткому» варианту требований при анализе клеточной линии СПЭВ, однако в клеточной линии АрнК только показатели линейности и эффективности реакции находились в допустимом диапазоне значений. С одной стороны, наблюдаемые отклонения могут объясняться как техническими причинами, такими как неудачная конструкция праймеров и зонда, неоптимальные условия амплификации, наличие ингибиторов в матрице, технические ошибки при приготовлении серийных разведений и т. п. [28]. С другой стороны, причиной высокой вариабельности детекции мРНК *SDHA* в АрнК могут быть фундаментальные биоло-

гические особенности экспрессии этого гена в данной клеточной линии и/или в почечной ткани *A. peninsulae*. Так, ранее было показано, что в тканях спинного мозга свиньи *SDHA* является одним из самых стабильно экспрессируемых генов домашнего хозяйства, тогда как в спинальных ганглиях – напротив, одним из самых лабильных генов [29]. Более того, при изучении стабильности экспрессии восьми кандидатных РГ в печени желтогорлых мышей *A. flavicollis* наряду с высокой стабильностью *SDHA* было установлено, что ген *ACTB* экспрессируется наименее стабильно из всех [15]. Результаты, полученные в нашем исследовании близкородственного вида *A. peninsulae*, можно интерпретировать как противоположные – детекция транскриптов *SDHA* характеризовалась в целом меньшей стабильностью, чем детекция мРНК *ACTB*. Эти данные позволяют предположить, что экспрессия *SDHA*, по всей видимости, имеет как широкий диапазон в пределах одного организма, так и существенную видовую специфичность. Вероятно, экспрессия генов домашнего хозяйства, в частности *SDHA*, в клетках почек *A. peninsulae* также имеет свои характерные биологические особенности и заслуживает углублённого изучения.

Таким образом, разработанный ПЦР-тест достаточно надёжен для значимой биологической интерпретации с использованием *ACTB* в качестве РГ, однако для *SDHA* необходима дополнительная оптимизация анализа. Прежде всего, необходимо снизить техническую погрешность. Наиболее перспективным спо-

**ТАБЛИЦА 3**  
**СВОДНЫЕ ДАННЫЕ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ, СООТНОСЯЩИМСЯ С ИЗМЕНЧИВОСТЬЮ РЕАКЦИИ ОТ-рвПЦР ПРИ ДЕТЕКЦИИ мРНК ГЕНОВ *SDHA* И *ACTB* В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ СПЭВ И АрнК**

**TABLE 3**  
**SUMMARY DATA ON PARAMETERS RELATED TO REAL-TIME RT-qPCR REACTION VARIABILITY IN DETECTION OF mRNA OF *SDHA* AND *ACTB* GENES IN SPEV AND АрнК CELL LINES**

Показатели	Гены	Клеточная линия	
		АрнК	СПЭВ
Разброс значений, Cq	<i>SDHA</i>	12,39*	2,12
Интерквартильный размах, Cq		6,27*	1,34
Угловой коэффициент (slope), k		-3,6	-3,4
Эффективность ПЦР, %		90	97
Средняя повторяемость детекции, CV%		2,7*	0,8
Средняя воспроизводимость детекции, CV%		5,8*	2
Разброс значений, Cq	<i>ACTB</i>	8,22*	3,27*
Интерквартильный размах, Cq		1,00	2,44
Угловой коэффициент (slope), k		-3,5	-3,5
Эффективность ПЦР, %		93	93
Средняя повторяемость детекции, CV%		0,8	1,1
Средняя воспроизводимость детекции, CV%		1,5	5,5*

Примечание. \* – требуется оптимизация анализа.

собранием нам представляется автоматизация процедур выделения РНК, приготовления серийных разведенных матриц для построения калибровочной кривой и приготовления реакционных смесей. Это позволит как уменьшить вероятность технической ошибки операторов, так и снизить вероятность внесения ингибиторов, спорадической кросс-контаминации образцов. Также необходимо разработать альтернативный комплект *SDHA*-специфичных праймеров с включением интрона для снижения вероятности неспецифичной гибридизации зонда. В случае, если эти меры не приведут к снижению вариабельности анализа, потребуется замена и/или введение третьего РГ.

Проанализированная в ходе работы информация указывает на принципиальную возможность оптимизации и использования подобранных экспериментальных условий ОТ-рвПЦР и обосновывает направление дальнейших исследований. Прежде всего, необходима оценка стабильности экспрессии РГ *SDHA* и *ACTB* при воздействии различных факторов на клетки в условиях *in vitro*, что позволит валидировать методику количественного определения целевых генов. Также дизайн использованных праймеров и зондов гипотетически допускает мультиплексирование реакции, что значительно расширит аналитические возможности, а также сократит время проведения и снизит себестоимость ПЦР-анализа [30].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования разработана методика оценки экспрессии генов «домашнего хозяйства» *ACTB* и *SDHA* в клетках восточноазиатской лесной мыши (*A. peninsulae*) и свиньи (*S. scrofa*) на основе ОТ-рвПЦР. Разработанные ПЦР-тесты позволяют обнаруживать мРНК широкого спектра животных, имеют высокие показатели вариабельности, линейности, эффективности, повторяемости и воспроизводимости анализа и обладает потенциалом к мультиплексированию количественной оценки экспрессии. Это обуславливает необходимость и целесообразность дальнейшей оптимизации и валидации разработанной методики в качестве базового инструмента для количественной оценки экспрессии генов млекопитающих-хозяев зоонозных инфекций в норме и при патологии.

### Финансирование

Работа выполнена в рамках НИР ПНИ № 123051600027-1.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск).

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. FAO, UNEP, WHO, and WOAH. One Health Joint Plan of Action (2022–2026). *Working together for the health of humans, animals, plants and the environment*. Rome; 2022. doi: 10.4060/cc2289en
2. Plourde BT, Burgess TL, Eskew EA, Roth TM, Stephenson N, Foley JE. Are disease reservoirs special? Taxonomic and life history characteristics. *PLoS One*. 2017; 12(7): e0180716. doi: 10.1371/journal.pone.0180716
3. Donoso MO, Karan LS, Růžek D. Tick-borne encephalitis viruses: A general overview. In: *Flavivirus encephalitis*. 2011: 133-156. doi: 10.5772/21912
4. Halouani A, Jmii H, Michaux H, Renard C, Martens H, Pirotin D, et al. Housekeeping gene expression in the fetal and neonatal murine thymus following coxsackievirus B4 infection. *Genes (Basel)*. 2020; 11(3): 279. doi: 10.3390/genes11030279
5. Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellems J, Huggett J, Kubista M, et al. The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem*. 2009; 55(4): 611-622. doi: 10.1373/clinchem.2008.112797
6. De Spiegelaere W, Dern-Wieloch J, Weigel R, Schumacher V, Schorle H, Nettersheim D, et al. Reference gene validation for RT-qPCR, a note on different available software packages. *PLoS One*. 2015; 10(3): e0122515. doi: 10.1371/journal.pone.0122515
7. Panina Y, Germond A, Masui S, Watanabe TM. Validation of common housekeeping genes as reference for qPCR gene expression analysis during iPSC reprogramming process. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 8716. doi: 10.1038/s41598-018-26707-8
8. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paep A, et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol*. 2002; 3(7): RESEARCH0034. doi: 10.1186/gb-2002-3-7-research0034
9. Хаснатинов М.А., Болотова Н.А., Миловидов К.С., Данчинова Г.А., Кондратов И.Г. Репликация РНК вируса клещевого энцефалита в новой перевиваемой линии клеток естественного хозяина *Apodemus peninsulae*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2018; 36(1): 41-45. [Khasnatinov MA, Bolotova NA, Milovidov KS, Danchinova GA, Kondratov IG. Replication of RNA of tick-borne encephalitis virus in new transferable cell lines of the natural host *Apodemus peninsulae*. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2018; 36(1): 41-45. (In Russ.)]. doi: 10.18821/0208-0613-2018-36-1-41-45
10. Chapman JR, Waldenström J. With reference to reference genes: A systematic review of endogenous controls in gene expression studies. *PLoS One*. 2015; 10(11): e0141853. doi: 10.1371/journal.pone.0141853
11. Adeola F. Normalization of gene expression by quantitative RT-PCR in human cell line: comparison of 12 endogenous reference genes. *Ethiop J Health Sci*. 2018; 28(6): 741-748. doi: 10.4314/ejhs.v28i6.9
12. Gu Y, Tang S, Wang Z, Cai L, Lian H, Shen Y, et al. A pan-cancer analysis of the prognostic and immunological role of  $\beta$ -actin (*ACTB*) in human cancers. *Bioengineered*. 2021; 12(1): 6166-6185. doi: 10.1080/21655979.2021.1973220
13. Higuera A, Muñoz M, López MC, Reyes P, Urbano P, Villalobos O, et al. Succinate dehydrogenase gene as a marker for studying *Blastocystis* genetic diversity. *Heliyon*. 2020; 6(11): e05387. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05387

14. Nygard AB, Jørgensen CB, Cirera S, Fredholm M. Selection of reference genes for gene expression studies in pig tissues using SYBR green qPCR. *BMC Mol Biol.* 2007; 8: 67. doi: 10.1186/1471-2199-8-67
15. Axtner J, Sommer S. Validation of internal reference genes for quantitative real-time PCR in a non-model organism, the yellow-necked mouse, *Apodemus flavicollis*. *BMC Res Notes.* 2009; 2: 264. doi: 10.1186/1756-0500-2-264
16. McCulloch RS, Ashwell MS, O’Nan AT, Mente PL. Identification of stable normalization genes for quantitative real-time PCR in porcine articular cartilage. *J Anim Sci Biotechnol.* 2012; 3(1): 36. doi: 10.1186/2049-1891-3-36
17. Röhn G, Koch A, Krischek B, Stavrinou P, Goldbrunner R, Timmer M. *ACTB* and *SDHA* are suitable endogenous reference genes for gene expression studies in human astrocytomas using quantitative RT-PCR. *Technol Cancer Res Treat.* 2018; 17: 1533033818802318. doi: 10.1177/1533033818802318
18. Geigges M, Gubser PM, Unterstab G, Lecoultre Y, Paro R, Hess C. Reference genes for expression studies in human CD8<sup>+</sup> naïve and effector memory T cells under resting and activating conditions. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 9411. doi: 10.1038/s41598-020-66367-1
19. Lucas Nascimento Souza J, Cavalcante Silva F, da Silva CG, Maria Fortaleza Neves Bomfim I, Rocha de Medeiros H, Giotto Zarus L. Analysis of the stability of the reference genes *GAPDH*, *SDHA* and *RPL-19* in sheep from a semi-arid region infected by gastrointestinal nematodes. *BMC Vet Res.* 2023; 19(1): 147. doi: 10.1186/s12917-023-03709-x
20. van Rijn SJ, Riemers FM, van den Heuvel D, Wolfswinkel J, Hofland L, Meij BP, et al. Expression stability of reference genes for quantitative RT-PCR of healthy and diseased pituitary tissue samples varies between humans, mice, and dogs. *Mol Neurobiol.* 2014; 49(2): 893-899. doi: 10.1007/s12035-013-8567-7
21. Kumar VE, Cherupanakal C, Catherine M, Kadhiraivan T, Parameswaran N, Rajendiran S, et al. Endogenous gene selection for relative quantification PCR and IL6 transcript levels in the PB-MC’s of severe and non-severe dengue cases. *BMC Res Notes.* 2018; 11(1): 550. doi: 10.1186/s13104-018-3620-2
22. Lin XH, Chowdhury D, Seo SH. Inflammatory & apoptotic factor fluctuations associated with Japanese encephalitis virus infection in transgenic IFNAR1<sup>-/-</sup> Mice. *Curr Microbiol.* 2024; 81(8): 239. doi: 10.1007/s00284-024-03759-w
23. Sahu AR, Wani SA, Saxena S, Rajak KK, Chaudhary D, Sahoo AP, et al. Selection and validation of suitable reference genes for qPCR gene expression analysis in goats and sheep under Peste des petits ruminants virus (PPRV), lineage IV infection. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 15969. doi: 10.1038/s41598-018-34236-7
24. Thompson D, Sorenson J, Greenmyer J, Brissette CA, Watt JA. The Lyme disease bacterium, *Borrelia burgdorferi*, stimulates an inflammatory response in human choroid plexus epithelial cells. *PLoS One.* 2020; 15(7): e0234993. doi: 10.1371/journal.pone.0234993
25. Walpole RE, Myers RH, Myers SL, Ye K. *Probability and statistics for engineers and scientists*; 8<sup>th</sup> ed. Upper Saddle River: Pearson Education; 2007.
26. Rogers-Broadway KR, Karteris E. Amplification efficiency and thermal stability of qPCR instrumentation: Current landscape and future perspectives. *Exp Ther Med.* 2015; 10(4): 1261-1264. doi: 10.3892/etm.2015.2712
27. Hays A, Islam R, Matys K, Williams D. Best practices in qPCR and dPCR validation in regulated bioanalytical laboratories. *AAPS J.* 2022; 24(2): 36. doi: 10.1208/s12248-022-00686-1
28. Thermo Fisher Scientific. *QPCR optimization & troubleshooting guide*. URL: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/BID/Product-Guides/D13002~.pdf> [date of access: 15.09.2024].
29. Sandercock DA, Coe JE, Di Giminiani P, Edwards SA. Determination of stable reference genes for RT-qPCR expression data in mechanistic pain studies on pig dorsal root ganglia and spinal cord. *Res Vet Sci.* 2017; 114: 493-501. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.09.025
30. Schwarz AP, Malygina DA, Kovalenko AA, Trofimov AN, Zaitsev AV. Multiplex qPCR assay for assessment of reference gene expression stability in rat tissues/samples. *Mol Cell Probes.* 2020; 53: 101611. doi: 10.1016/j.mcp.2020.101611

#### Сведения об авторах

**Ляпунова Наталья Андреевна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nataly2193@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6039-0854>

**Хаснатинов Максим Анатольевич** – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

**Данчинова Галина Анатольевна** – доктор биологических наук, руководитель лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: dan-chin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6705-3970>

**Соловаров Иннокентий Сергеевич** – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: keschass@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9936-5330>

#### Information about the authors

**Natalia A. Liapunova** – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nataly2193@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6039-0854>

**Maxim A. Khasnatinov** – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8441-3640>

**Galina A. Danchinova** – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: dan-chin@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6705-3970>

**Innokentii S. Solovarov** – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: keschass@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9936-5330>

## ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ INFECTIOUS DISEASES

### ИММУННЫЙ СТАТУС У ЖЕНЩИН ПОСЛЕ COVID-19, ПРОЖИВАЮЩИХ В СУБАРКТИЧЕСКОМ РЕГИОНЕ

Щёголева Л.С.,  
Шашкова Е.Ю.,  
Каббани М.С.,  
Филиппова О.Е.

ФГБУН «Федеральный исследовательский  
центр комплексного изучения Арктики  
имени академика Н.П. Лаверова  
УрО РАН» (163020, г. Архангельск,  
просп. Никольский, 20, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Шашкова Елизавета Юрьевна,  
e-mail: eli1255@ya.ru

#### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Известно, что Т-клеточный иммунитет играет центральную роль в контроле инфекции SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2), поэтому крайне важно понимать его значение при восстановлении после COVID-19 (coronavirus disease 2019), особенно в неблагоприятных условиях Севера.

**Цель исследования.** Оценить состояние иммунного статуса у женщин после COVID-19, проживающих в субарктическом регионе Российской Федерации.

**Материалы и методы.** Обследовано 50 женщин в возрасте 36–46 лет, из которых 38 вакцинированных женщин, переболевших COVID-19, спустя 6 и 12 месяцев после выздоровления, и 12 женщин (контроль), не болевших COVID-19 и не вакцинированных (Архангельская область). Изучали количество лейкоцитов, лейкограмму и фенотипы лимфоцитов (CD5<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD10<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>).

**Результаты.** Вклад моноцитов в формирование адаптивной иммунной реакции среди жительниц субарктического региона снижается у перенёсших COVID-19 лёгкой степени тяжести и увеличивается у перенёсших COVID-19 средней степени тяжести. Установлено, что дисбаланс в формировании иммунного ответа после COVID-19 формируется за счёт врождённого иммунитета (CD16<sup>+</sup>, нейтрофилы ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,001$ )), оказывает влияние на адаптивный иммунитет и зависит от степени тяжести перенесённого заболевания и срока после выздоровления. Наиболее значительный вклад в формирование адаптивного иммунного ответа установлен за счёт клеточно-опосредованной цитотоксичности (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) и активности процессов апоптоза (CD95<sup>+</sup>) как через 6, так и через 12 месяцев и не зависит от степени тяжести перенесённого заболевания COVID-19. Сформировавшийся через 6 месяцев после перенесённого COVID-19 адаптивный иммунный ответ с высоким уровнем клеточно-опосредованной цитотоксичности и активности процессов апоптоза, превалирующей над лимфопротекцией, сохраняется и через 12 месяцев, что характеризует состояние иммунного гомеостаза как напряжённое.

**Заключение.** У обследованных женщин, переболевших COVID-19, клеточно-опосредованная цитотоксичность (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) ассоциирована с активацией моноцитарной системы, имеет пролонгированное действие до 12 месяцев и зависит от тяжести перенесённого заболевания COVID-19 в 66,7–90 % случаев.

**Ключевые слова:** Север, COVID-19, цитотоксические лимфоциты, иммунные дисбалансы, субарктический регион

Статья поступила: 23.04.2024  
Статья принята: 18.09.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Щёголева Л.С., Шашкова Е.Ю., Каббани М.С., Филиппова О.Е. Иммунный статус у женщин после COVID-19, проживающих в субарктическом регионе. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 96-106. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.10

## IMMUNE STATUS IN WOMEN AFTER COVID-19 LIVING IN THE SUBARCTIC REGION

Shchegoleva L.S.,  
Shashkova E.Yu.,  
Kabbani M.S.,  
Filippova O.E.

N. Laverov Federal Center  
for Integrated Arctic Research, Ural Branch  
of the Russian Academy of Sciences  
(Nikolsky Ave. 20, Arkhangelsk 163020,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
Elizaveta Yu. Shashkova,  
e-mail: eli1255@ya.ru

## ABSTRACT

**Background.** T cell immunity is known to play a central role in controlling SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) infection, so it is critical to understand its role in recovery from COVID-19 (coronavirus disease 2019), especially in the unfavorable conditions of the North.

**The aim.** To assess the immune status of women after COVID-19 living in the subarctic region of the Russian Federation.

**Materials and methods.** We examined a total of 50 women aged 36–46 years, including 38 vaccinated women 6 and 12 months after recovery from COVID-19 and 12 women (control group) who had not had COVID-19 and had not been vaccinated (Arkhangelsk region). We studied leukocyte count, leukogram and lymphocyte phenotypes (CD5<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD10<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>).

**Results.** The contribution of monocytes to the formation of the adaptive immune response among female residents of the subarctic region decreases in those who have had mild COVID-19 and increases in those who have had moderate COVID-19. It was found that the imbalance in the formation of the immune response after COVID-19 is formed due to innate immunity (CD16<sup>+</sup>, neutrophils ( $r = 0.89$ ;  $p < 0.001$ )), affects the adaptive immunity and depends on the severity of the disease and the time since recovery. The most significant contribution to the formation of the adaptive immune response was established due to cell-mediated cytotoxicity (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) and the activity of apoptotic processes (CD95<sup>+</sup>) both after 6 and 12 months and does not depend on the severity of the COVID-19. The adaptive immune response formed 6 months after COVID-19 with a high level of cell-mediated cytotoxicity and activity of apoptotic processes prevailing over lymphoproliferation persists after 12 months, which indicates a tense state of immune homeostasis.

**Conclusion.** In the examined women who had recovered from COVID-19, cell-mediated cytotoxicity (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) is associated with the activation of the monocyte system, has a prolonged effect of up to 12 months and depends on the severity of the previous COVID-19 in 66.7–90 % of cases.

**Key words:** North, COVID-19, cytotoxic lymphocytes, immune imbalance, subarctic region

Received: 23.04.2024  
Accepted: 18.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Shchegoleva L.S., Shashkova E.Yu., Kabbani M.S., Filippova O.E. Immune status in women after COVID-19 living in the subarctic region. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 96-106. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.10

## ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система играет решающую роль в защите организма от внешних агентов. Климатогеографические условия проживания, перенесённые заболевания в анамнезе, профессиональный и социальный статус и другие факторы могут оказывать влияние на состояние иммунного гомеостаза [1–3]. Известно, что врождённые защитные системы организма, особенно клетки с рецептором CD16<sup>+</sup>, активируются инфекцией COVID-19 [4]. Независимо от T-клеточного рецептора эти клетки инициируют опосредованную иммунными комплексами дегрануляцию и цитотоксичность. Помимо повреждения клеток, выстилающих микрососудистую систему, этот процесс вызывает высвобождение хемоаттрактантов для нейтрофилов и моноцитов. Кроме того, они играют важную роль в патофизиологии COVID-19, собственная активность T-клеток CD16<sup>+</sup> также связана с фатальными последствиями в сочетании с белками комплемента, такими как C3a [5, 6].

E.Z. Ong и соавт. [7] установлено, что во влажном субтропическом городе Ухань (Китай) уровень цитокинов (интерлейкина 1 $\beta$ ) повышается в соответствии с интенсивностью инфекции. Это в свою очередь отражается на T-лимфоцитах, в том числе на T-хелперах и цитотоксических клетках, вызывая снижение их концентрации в периферической крови.

В исследовании С.К. Kang и соавт. [8] показано, что тяжесть инфекции COVID-19 взаимосвязана с эффективностью иммунного ответа, включая фагоцитарную активность, уровни антител и наличие В-клеток памяти, которые сохранялись спустя год после заражения. Однако динамика иммунного ответа сильно различается при инфекции COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания [9]. Недавнее исследование, опубликованное в академическом журнале Nature, показало, что люди, выздоровевшие от инфекции SARS-CoV-2, даже если их симптомы были лёгкими, по-видимому, имеют определённый уровень защиты от вируса в течение как минимум одного года [10].

В исследовании М. Belik и соавт., проведённом в северном регионе Финляндии [11], подтверждено значительное усиление гуморального и клеточного иммунного ответа после вакцинации. Однако через 3 месяца уровень гуморального ответа имеет тенденцию к снижению, тогда как уровни T-хелперов и цитотоксических T-лимфоцитов остаются относительно стабильными. Интересно, что эффективность T-клеток в распознавании и реагировании на различные субварианты вируса остаётся неизменной. J. Lechner-Scott и соавт. [12] предположили, что основной причиной повреждения нейронов и формирования синдрома поствирусной усталости после заражения COVID-19 является аутоиммунный процесс с чрезмерной активацией врождённого иммунного ответа и активацией цитокинов. Понимание роли различных субпопуляций T-клеток в защите или патогенезе COVID-19 имеет решающее значение для профилактики и лечения. Профиль экспрессии различных T-клеточных субпопуляций различается при COVID-19

различной степени тяжести и ассоциирован с величиной ответов T-клеток и исходом заболевания.

После прошедшей пандемии очень важна разработка методов клеточной иммунологии человека, так как T-клеточный иммунитет играет центральную роль в контроле инфекции SARS-CoV-2, и его значение до сих пор недооценено. Изучение активности T-клеточного иммунитета поможет раскрыть его значение во многих других областях медицины [13]. Клеточный иммунный ответ является важным компонентом иммунной защиты от внутриклеточных патогенов и основной детерминантой клинического исхода после заражения SARS-CoV-2. Антитела играют решающую роль в нейтрализации и элиминации вируса, но есть доказательства того, что вирус SARS-CoV-2 может распространяться при межклеточном контакте и что такое распространение устойчиво к нейтрализации антителами [14]. Это наблюдение позволяет предположить, что T-клеточный иммунитет может иметь важнейшее значение для элиминации вируса. Таким образом, изучение иммунного статуса у жителей субарктического региона после COVID-19 является необходимым для оценки роли T-клеточного иммунитета в сохранении резервных возможностей иммунного гомеостаза.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить состояние иммунного статуса у женщин после COVID-19, проживающих в субарктическом регионе России.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе лаборатории физиологии иммунокомпетентных клеток в институте физиологии природных адаптаций ФГБУН «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаврова УрО РАН» (г. Архангельск).

Обследовано 50 женщин в возрасте 36–46 лет, проживающих в субарктическом регионе России (г. Архангельск, Архангельская область), среди которых 38 женщин, вакцинированных Sputnik V за 1 месяц до заболевания. Обследование проводили через 6 и 12 месяцев после их выздоровления от COVID-19. Контрольная группа состояла из 12 женщин, практически здоровых, не вакцинированных и не болевших COVID-19 (п. Пинега, Архангельская область). Обследуемые разделены в зависимости от тяжести перенесённого заболевания на две подгруппы: лёгкая форма (22 женщины) и средняя степень тяжести (16 женщин).

На момент взятия крови у обследуемых не было хронической патологии в анамнезе и отсутствовали постковидные осложнения. Получено добровольное согласие респондентов на проведение обследования. Весь комплекс обследований проводился с соблюдением норм и правил биомедицинской этики, представленных в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциация

ции об этических принципах проведения медицинских исследований (2013). Для проведения исследования получено заключение этического комитета ФГБУН «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН» (протокол № 4 от 10.02.2022). Работа выполнена в рамках государственного задания, шифр научной темы FUUW-2022-0054 «Физиологическая значимость особенностей иммунного гомеостаза, функциональной и рецепторной активности иммунокомпетентных клеток у людей в экстремальных меняющихся условиях среды с учётом профессионального статуса и социально-значимых заболеваний у жителей Приарктического региона» (№ государственной регистрации 122011700267-5).

Иммунологическое обследование включало в себя определение общего количества лейкоцитов, лейкоцитарной формулы и фенотипов лимфоцитов (CD5<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD10<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>) в периферической венозной крови. Содержание лейкоцитов определяли стандартным методом подсчёта клеток в камере Горяева. Лимфоцитарная субпопуляция определена методом непрямой иммунопероксидазной реакции с использованием моноклональных антител (НПЦ «МедБиоСпектр», Москва) на препаратах лимфоцитов типа «высушенная капля» с применением пероксидазного конъюгата и окрашиванием раствором хромогена для анализа в иммерсионной микроскопии (Nikon Eclipse 50i, Nikon Healthcare, Япония).

Статистическая обработка выполнена с помощью программ SPSS 24.0 и Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corp., США). Проверку нормальности распределения количественных показателей осуществляли при помощи критерия Шапиро – Уилка. Вследствие отсутствия нормального распределения использовали медиану (Me) с процентильным интервалом 25–75 (Q1–Q3). Также использовали 95%-й доверительный интервал (95% ДИ) для определения диапазона нахождения истинных средних значений. Оценка статистически значимых различий для множественных выборок выполнена с помощью критерия Краскела – Уоллиса и с учётом поправки Бонферрони ( $p < 0,01$ ), а для парных независимых выборок – с использованием критерия Манна – Уитни. Оценка статистической значимости взаимосвязи между показателями выполнена с помощью коэффициента корреляции Спирмена, уровень значимости  $p < 0,05–0,01$ .

Определение вклада фагоцитарной фазы (нейтрофилы, моноциты, эозинофилы и базофилы) и адаптивной фазы (лимфоциты и их субпопуляции) в формирование иммунного ответа выполнено с помощью коэффициентных значений показателей. Вклад определяется путём умножения коэффициентного значения на концентрацию показателя. Процентный вклад показателя равен вкладу показателя, умноженному на 100 и разделённому на суммарный вклад всех показателей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ показал, что статистически значимые различия между иммунологическими показателями обследо-

емых, перенёсших COVID-19, спустя 6 месяцев и 12 месяцев после выздоровления не обнаружены независимо от тяжести заболевания.

Медиана содержания лейкоцитов у всех обследованных групп находится в пределах физиологических норм независимо от тяжести заболевания и давности выздоровления. Концентрация лейкоцитов у женщин, перенёсших COVID-19, спустя 6 месяцев статистически значимо выше, чем у группы контроля, независимо от степени тяжести заболевания ( $p < 0,01$ ; табл. 1).

Дефицит количества лейкоцитов выявлен у 8,3 и 14,3 % женщин через 12 месяцев после COVID-19 с лёгкой и средней степенью тяжести соответственно, что статистически значимо ниже в 3–5 раз, чем у группы контроля (41,7 %;  $p < 0,01$ ).

Высокое содержание лейкоцитов установлено у 8,3 % женщин с лёгкой степенью тяжести через 12 месяцев после заболевания и у 22,2 % женщин с умеренной степенью тяжести спустя 6 месяцев после заболевания. При этом медиана количества лимфоцитов у всех обследованных находится в пределах физиологических норм независимо от тяжести заболевания и давности выздоровления, но статистически значимо ниже, чем у женщин группы контроля ( $p < 0,05$ ).

Низкое содержание лимфоцитов зарегистрировано у 10,0 и 33,3 % женщин через 6 месяцев после COVID-19 лёгкой и средней степени тяжести соответственно. Низкое содержание лимфоцитов сохранялось у 16,7 и 28,6 % женщин спустя 12 месяцев после COVID-19 лёгкой и средней степени тяжести соответственно. Дефицит количества лимфоцитов у группы контроля не зарегистрирован.

Медиана количества нейтрофилов в периферической крови у всех обследованных групп находится в пределах физиологических норм независимо от тяжести заболевания и давности выздоровления, но статистически значимо выше, чем у женщин группы контроля ( $1,54 (1,03–1,96) \times 10^9/\text{л}$ ;  $p < 0,01$ ). Снижение количества нейтрофилов выявлено у 16,7 % женщин спустя 12 месяцев после COVID-19 в лёгкой форме. Высокая концентрация нейтрофилов зарегистрирована у 22,2 % женщин спустя 6 месяцев после перенесённого COVID-19 средней степени тяжести.

Медиана содержания моноцитов, эозинофилов и базофилов находится в пределах физиологических норм во всех изучаемых группах с отсутствием статистической значимости с группой контроля.

Концентрация лимфоцитов с маркером CD5<sup>+</sup> находится ниже физиологических норм как у переболевших, так и у группы контроля с регистрацией состояния дефицита у 100,0 % женщин независимо от тяжести заболевания или давности перенесённой инфекции; при этом медиана количества клеток с маркером CD5<sup>+</sup> у женщин группы контроля незначительно выше, чем у женщин после COVID-19.

Медиана концентрации цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>) находится в диапазоне  $0,47–0,60 \times 10^9/\text{л}$ , что превышает референсную величину ( $0,20–0,40 \times 10^9/\text{л}$ ) независимо от тяжести и срока перенесённого COVID-19.

**ТАБЛИЦА 1**  
**МЕДИАНА ИММУННЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ**  
**ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ЖЕНЩИН**  
**СУБАРКТИЧЕСКОГО РЕГИОНА, ПЕРЕНЁСШИХ COVID-19**  
**ЛЁГКОЙ И СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ,**  
**ЧЕРЕЗ 6 И 12 МЕСЯЦЕВ ПОСЛЕ ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ,  $\times 10^9/\text{л}$**

**TABLE 1**  
**MEDIAN PERIPHERAL BLOOD IMMUNE PARAMETERS**  
**IN WOMEN LIVING IN THE SUBARCTIC REGION**  
**6 AND 12 MONTHS AFTER RECOVERY FROM MILD**  
**AND MODERATE COVID-19,  $\times 10^9/\text{L}$**

Показатели	Лёгкая степень тяжести (n = 22)		Средняя степень тяжести (n = 16)		Контроль (n = 12)	p
	6 месяцев (n = 10)	12 месяцев (n = 12)	6 месяцев (n = 9)	12 месяцев (n = 7)		
Me (Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ) / 95% ДИ (Q1-Q3)						
Лейкоциты	5,69 (5,30-6,45) / (5,26-6,50)	5,56 (4,83-7,33) / (4,55-8,05)	6,89 (5,13-8,72) / (5,20-8,61)	5,07 (4,30-5,88) / (3,98-6,41)	4,45 (3,73-5,18) / (3,92-5,48)	0,035
Лимфоциты	1,91 (1,79-2,03) / (1,75-2,01)	1,99 (1,72-2,40) / (1,58-2,70)	1,74 (1,45-2,40) / (1,46-2,33)	1,90 (1,37-2,01) / (1,25-2,29)	2,42 (2,03-3,31) / (2,11-3,00)	0,057
Нейтрофилы	3,01 (2,59-4,01) / (2,64-3,84)	2,58 (2,11-4,31) / (2,08-4,53)	3,01 (2,69-5,36) / (2,59-5,15)	2,64 (2,44-3,20) / (2,14-3,78)	1,54 (1,03-1,96) / (1,12-2,25)	<b>0,001</b>
Моноциты	0,35 (0,32-0,56) / (0,32-0,51)	0,51 (0,35-0,74) / (0,40-0,65)	0,45 (0,29-0,62) / (0,31-0,67)	0,44 (0,36-0,49) / (0,33-0,51)	0,37 (0,20-0,50) / (0,23-0,49)	0,323
Эозинофилы	0,10 (0,07-0,13) / (0,07-0,13)	0,14 (0,09-0,24) / (0,10-0,22)	0,10 (0,08-0,44) / (0,03-0,44)	0,10 (0,06-0,18) / (0,05-0,18)	0,10 (0,07-0,16) / (0,08-0,15)	0,562
Базофилы	0,04 (0,02-0,05) / (0,02-0,05)	0,04 (0,03-0,07) / (0,03-0,06)	0,04 (0,02-0,06) / (0,02-0,05)	0,02 (0,02-0,03) / (0,01-0,05)	0,03 (0,02-0,04) / (0,02-0,03)	0,132
CD5 <sup>+</sup>	0,48 (0,43-0,59) / (0,43-0,60)	0,56 (0,42-0,64) / (0,43-0,75)	0,56 (0,40-0,64) / (0,42-0,65)	0,50 (0,35-0,68) / (0,34-0,65)	0,61 (0,47-0,78) / (0,50-0,74)	0,623
CD8 <sup>+</sup>	0,55 (0,41-0,71) / (0,46-0,70)	0,60 (0,45-0,67) / (0,46-0,77)	0,47 (0,39-0,70) / (0,40-0,68)	0,52 (0,41-0,56) / (0,37-0,62)	0,55 (0,42-0,70) / (0,45-0,65)	0,765
CD10 <sup>+</sup>	0,48 (0,44-0,70) / (0,42-0,64)	0,57 (0,40-0,65) / (0,43-0,70)	0,46 (0,39-0,57) / (0,39-0,59)	0,44 (0,33-0,58) / (0,30-0,63)	0,49 (0,39-0,73) / (0,44-0,67)	0,824
CD16 <sup>+</sup>	0,51 (0,47-0,71) / (0,47-0,67)	0,61 (0,44-0,69) / (0,46-0,76)	0,49 (0,46-0,75) / (0,44-0,69)	0,59 (0,36-0,60) / (0,37-0,67)	0,59 (0,48-0,77) / (0,50-0,75)	0,831
CD95 <sup>+</sup>	0,57 (0,43-0,64) / (0,45-0,67)	0,62 (0,43-0,66) / (0,47-0,76)	0,49 (0,43-0,63) / (0,42-0,67)	0,50 (0,35-0,65) / (0,35-0,69)	0,52 (0,37-0,60) / (0,40-0,65)	0,672

**Примечание.** p – уровень статистической значимости различий показателей пациентов с лёгкой и средней степенью тяжести COVID-19 с показателями в группе контроля (критерий Краскела – Уоллиса).

Высокое содержание цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>) выявлено у 90 и 83,3 % женщин с лёгкой степенью тяжести COVID-19 спустя 6 и 12 месяцев соответственно и у 66,7 и 85,7 % женщин с умеренной тяжестью COVID-19 спустя 6 и 12 месяцев соответственно, что не имеет статистически значимого различия с показателями в группе контроля (83,3 %).

Медиана количества клеток, отражающих уровень лимфолиферации, несущих на своей поверхности маркер CD10<sup>+</sup>, находится в пределах физиологических норм во всех изучаемых группах (в т. ч. в группе контроля) с отсутствием статистически значимого различия между группами независимо от тяжести заболевания COVID-19 или давности выздоровления. Медиана количества клеток с маркером CD10<sup>+</sup> находится в диапазоне 0,44–0,57  $\times 10^9/\text{л}$ . Повышенное содержание клеток с рецептором CD10<sup>+</sup> установлено у 30,0 и 33,3 % женщин с лёгкой степенью тяжести COVID-19 спустя

6 и 12 месяцев. Выявлено, что повышенное содержание клеток с рецептором CD10<sup>+</sup> у женщин с умеренной тяжестью COVID-19 спустя 6 и 12 месяцев встречалось в 22,2 и 14,3 % случаев соответственно. В то же время повышенное содержание клеток с рецептором CD10<sup>+</sup> выявлено у 41,7 % женщин группы контроля, что практически в 1,8–2,8 раза больше, чем у женщин, перенёсших COVID-19 средней степени тяжести (p < 0,05).

Медиана содержания естественных киллеров (CD16<sup>+</sup>) превышает норму (0,25–0,50  $\times 10^9/\text{л}$ ) у всех обследуемых, кроме женщин, перенёсших COVID-19 средней степени тяжести с давностью 6 месяцев, с отсутствием статистически значимого различия между группами.

Высокая концентрация естественных киллеров CD16<sup>+</sup> зарегистрирована у 50,0 % и 66,7 % женщин с лёгкой степенью тяжести COVID-19 спустя 6 и 12 месяцев соответственно. Высокая концентрация естественных киллеров CD16<sup>+</sup> у 44,4 и 57,1 % женщин с умеренной тяже-

стью COVID-19 через 6 и 12 месяцев не имеет статистически значимого различия по сравнению с женщинами группы контроля (66,7 %).

Медиана содержания лимфоцитов с рецептором к апоптозу (CD95<sup>+</sup>) у группы контроля и женщин, перенёвших COVID-19 средней степени тяжести, независимо от давности выздоровления находится в пределах физиологических норм (0,45–0,55 × 10<sup>9</sup>/л). В то же время их содержание превышает норму у женщин, переболевших COVID-19 лёгкой степени тяжести, независимо от давности выздоровления. Важно отметить, что выявленное высокое содержание лимфоцитов с рецептором к апоптозу (CD95<sup>+</sup>) у женщин, перенёвших COVID-19 в лёгкой форме, по сравнению с группой контроля, не имело статистической значимости.

Снижение количества клеток с маркером CD95<sup>+</sup> установлено у 22,2 и 30,0 % женщин (6 и 12 месяцев после выздоровления соответственно), переболевших COVID-19, независимо от тяжести заболевания или давности выздо-

рования, при этом у группы контроля дефицит содержания клеток CD95<sup>+</sup> выявлен в 33,3 % случаев.

Повышенное содержание клеток с маркером к апоптозу CD95<sup>+</sup> установлено у 60,0 и 66,7 % женщин с лёгкой степенью тяжести COVID-19 спустя 6 и 12 месяцев и у 44,4 и 42,9 % женщин со средней степенью тяжести COVID-19 спустя 6 и 12 месяцев соответственно, что значительно больше, чем у женщин группы контроля (41,7 %).

Представляло интерес выявление вклада исследуемых иммунологических показателей в формирование адаптивного иммунного ответа, что представлено в таблице 2. Как видно из представленных данных, статистически значимых различий в зависимости от давности выздоровления от COVID-19 не установлено. В то же время статистически значимое различие установлено в зависимости от тяжести перенесённого заболевания между обследованными группами по вкладом следующих показателей (*p* < 0,05–0,01): количество моноцитов; количество эозинофилов; количество базофилов; количе-

**ТАБЛИЦА 2**  
**МЕДИАНА ПРОЦЕНТНОГО ВКЛАДА ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ФОРМИРОВАНИЕ АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ЖЕНЩИН СУБАРКТИЧЕСКОГО РЕГИОНА, ПЕРЕНЁВШИХ COVID-19 ЛЁГКОЙ И СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ, СПУСТЯ 6 И 12 МЕСЯЦЕВ ПОСЛЕ ВЫЗДОРОВЛЕНИЯ, %**

**TABLE 2**  
**MEDIAN PERCENTAGE CONTRIBUTION OF IMMUNE PARAMETERS TO THE FORMATION OF THE ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE IN WOMEN LIVING IN THE SUBARCTIC REGION 6 AND 12 MONTHS AFTER RECOVERY FROM MILD AND MODERATE COVID-19, %**

Показатели	Лёгкая степень тяжести (n = 22)		Средняя степень тяжести (n = 16)		Контроль (n = 12)	p
	6 месяцев (n = 10)	12 месяцев (n = 12)	6 месяцев (n = 9)	12 месяцев (n = 7)		
Me (Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> ) / 95% ДИ (Q1–Q3)						
Лимфоциты	24,37 (23,43–25,87) / (23,14–26,74)	24,66 (23,25–27,29) / (22,94–29,57)	25,27 (23,99–26,81) / (23,68–26,91)	25,95 (22,50–30,66) / (23,14–26,74)	52,47 (47,89–58,51) / (48,18–56,88)	< 0,001
Нейтрофилы	32,36 (22,99–37,32) / (24,93–35,95)	27,64 (21,53–33,42) / (23,60–31,93)	31,89 (26,74–35,61) / (26,53–35,14)	26,48 (20,64–35,42) / (21,68–34,74)	–2,30 (–3,43÷–1,42) / (–3,09– –1,68)	< 0,001
Моноциты	–0,54 (–0,84÷–0,44) / (–0,83÷–0,46)	–0,75 (–0,98÷–0,52) / (–0,94÷–0,60)	4,56 (3,15–5,80) / (3,30–5,83)	4,43 (3,95–4,98) / (3,83–5,19)	2,65 (1,68–4,43) / (1,87–4,16)	< 0,001
Эозинофилы	0,77 (0,52–0,98) / (0,56–1,00)	1,19 (0,68–1,71) / (0,79–1,65)	–0,36 (–1,56÷–0,27) / (–1,69÷–0,06)	–0,39 (–0,56÷–0,24) / (–0,56÷–0,23)	1,95 (1,33–3,93) / (1,54–2,96)	< 0,001
Базофилы	0,15 (0,06–0,18) / (0,08–0,19)	0,13 (0,11–0,25) / (0,11–0,25)	0,01 (0,00–0,01) / (0,00–0,01)	0,01 (0,00–0,01) / (0,00–0,01)	0,30 (0,21–0,34) / (0,24–0,33)	< 0,001
CD5 <sup>+</sup>	7,68 (7,01–8,72) / (7,11–9,03)	8,43 (7,63–9,97) / (7,72–9,43)	7,65 (6,60–8,44) / (6,64–8,78)	7,86 (6,84–9,24) / (6,61–9,12)	9,87 (7,61–10,64) / (8,13–10,65)	0,130
CD8 <sup>+</sup>	9,15 (8,29–10,67) / (7,92–10,88)	9,26 (8,46–10,91) / (8,40–10,52)	8,49 (7,19–9,89) / (7,08–10,13)	8,34 (7,91–10,41) / (7,79–9,96)	9,59 (8,79–11,00) / (8,80–10,88)	0,417
CD10 <sup>+</sup>	8,41 (7,32–10,86) / (7,16–9,84)	8,51 (7,61–9,62) / (7,70–9,43)	7,51 (6,24–8,80) / (6,37–8,53)	7,72 (5,93–10,06) / (5,69–9,56)	10,01 (7,84–12,14) / (8,60–11,58)	0,040
CD16 <sup>+</sup>	8,93 (8,05–10,72) / (7,89–10,58)	9,81 (8,15–11,16) / (8,07–10,55)	8,28 (6,47–9,64) / (6,60–9,79)	7,82 (7,55–9,86) / (6,86–9,55)	7,37 (5,22–8,17) / (5,75–8,02)	0,030
CD95 <sup>+</sup>	9,12 (8,09–10,29) / (7,82–10,45)	9,42 (8,38–10,76) / (8,44–10,44)	8,30 (7,56–9,09) / (7,14–9,28)	8,84 (7,53–9,10) / (7,10–10,06)	7,70 (6,65–10,22) / (6,58–9,55)	0,303

**Примечание.** p – уровень статистической значимости различий показателей пациентов с лёгкой и средней степенью тяжести COVID-19 с показателями в группе контроля (критерий Краскела – Уоллиса).

ство лимфоцитов с маркером CD10<sup>+</sup>; количество лимфоцитов с маркером CD16<sup>+</sup>; количество лимфоцитов с маркером CD95<sup>+</sup>.

Процентный вклад нейтрофилов в развитии адаптивного иммунного ответа составляет 32,36 и 27,64 % после лёгкой формы заболевания и 31,89 и 26,48 % после заболевания средней степени тяжести, значительно снижаясь со временем. Вклад нейтрофилов является положительным у женщин после COVID-19 независимо от тяжести заболевания или давности выздоровления по сравнению с группой контроля (-2 %;  $p < 0,01$ ), в которой вклад является отрицательным (подавляющим).

Количество моноцитов имеет положительный вклад с медианой 4,5 % у женщин, перенёсших COVID-19 средней степени тяжести. Кроме того, данный показатель имеет отрицательный (подавляющий) вклад у женщин после COVID-19 лёгкой степени тяжести с медианой -0,54 и -0,75 % в зависимости от давности выздоровления.

Количество эозинофилов имеет положительный вклад у женщин после COVID-19 лёгкой степени тяжести; медиана составила 0,77 и 1,19 % в зависимости от давности выздоровления. Отрицательный вклад эозинофильной группы выявлен у женщин после COVID-19 средней степени тяжести с медианой -0,36 и -0,39 % в зависимости от давности выздоровления.

Медиана вклада количества базофилов в формирование иммунной реакции у женщин после COVID-19 лёгкой формы (0,13-0,15 %) в 13-15 раз превышает вклад данного показателя у женщин, перенёсших COVID-19 средней степени тяжести (0,01 %).

Общий вклад лимфоцитов в формирование иммунной реакции у группы контроля (52 %) в 2 раза превышает их вклад у женщин после COVID-19 независимо от тяжести заболевания или давности выздоровления (24-26 %;  $p < 0,01$ ).

Процентный вклад моноцитов в формирование иммунной реакции у женщин группы контроля составляет 2,65 %. Выявлено, что участие моноцитов в формировании иммунной реакции у женщин зависит от степени тяжести перенесённого COVID-19 ( $p < 0,01$ ), причём их вклад уменьшился и стал отрицательным у женщин после COVID-19 лёгкой степени тяжести (-0,54 и -0,75 % через 6 и 12 месяцев после выздоровления соответственно), а у женщин после COVID-19 средней степени тяжести вклад моноцитов увеличился и достиг 4,56 и 4,43 % через 6 и 12 месяцев соответственно.

Вклад эозинофилов в формирование иммунной реакции у группы контроля составил -1,95 %; у переболевших в лёгкой форме женщин - 0,77 и 1,19 % через 6 и 12 месяцев с момента выздоровления. При этом у женщин после COVID-19 средней степени тяжести регистрируется снижение уровня вклада до отрицательного: -0,36 и -0,39 % через 6 и 12 месяцев соответственно ( $p < 0,01$ ).

Оценивая участие базофилов в формировании иммунной реакции, мы выявили, что у группы контроля данный показатель составляет 0,30 %. У обследуемых женщин в зависимости от тяжести перенесённого заболевания и срока выздоровления вклад базофилов опре-

делён на уровне 0,15 и 0,13 % при лёгкой степени тяжести ( $p < 0,01$ ) и 0,01 % у переболевших средней степенью тяжести спустя 6 и 12 месяцев.

Уровень вклада лимфоцитов с маркером CD5<sup>+</sup>, отражающих уровень Т-популяции, в формирование адаптивной иммунной реакции в группе контроля составляет 9,9 %. При этом у лиц, переболевших COVID-19 в лёгкой форме, вклад лимфоцитов значительно ниже, чем в контрольной группе, и составляет 7,7 и 8,4 % через 6 и 12 месяцев соответственно. У женщин после COVID-19 средней степени тяжести указанный вклад составляет 7,7 и 7,9 % без существенных различий в зависимости от степени тяжести и срока выздоровления обследуемых ( $p < 0,05-0,01$ ).

Степень участия лимфоцитов с маркером CD8<sup>+</sup>, отражающих уровень цитотоксических лимфоцитов, составляет 9,6 % у женщин группы контроля и практически не изменилась у женщин после COVID-19 лёгкой степени тяжести (9,15 и 9,26 %), но статистически значимо понизилась до 8,5 и 8,3 % у женщин после COVID-19 умеренной степени тяжести через 6 и 12 месяцев соответственно ( $p < 0,05$ ).

Изучая процент участия лимфоцитов с маркером CD10<sup>+</sup>, отражающих уровень лимфопротерации, следует указать, что он снизился по сравнению с таковым в группе контроля (10 %) до 8,4 и 7,5 % у женщин после COVID-19 лёгкой и умеренной степени тяжести соответственно ( $p < 0,05-0,01$ ) с незначительной разницей в зависимости от срока выздоровления.

Медиана вклада количества лимфоцитов с маркером, отражающим уровень лимфопротерации (CD10<sup>+</sup>), у женщин после COVID-19 лёгкой степени тяжести (8,4 и 8,5 %) выше, чем аналогичный показатель у женщин, перенёсших COVID-19 средней степени тяжести (7,5 и 7,7 %), и зависит от срока выздоровления.

Количество лимфоцитов с маркером CD16<sup>+</sup> имеет положительный вклад в формирование ответной иммунной реакции у обследованных групп; медиана составила 8,9 и 9,8 % у женщин после COVID-19 лёгкой степени тяжести и зависела от давности выздоровления, что статистически значимо выше, чем у женщин после COVID-19 средней степени тяжести (8,3 и 7,8 % в зависимости от срока выздоровления).

Вклад лимфоцитов с маркером CD16<sup>+</sup>, отражающих уровень естественных киллеров, в среднем в 1,3 раза выше у женщин после COVID-19 по сравнению с группой контроля (7,4 %) и составляет 8,9 и 9,8 % у лиц с лёгкой степенью тяжести через 6 и 12 месяцев. В то же время у лиц, перенёсших COVID-19 средней степени тяжести, через 6 и 12 месяцев вклад естественных киллеров увеличивается незначительно по сравнению с группой контроля - до 8,3 и 7,8 % соответственно ( $p < 0,05-0,01$ ).

Медиана вклада лимфоцитов с маркером апоптоза (CD95<sup>+</sup>) составила 9,1 и 9,4 % у женщин, переболевших лёгкой формой COVID-19 (через 6 и 12 месяцев соответственно), что статистически значимо превышает медиану их вклада у женщин, перенёсших COVID-19 средней степени тяжести (8,3 и 8,8 % через 6 и 12 месяцев соответственно).

Доля участия лимфоцитов с маркером CD95<sup>+</sup>, отражающих уровень апоптоза, увеличилась с 7,7 % (в группе контроля) до 9,1 и 9,4 % у женщин после COVID-19 лёгкой степени тяжести через 6 и 12 месяцев соответственно. При этом у лиц, переболевших COVID-19 умеренной степени тяжести, через 6 и 12 месяцев увеличение вклада указанных клеток является менее значительным – до 8,3 и 8,8 % соответственно ( $p < 0,05-0,01$ ).

Известно, что во влажно-субтропическом климате в г. Ухань (Китай) общее количество лейкоцитов у заболевших COVID-19 увеличивается независимо от тяжести заболевания – в среднем до  $5,3 \times 10^9/\text{л}$  [15]. В нашей работе у обследуемых женщин, проживающих в условиях климата субарктического региона, общее количество лейкоцитов в среднем составляет  $5,7 \times 10^9/\text{л}$  даже через 6 и 12 месяцев после выздоровления независимо от степени тяжести перенесённого COVID-19. По данным С. Qin и соавт. [15], в условиях влажно-субтропического климата регистрировали резкое снижение количества лимфоцитов у заболевших COVID-19 независимо от тяжести заболевания ( $0,9 \times 10^9/\text{л}$ ).

В условиях субарктического региона количество лимфоцитов зарегистрировано в среднем на уровне  $1,7-1,9 \times 10^9/\text{л}$  спустя 6 месяцев после перенесённого заболевания в лёгкой форме и  $1,9-2,0 \times 10^9/\text{л}$  у перенёвших COVID-19 средней степени тяжести через 12 месяцев, что значительно ниже, чем аналогичный показатель у группы контроля, и указывает на медленное восстановление содержания общего количества лимфоцитов. Есть сведения, что после выздоровления от COVID-19 умеренной степени тяжести количество лимфоцитов достигло физиологических пределов с очень медленной динамикой в условиях влажно-субтропического климата [16]. Интересен тот факт, что в наших исследованиях у женщин после COVID-19 в условиях субарктического региона вклад лимфоцитов в формирование адаптивной иммунной реакции по сравнению с группой контроля (52,47 %) был крайне низким и составил в среднем 25,06 %, то есть был в 2 раза ниже физиологической нормы даже спустя 6 и 12 месяцев независимо от степени тяжести.

G. Tuncer и соавт. [17] установили, что после 6 месяцев с момента выздоровления от COVID-19 с умеренными и тяжёлыми симптомами у жителей субтропического климатического региона г. Стамбул (Турция) высокий уровень нейтрофилов сохранялся. Учитывая полученные нами результаты о низкой динамике восстановления концентрации нейтрофилов спустя 6 и 12 месяцев после выздоровления на Севере, следует предположить, что медленное восстановление иммунологических параметров не зависит от региона проживания и, скорее всего, связано исключительно с тяжестью перенесённого COVID-19, что требует дополнительных исследований и дополнительной проверки в разных регионах с учётом своевременной и в полном объёме оказанной медицинской помощи.

Исследование показало, что вклад моноцитов в формирование адаптивной иммунной реакции снижается у обследуемых, перенёвших COVID-19 лёгкой степени тяжести, вероятно, за счёт повышения вклада нейтрофилов

и увеличивается у лиц, перенёвших COVID-19 средней степени тяжести, что можно объяснить тем, что с увеличением интенсивности COVID-19 роль моноцитов в воспалительном процессе увеличивается и может сохраняться спустя 6 и 12 месяцев после заболевания. Аналогичные результаты получены A. Utrero-Rico и соавт. в условиях влажно-тропического региона [18, 19].

Тяжесть COVID-19 жёстко взаимосвязана с количеством и активностью эозинофилов, хотя при выздоровлении их количество восстанавливается до нормальных пределов [18, 20], что, возможно, объясняется снижением вклада эозинофилов у женщин после COVID-19. В нашем случае восстановление указанного иммунологического параметра до физиологического уровня отмечалось через 12 месяцев только у лиц, перенёвших заболевание в лёгкой форме.

Выявлено снижение вклада лимфоцитов с маркером CD5<sup>+</sup> у женщин после COVID-19 вне зависимости от тяжести заболевания и срока выздоровления по сравнению с группой контроля: 7,68–8,43 и 7,65–7,86 % соответственно (контроль – 9,87 %). Возможно, указанное снижение объясняется пониженным содержанием В-лимфоцитов [21] и снижением активности лимфопрлиферации, что в конечном итоге способствует торможению процессов дифференцировки лимфоцитов.

В работе Y. Mitsuyama и соавт. [22] выявлено повышение концентрации цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>) у выздоровевших от COVID-19 через год. В наших исследованиях анализ показал незначительное снижение вклада клеток (CD8<sup>+</sup>) по сравнению с группой контроля через 6 месяцев с тенденцией дальнейшего снижения через 12 месяцев: 9,15–9,26 и 8,49–8,34 % соответственно (контроль – 9,59 %). Есть сведения о том, что повышенные концентрации цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>) после COVID-19 могут сохраняться до 10 месяцев в условиях Китая независимо от тяжести заболевания [23].

Вклад процесса лимфопрлиферации (клеток с рецептором CD10<sup>+</sup>) снижается у женщин, переболевших COVID-19, по сравнению с группой контроля в среднем в 1,2–1,5 раза за счёт общего снижения количества и вклада лимфоцитов с незначительным восстановлением как через 6, так и через 12 месяцев: 8,41–8,51 и 7,51–7,72 % соответственно (контроль – 10,01 %).

Известно, что повышенная через 7–8 месяцев после выздоровления от COVID-19 концентрация клеток с маркером CD16<sup>+</sup> у жителей г. Ухань (Китай) снижалась к 10–11-му месяцам [24]. В наших исследованиях концентрация клеток с маркером CD16<sup>+</sup> имела незначительное повышение через 6 месяцев с тенденцией к снижению через 12 месяцев: 8,93–9,81 и 8,28–7,82 % соответственно (контроль – 7,37 %). По данным Y. Mitsuyama и соавт. [22], у выздоровевших от COVID-19 с тяжёлыми симптомами (г. Осака, Япония) выявлено незначительное снижение концентрации клеток с маркером CD16<sup>+</sup> через год после выздоровления по сравнению со здоровыми жителями. В нашей работе установлено, что вклад клеток с маркером CD16<sup>+</sup> в формирование иммунной реакции статистически значимо повышается только у лиц, перенёвших COVID-19 в лёгкой форме.

В то же время активность процессов апоптоза (клеток с рецептором CD95<sup>+</sup>) увеличивается у обследуемых после COVID-19 по сравнению с группой контроля к 6 месяцам и сохраняется через 12 месяцев: 9,12–9,42 и 8,30–8,84 % соответственно (контроль – 7,70 %). Таким образом, в течение первого года после выздоровления от COVID-19 уровень апоптоза у обследуемых женщин превалирует над уровнем лимфопролиферации, что косвенно свидетельствует о модуляции иммунного гомеостаза по сравнению с группой контроля. Следует уточнить, что в ранее проведённых нами исследованиях (2020–2023 гг.) населения Арктического региона установлено, что активность лимфопролиферации выше активности апоптоза у практически здоровых лиц [25].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммунологическое обследование женщин, проживающих в условиях субарктического региона, показало, что адаптивный иммунный ответ у лиц, перенёвших COVID-19, характеризуется высокой концентрацией лейкоцитов, моноцитов, эозинофилов, нейтрофилов у 8,3–22,2 % людей в зависимости от показателя, цитотоксических лимфоцитов (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) и клеток CD95<sup>+</sup> на фоне выраженного дефицита общей популяции лимфоцитов, Т-лимфоцитов (CD5<sup>+</sup>) в зависимости от степени тяжести и срока давности заболевания.

Детальный анализ показал, что у лиц, перенёвших COVID-19 в лёгкой форме, через 6 месяцев высокая концентрация цитотоксических лимфоцитов (CD8<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>) регистрировалась в 90 и 50 % случаев соответственно, клеток CD95<sup>+</sup> – в 60 %, клеток CD10<sup>+</sup> – в 30 %. Через 12 месяцев содержание указанных клеток восстановилось до физиологических норм у 17 % (CD8<sup>+</sup>), 34 % (CD16<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup>) и 67 % (CD10<sup>+</sup>) обследованных.

У 8,3 % лиц, перенёвших COVID-19 в лёгкой форме, регистрируется лейкоцитопения и через 6, и через 12 месяцев; лимфоцитопения, выявленная у 10,0 % обследуемых через 6 месяцев, регистрируется у 16,7 % через 12 месяцев. Содержание нейтрофилов аналогично предыдущему показателю, при этом через 12 месяцев нейтрофилёз на фоне повышенного содержания моноцитов (10,0 и 33,3 % через 6 и 12 месяцев соответственно) выявлен у 8,3 % группы, эозинофилов – у 8,3 % независимо от срока, базофилов – у 10,0 и 25,0 % соответственно.

Среди лиц, переболевших COVID-19 средней степени тяжести, через 6 месяцев высокая концентрация цитотоксических лимфоцитов (CD8<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>) регистрировалась в 66 и 44 % случаев, клеток CD95<sup>+</sup> – в 44 %, клеток CD10<sup>+</sup> – в 22 %. Через 12 месяцев содержание указанных клеток восстановилось до физиологических норм у 15 % (CD8<sup>+</sup>), 43 % (CD16<sup>+</sup>), 86 % (CD10<sup>+</sup>) и 58 % (CD95<sup>+</sup>) обследованных.

У 14,3 % лиц, перенёвших COVID-19 средней степени тяжести, регистрируется лейкоцитопения и через 6, и через 12 месяцев; лейкоцитоз, выявленный через 6 месяцев у 22,2 %, через 12 месяцев не установлен ни у кого. Лимфоцитопения не регистрировалась. Повышенное содержание нейтрофилов, моноцитов и эозинофилов

встречалось у одних и тех же лиц в 22,2 % случаев через 6 месяцев на фоне повышенных уровней базофилов у 11,1 и 14,3 % обследуемых соответственно.

В контрольной группе лиц, не вакцинированных и не болевших COVID-19, выявлено повышенное содержание цитотоксических клеток (CD8<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>) в 83,3 и 66,7 % случаев на фоне повышенной активности лимфопролиферации CD10<sup>+</sup> и на фоне активности апоптоза CD95<sup>+</sup> – в 41,7 % случаев. Дисбалансы регистрировались в содержании лейкоцитов (41,7 %), лимфоцитов (8,3 %) и моноцитов (16,7 %).

Полученные данные свидетельствуют о том, что дисбаланс в формировании иммунного ответа после COVID-19 формируется за счёт врождённого иммунитета (CD16<sup>+</sup>, нейтрофилы ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,001$ )), оказывает влияние на адаптивный иммунитет и зависит от степени тяжести перенесённого заболевания и срока после выздоровления.

Важно учесть, что у практически здоровых, не вакцинированных и не болевших COVID-19 жителей субарктического региона (контрольная группа) изначально повышенные концентрации цитотоксических лимфоцитов (CD8<sup>+</sup> и CD16<sup>+</sup>) и клеток, отражающих уровень лимфопролиферации и апоптоза (CD10<sup>+</sup> и CD95<sup>+</sup>), значительно распространены и регистрируются от 41,7 до 83,3 % в зависимости от показателя на фоне выраженного дефицита (100 %) общего количества Т-клеток (CD5<sup>+</sup>), что может способствовать срыву резервных возможностей иммунного гомеостаза при формировании адаптивного иммунного ответа и развитию иммунных дисбалансов после заболевания COVID-19.

Наиболее значительный вклад в формировании адаптивного иммунного ответа установлен за счёт клеточно-опосредованной цитотоксичности (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) и активности процессов апоптоза (CD95<sup>+</sup>) как через 6, так и через 12 месяцев и не зависит от степени тяжести перенесённого заболевания COVID-19.

Иными словами, сформировавшийся адаптивный иммунный ответ с высоким уровнем клеточно-опосредованной цитотоксичности и активности процессов апоптоза над лимфопролиферацией через 6 месяцев после перенесённого COVID-19 сохраняется и через 12 месяцев, что характеризует состояние иммунного гомеостаза как напряжённое.

Сохраняющийся высокий уровень клеточно-опосредованной цитотоксичности и преобладание активности апоптоза над лимфопролиферацией может служить предиктором развития отдалённого осложнения, что требует дополнительного углублённого анализа.

У обследованных женщин, переболевших COVID-19, клеточно-опосредованная цитотоксичность (CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>) ассоциирована с активацией моноцитарной системы, имеет пролонгированное действие до 12 месяцев и зависит от тяжести перенесённого заболевания COVID-19 в 66,7–90 % случаев.

## Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания «Физиологическая

значимость особенностей иммунного гомеостаза, функциональной и рецепторной активности иммунокомпетентных клеток у людей в экстремальных меняющихся условиях среды с учётом профессионального статуса и социально-значимых заболеваний у жителей Приарктического региона» (№ государственной регистрации 122011700267-5).

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Благодарности

Авторы выражают благодарность д.м.н., профессору, Заслуженному деятелю науки Лилии Константиновне Добродеевой за консультации в период проведения исследования.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Курзанов А.Н., Заболотских Н.В., Ковалев Д.В. *Функциональные резервы организма*. М.: Издательский дом Академии естествознания; 2016. [Kurzanov AN, Zabolotskikh NV, Kovalev DV. *Functional reserves of the organism*. Moscow: Publishing House of the Academy of Natural Science; 2016. (In Russ.)].
2. Verster JC, Kraneveld AD, Garssen J. The assessment of immune fitness. *J Clin Med*. 2023; 12(1): 22. doi: 10.3390/jcm12010022
3. Wilod Versprille LJJ, van de Loo AJAE, Mackus M, Arnoldy L, Sulzer TAL, Vermeulen SA, et al. Development and validation of the Immune Status Questionnaire (ISQ). *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16: 4743. doi: 10.3390/ijerph16234743
4. Li Q, Wang Y, Sun Q, Knopf J, Herrmann M, Lin L, et al. Immune response in COVID-19: What is next? *Cell Death Differ*. 2022; 29: 1107-1122. doi: 10.1038/s41418-022-01015-x
5. Sacco G, Briere O, Asfar M, Guerin O, Berrut G, Annweiler C. Symptoms of COVID-19 among older adults: A systematic review of biomedical literature. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil*. 2020; 18: 135-139. doi: 10.1684/pnv.2020.0890
6. Georg P, Astaburuaga-Garcia R, Bonaguro L, Brumhard S, Michalick L, Lippert L, et al. Complement activation induces excessive T cell cytotoxicity in severe COVID-19. *Cell*. 2022; 185: 493-512. doi: 10.1016/j.cell.2021.12.040
7. Ong EZ, Chan YFZ, Leong WY, Lee NMY, Kalimuddin S, Mohideen SMH, et al. A dynamic immune response shapes COVID-19 progression. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(6): 879-882. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.021
8. Kang CK, Kim M, Hong J, Kim G, Lee S, Chang E, et al. Distinct immune response at 1 year post-COVID-19 according to disease severity. *Front Immunol*. 2022; 13: 830433. doi: 10.3389/fimmu.2022.830433
9. Altawalrah H. Antibody responses to natural SARS-CoV-2 infection or after COVID-19 vaccination. *Vaccines (Basel)*. 2021; 9(8): 910. doi: 10.3390/vaccines9080910
10. Abbasi J. Study suggests lasting immunity after COVID-19, with a big boost from vaccination. *JAMA*. 2021; 326(5): 376-377. doi: 10.1001/jama.2021.11717
11. Belik M, Lieder O, Vara S, Haveri A, Pöysti S, Kolehmainen P, et al. Persistent T cell-mediated immune responses against Omicron variants after the third COVID-19 mRNA vaccine dose. *Front Immunol*. 2023; 14: 1099246. doi: 10.3389/fimmu.2023.1099246
12. Lechner-Scott J, Levy M, Hawkes C, Yeh A, Giovannoni G. Long COVID or post COVID-19 syndrome. *Mult Scler Relat Disord*. 2021; 55: 103268. doi: 10.1016/j.msard.2021.103268
13. Щербак С.Г., Вологжанин Д.А., Голота А.С., Камилова Т.А., Макаренко С.В. Клеточный иммунитет у больных COVID-19: молекулярная биология, патофизиология и клиническое значение. *Клиническая практика*. 2022; 13(2): 66-87. [Scherbak SG, Vologzhanin DA, Golota AS, Kamilova TA, Makarenko SV. Cellular immunity in patients with COVID-19: Molecular biology, pathophysiology and clinical implications. *Journal of Clinical Practice*. 2022; 13(2): 66-87. (In Russ.)]. doi: 10.17816/clinpract10623
14. Zeng C, Evans JP, King T, Zheng Y, Oltz EM, Whelan SPJ, et al. SARS-CoV-2 spreads through cell-to-cell transmission. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022; 119(1): e2111400119. doi: 10.1073/pnas.2111400119
15. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis*. 2020; 71(15): 762-768. doi: 10.1093/cid/ciaa248
16. Huang M, Wang Y, Ye J, Da H, Fang S, Chen L. Dynamic changes of T-lymphocyte subsets and the correlations with 89 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Ann Transl Med*. 2020; 8(18): 1145. doi: 10.21037/atm-20-5479
17. Tuncer G, Geyiktepe-Guclu C, Surme S, Canel-Karakus E, Erdogan H, Bayramlar OF, et al. Long-term effects of COVID-19 on lungs and the clinical relevance: A 6-month prospective cohort study. *Fut Microbiol*. 2023; 18: 185-198. doi: 10.2217/fmb-2022-0121
18. Rosenberg HF, Foster PS. Eosinophils and COVID-19: Diagnosis, prognosis, and vaccination strategies. *Semin Immunopathol*. 2021; 43(3): 383-392. doi: 10.1007/s00281-021-00850-3
19. Utrero-Rico A, González-Cuadrado C, Chivite-Lacaba M, Cabrera-Marante O, Laguna-Goya R, Almendro-Vazquez P, et al. Alterations in circulating monocytes predict COVID-19 severity and include chromatin modifications still detectable six months after recovery. *Biomedicines*. 2021; 9(9): 1253. doi: 10.3390/biomedicines9091253
20. Tan Y, Zhou J, Zhou Q, Hu L, Long Y. Role of eosinophils in the diagnosis and prognostic evaluation of COVID-19. *J Med Virology*. 2021; 93(2): 1105-1110. doi: 10.1002/jmv.26506
21. Hasan A, Al-Ozairi E, Al-Baqsumi Z, Ahmad R, Al-Mulla F. Cellular and humoral immune responses in COVID-19 and immunotherapeutic approaches. *Immunotargets Ther*. 2021; 10: 63-85. doi: 10.2147/ITT.S280706
22. Mitsuyama Y, Yamakawa K, Kayano K, Maruyama M, Wada T, Fujimi S. Prolonged enhancement of cytotoxic T lymphocytes in the post-recovery state of severe COVID-19. *J Intensive Care*. 2021; 9(1): 76. doi: 10.1186/s40560-021-00591-3
23. Jung JH, Rha MS, Sa M, Choi HK, Jeon JH, Seok H, et al. SARS-CoV-2-specific T cell memory is sustained in COVID-19 convalescent patients for 10 months with successful development of stem cell-like memory T cells. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 40-43. doi: 10.1038/s41467-021-24377-1
24. Pan Y, Jiang X, Yang L, Chen L, Zeng X, Liu G, et al. SARS-CoV-2-specific immune response in COVID-19 convalescent individuals. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6(1): 256. doi: 10.1038/s41392-021-00686-1
25. Каббани М.С., Щёголева Л.С., Филиппова О.Е., Карякина О.Е., Кунавин М.А. Оценка иммунного статуса у мужчин субарктического и семиаридного регионов с помощью

факторного анализа. *Якутский медицинский журнал*. 2023; 1(81): 116-119. [Kabbani MS, Shchegoleva LS, Filippova OE, Karyakina OE, Kunavin MA. Assessment of the immune status in men of the subarctic and semi-arid regions using factor analysis. *Yakut Medical Journal*. 2023; 1(81). 116-119. (In Russ.)]. doi: 10.25789/YMJ.2023.81.28

#### Сведения об авторах

**Щёголева Любовь Станиславовна** – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией физиологии иммунокомпетентных клеток, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН», e-mail: shchegoleva60@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4900-4021>

**Шашкова Елизавета Юрьевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунокомпетентных клеток, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН», e-mail: eli1255@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1735-6690>

**Каббани Мохаммад Сохиб** – научный сотрудник лаборатории физиологии иммунокомпетентных клеток, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН», e-mail: sohibmsk@hotmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2330-7123>

**Филиппова Оксана Евгеньевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии иммунокомпетентных клеток, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова УрО РАН», e-mail: oxana\_filippova\_85@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6117-0562>

#### Information about the authors

**Liubov S. Shchegoleva** – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Chief Research Officer, Head of the Laboratory of Physiology of Immunocompetent Cells, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: shchegoleva60@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4900-4021>

**Elizaveta Yu. Shashkova** – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Physiology of Immunocompetent Cells, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: eli1255@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1735-6690>

**Mohammad S. Kabbani** – Research Officer at the Laboratory of Physiology of Immunocompetent Cells, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: sohibmsk@hotmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2330-7123>

**Oksana E. Filippova** – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Physiology of Immunocompetent Cells, N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: oxana\_filippova\_85@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6117-0562>

## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ С ЦЕЛЬЮ РЕАБИЛИТАЦИИ НАРУШЕНИЙ ОБОНЯНИЯ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЁСШИХ НОВУЮ КОРОНАВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ

Белоглазов В.А.<sup>1</sup>,  
Бурцева Е.В.<sup>2</sup>,  
Яцков И.А.<sup>1</sup>,  
Бублей К.В.<sup>1</sup>,  
Новосад А.С.<sup>3</sup>,  
Шадчнева Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (295000, г. Симферополь, б-р Ленина, 5-7, Россия)

<sup>2</sup> Институт биохимических технологий, экологии и фармации, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (295007, г. Симферополь, просп. Вернадского 4, Россия)

<sup>3</sup> АО «Алуштинский эфиромасличный совхоз-завод» (298500, г. Алушта, ул. 15 Апреля, 37, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
**Константин Викторович Бублей**,  
e-mail: bublej.99@mail.ru

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** SARS-CoV-2 инфекция часто приводит к нарушению обоняния на разных уровнях нервной системы, которое может сохраняться в виде аносмии, паросмии, гиперосмии, гипосмии, какосмии и обонятельных галлюцинаций после выздоровления.

**Цель исследования.** Изучить эффект эфирных масел на восстановление обонятельного аппарата у пациентов с коронавирусом.

**Материалы и методы.** Обследовано 138 человек (средний возраст  $19,9 \pm 7,05$  года) с жалобами на обоняние. 60 из них проходили ольфакторный тренинг с эфирными маслами (ЭМ) в течение 2 месяцев. Обоняние оценивалось методом Хансена – Розебурга до и после тренинга.

**Результаты.** После 3-месячного применения наборов эфирных масел с целью обонятельного тренинга 27 респондентов отметили улучшение качества запахов, появление ранее пропавших запахов. При проведении теста Хансена – Розебурга в группе испытуемых выявлено статистически значимое улучшение показателей определения тестируемых одорантов: фенилэтиловый спирт (ФЭ) – 7 [5; 7]; бензилацетат (БА) – 6 [4; 6]; муравьиная кислота (МК) – 6 [2; 7] ( $p < 0,05$ ). При проведении повторного тестирования в группе контроля из 30 человек только 4 респондента сообщили об улучшении обоняния; результаты проведения оценки обоняния по Хансену – Розебургу были следующими: ФЭ – 5 [2; 6], БА – 4 [3; 5], МК – 2 [2; 4] ( $p > 0,05$ ).

**Заключение.** Полученные данные после 3-месячной тренировки обоняния специальным набором эфирных масел и проведённое после тестирования обоняния говорят о том, что ольфакторный (обонятельный) тренинг является перспективным методом восстановления обоняния, который может помочь многим людям вернуть себе радость восприятия запахов и значительно повысить качество жизни. Успех применения метода зависит от правильности применения эфирных масел и соблюдения частоты тренировок.

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2, обоняние, ольфакторный тренинг, постковид, метод Хансена – Розебурга

Статья поступила: 01.10.2023

Статья принята: 17.09.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Белоглазов В.А., Бурцева Е.В., Яцков И.А., Бублей К.В., Новосад А.С., Шадчнева Н.А. Опыт применения эфирных масел с целью реабилитации нарушений обоняния у пациентов, перенёсших новую коронавирусную инфекцию. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 107-113. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.11

## USING ESSENTIAL OILS IN REHABILITATION OF OLFACTORY DISORDERS IN PATIENTS WHO HAVE HAD A NEW CORONAVIRUS INFECTION

Beloglazov V.A. <sup>1</sup>,  
Burtseva E.V. <sup>2</sup>,  
Yatskov I.A. <sup>1</sup>,  
Bublely K.V. <sup>1</sup>,  
Novosad A.S. <sup>3</sup>,  
Shadchneva N.A. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Medical Institute  
named after S.I. Georgievsky,  
V.I. Vernadsky Crimean Federal University  
(Lenina Blvd. 5-7, Simferopol 295000,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> Institute of Biochemical Technologies,  
Ecology and Pharmacy, V.I. Vernadsky  
Crimean Federal University  
(Vernadskogo Ave. 4, Simferopol 295007,  
Russian Federation)

<sup>3</sup> Alushta Plant Farm of Essential Oils  
(298500, Republic of Crimea, Alushta, 15  
April Street, 37, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Konstantin V. Bublely**,  
e-mail: bublely.99@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** SARS-CoV-2 infection often results in olfactory disorder at different levels of the nervous system, which may persist as anosmia, parosmia, hyperosmia, hyposmia, cacosmia, and olfactory hallucinations after recovery.

**The aim.** To study the effect of essential oils on the restoration of the olfactory apparatus in patients with coronavirus.

**Materials and methods.** We examined 138 people (mean age  $19.9 \pm 7.05$  years) with olfactory complaints, 60 of them underwent olfactory training with essential oils (EO) for 2 months. Olfactory function was assessed using the Hansen – Roseburg method before and after the training.

**Results.** After 3 months of using essential oil sets for olfactory training, 27 respondents noted an improvement in the quality of odours and the appearance of previously missing odours. When conducting the Hansen – Roseburg test, a statistically significant improvement in the indicators for determining the tested odorants was revealed: phenylethyl alcohol (PA) – 7 [5; 7]; benzyl acetate (BA) – 6 [4; 6]; formic acid (FA) – 6 [2; 7] ( $p < 0.05$ ). When repeating the test in the control group of 30 people, only 4 respondents reported an olfaction improvement; the results of the olfactory assessment according to Hansen – Roseburg were as follows: PA – 5 [2; 6], BA – 4 [3; 5], FA – 2 [2; 4] ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion.** The data obtained after 3 months of olfactory training with a special set of essential oils and the subsequent olfactory testing indicate that olfactory training is a promising method for olfactory restoration, which can help many people regain the joy of perceiving odours and significantly improve their quality of life. The success of the method depends on the correct use of essential oils and compliance with the frequency of training.

**Key words:** SARS-CoV-2, olfaction, olfactory training, post-COVID, Hansen – Roseburg method

Received: 01.10.2023  
Accepted: 17.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Beloglazov V.A., Burtseva E.V., Yatskov I.A., Bublely K.V., Novosad A.S., Shadchneva N.A. Using essential oils in rehabilitation of olfactory disorders in patients who have had a new coronavirus infection. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 107-113. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.11

Обоняние является одним из важнейших чувств сенсорного анализа, позволяющим ощущать и оценивать запахи окружающей среды, например еды, цветов, парфюмерии и других ароматов. Из-за определённых факторов происходит поражение сенсорной или центральной части обонятельного анализатора, что приводит к возможной потере, извращению, снижению чувствительности, выпадению определённых запахов и нарушению обоняния в целом [1, 2]. Эти факторы можно определить как инфекции (новая коронавирусная инфекция (НКИ; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2), травмы, аллергии, нейродегенеративные заболевания и др.) [1–3]. Дисфункция обоняния может стать причиной снижения качества жизни человека, повысить риск развития депрессий и привести к нарушению социальных взаимодействий [1–3].

Нарушение обоняния является частым симптомом, сопровождающим НКИ [1–5], и в ряде случаев может быть единственным симптомом, который появляется в начале заболевания и влияет на хемосенсорную (воспринимающую химические стимулы) функцию [4, 5]. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, согласно информации за 2 августа 2023 г., опубликованной на сайте организации, в мире зарегистрировано в общей сложности более 768 млн случаев заражения коронавирусом [2–5]. Среди жителей Европы обонятельная дисфункция, связанная с НКИ, наблюдается в 60–80 % случаев, среди населения Восточной Азии – около 30 % [6, 7]. С момента начала пандемии оториноларингологи по всему миру накопили большой опыт работы с такими пациентами, что отражено во множестве публикаций на медицинских ресурсах, посвящённых проблеме anosмии [2, 4, 6, 7].

SARS-CoV-2 сочетается с рецепторами фермента II типа (АПФ2), регулирующего кровяное давление, которые в том числе расположены на опорных клетках обонятельного нейроэпителия [6]. Через эти рецепторы вирус проникает в клетку-мишень с помощью проходящей сквозь мембраны сериновой протеазы 2-го типа после связывания со спайковым белком (S-белком) [6]. Рецепторные клетки обонятельного нейроэпителия не имеют рецепторов АПФ2, их нарушение и повреждение ресничек происходит из-за гибели опорных клеток, которые выполняют защитную и питательную функции [4, 7, 8]. В настоящее время исследуется гипотеза о прямом поражении обонятельных рецепторных клеток, на которых выявлено высокое проявление рецепторов CD147. Связывание S-белка SARS-CoV-2 CD147 приводит к повреждению рецепторов обонятельного нейроэпителия и развитию стойкой anosмии [4, 7, 8]. Также вирус активно распространяется в клетках обонятельной луковицы и обонятельного тракта (1 пара черепно-мозговых нервов) через гликопротеин – нейропиплин 1 на поверхности нейронов или проникая сквозь гематоэнцефалический барьер, который повреждается в результате «цитокинового шторма». Вовлечение в патологический процесс обонятельной луковицы подтверждено данными магнитно-резонансного исследования головного мозга у пациентов с НКИ: в начале болезни, сопровож-

дающейся anosмией, было замечено увеличение объёма обонятельной луковицы, который значительно сократился к моменту выздоровления пациента и восстановления обонятельной функции [3, 4, 6]. Таким образом, несмотря на различные молекулярно-клеточные механизмы в патогенезе обонятельной дисфункции при НКИ, их суть заключается в развитии невропатии обонятельного нерва [3, 7–10].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

В рамках комплексного подхода изучить литературные данные о применении эфирных масел для восстановления обоняния, а также, убедившись в безопасности этого метода, установить эффект эфирных масел на восстановление обонятельного аппарата у пациентов, перенёвших коронавирусную инфекцию.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки обонятельных нарушений необходимы стандартизованные и достоверные методы диагностики. На сегодняшний день существует несколько методологий, позволяющих диагностировать нарушение. Однако не все эти методы доступны для применения в клинической и научной практике из-за их дороговизны или малой охватываемой способности. Нами был выбран метод оценки обоняния Хансена – Розебурга, который основывается на органолептических и возбуждающих обонятельный и тройничный нервы свойствах некоторых ароматических веществ [11–13]. Метод заключается в изготовлении растворов пахучих веществ – одорантов – различной концентрации с нанесением на тару маркировки, соответствующей разведению (1/1, 1/2, 1/4 и т. д. до 1/128) [13]. Испытуемому предлагают одорант и спрашивают, при какой концентрации он чувствует запах. Таким образом определяется минимальная концентрация одоранта, при которой он становится ощутимым для человека [13]. В качестве триггерных одорантов были выбраны фенолэтиловый спирт (ФЭ), бензилацетат (БА) и муравьиная кислота (МК). Было использовано 8 разведений с такой концентрацией веществ: 0 (1/1), 1 (1/8; 29 % – для МК); 2 (1/16; 22 % – для МК); 3 (1/32; 14 % – для МК); 4 (1/64; 7 % – для МК); 5 (1/128; 4 % – для МК); 6 (1/256; 2 % – для МК); 7 (1/512; 1 % – для МК). Статистический анализ результатов исследования проводился с помощью приложения «Пакет анализа» MS Excel (Microsoft Corp., США), пакета прикладных программ Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Для проверки статистической значимости был выбран метод простой случайной выборки. Критическое значение уровня значимости (p) принималось равным 0,05. Для более наглядного статистического анализа метод оценки обоняния Хансена – Розебурга был переведён и адаптирован нами в балльную систему, где максимальное разведение одоранта, а именно 7 (1/512; 1 % – для МК) соответствует 8 баллам, а минимальное – 0 (1/1) и 1 (1/8; 29 % –

для МК) – 1 баллу; при полном отсутствии ощущения запаха начисляется 0 баллов.

Было обследовано 138 человек (53 мужчины и 85 женщин), проживающих в г. Симферополе и предъявлявших жалобы на нарушение обоняния после перенесённой коронавирусной инфекции в лёгкой степени (возраст  $19,9 \pm 7,05$  года). **Критериями включения** были наличие жалоб на нарушенное обоняние и анамнез документально подтверждённой перенесённой НКИ. **Критериями исключения** были: наличие онкологических и системных заболеваний; наличие инфекционных и аллергических заболеваний верхних и нижних дыхательных путей; индивидуальная непереносимость компонентов, входящих в используемый набор эфирных масел; анамнез тяжёлых аллергических реакций. У 65 человек при прохождении теста Хансена – Розебурга были выявлены клинические проявления нарушения обоняния. У 12 человек снижена чувствительность к трём одорантам (ФЭ = 2 балла; БА = 3 балла; МК = 1 балл); у 13 человек – чувствительность к ФЭ и БА (соответствует 5 баллам), МК (4 балла); у 15 человек – чувствительность к ФЭ (5 баллов), БА (6 баллов) и МК (2 балла); у 25 человек – чувствительность к БА (4 балла), ФЭ (6 баллов) и МК (5 баллов).

Было отобрано 60 человек со значимыми изменениями обоняния, которые далее были разделены на две группы: экспериментальная группа – 30 человек (ФЭ – 5 [2; 5], БА – 4 [3; 5], МК – 2 [2; 4]), получавших для ольфакторной (обонятельной) тренировки набор эфирных масел, основными компонентами которых являлись масла, содержащие эвгенол, лимонен, 1,8-цинеол и  $\alpha$ -пинен производства АО «Алуштинский эфиромасличный совхоз-завод». Группу контроля, получавшую дистиллированную воду, составили 30 человек (ФЭ – 5 [2; 5], БА – 4 [3; 5], МК – 2 [2; 4]).

Ольфакторный (обонятельный) тренинг (ОТ) – это упражнение для обонятельных рецепторов, которые расположены в полости носа и отвечают за восприятие запахов [1, 5, 14, 15]. Данные рецепторы могут быть повреждены под влиянием вирусов, бактерий, химических веществ или механических воздействий [1, 5]. В результате человек может полностью или частично потерять обоняние или испытывать искажение запахов. ОТ помогает стимулировать регенерацию рецепторов и восстанавли-

вать нормальную функцию обоняния [14, 15]. ОТ проводится один раз в день – утром. Испытуемый берёт один флакон с эфирным маслом и подносит к носовому входу, далее производя глубокий вдох на протяжении 20–30 с. При этом необходимо сосредоточиться на запахе и попытаться его запомнить и определить. После этого респондент повторяет эти действия с другими маслами по очереди. По окончании тренинга можно попробовать угадать ароматы без подсказок [1, 16, 17].

ОТ не даёт мгновенного результата. Это долгосрочный процесс, который требует терпения и регулярности. Обычно обоняние начинает улучшаться через 3 месяца после начала тренинга. Если за это время нет прогресса, то можно сменить ароматы на другие или обратиться к специалисту за дополнительной консультацией. В некоторых случаях может потребоваться медикаментозное лечение или хирургическое вмешательство [16–18].

Протокол исследования (№ 8) одобрен Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (г. Симферополь) 6.09.2022. Перед началом исследования все респонденты подтвердили своё участие письменным информированным добровольным согласием. Исследование выполнено по тематике проекта программы «Приоритет-2030» (№ 075-15-2021-1323).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После 3-месячного использования наборов была произведена повторная оценка обоняния с тем же набором одорантов. Из 30 человек 1-й группы, которые ранее испытывали изменение обоняния или выпадение некоторых запахов, 27 респондентов отметили улучшение качества запахов, появление ранее пропавших запахов. Результаты теста Хансена – Розебурга в группе испытуемых после проведения статистического анализа были следующими: ФЭ – 7 [5; 7], БА – 6 [4; 6], МК – 6 [2; 7] (табл. 1). Уровень статистической значимости при сравнении показателей до и после лечения подтверждает эффективность разработанного метода ( $p < 0,05$ ).

При проведении повторного тестирования в группе контроля из 30 человек только 4 респондента сооб-

**ТАБЛИЦА 1**  
**РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ОБОНЯНИЯ**  
**ДО И ПОСЛЕ ОЛЬФАКТОРНОГО ТРЕНИНГА**

Группы	До ОТ, Ме [Q1; Q3]	После ОТ, Ме [Q1; Q3]	Статистическая значимость различий, <i>p</i>
Группа 1 ( <i>n</i> = 30)	ФЭ – 5 [2; 5] БА – 4 [3; 5] МК – 2 [2; 4]	ФЭ – 7 [5; 7] БА – 6 [4; 6] МК – 6 [2; 7]	$p < 0,05$
Группа 2 ( <i>n</i> = 30)	ФЭ – 5 [2; 5] БА – 4 [3; 5] МК – 2 [2; 4]	ФЭ – 5 [2; 6] БА – 4 [3; 5] МК – 2 [2; 4]	$p > 0,05$

**Примечание.** В таблице представлены количественные (Ме [Q1; Q3]) признаки; различия по количественным признакам выявлены с использованием критерия Вилкоксона.

**TABLE 1**  
**RESULTS OF OLFACTION ASSESSMENT**  
**BEFORE AND AFTER OLFACTORY TRAINING**

щили об улучшении обоняния. Результаты проведения оценки обоняния по Хансену – Розебургу были следующими: ФЭ – 5 [2; 6], БА – 4 [3; 5], МК – 2 [2; 4] ( $p > 0,05$ ).

ОТ имеет несколько преимуществ перед другими методами восстановления обоняния. Во-первых, он простой и доступный. Для его проведения не требуется специальное оборудование или помощь врача. Во-вторых, он безопасный и натуральный. Эфирные масла не только стимулируют обоняние, но и оказывают положительное влияние на психологическое состояние человека, снимая стресс и улучшая настроение. В-третьих, он эффективный и персонализированный. ОТ учитывает индивидуальные предпочтения и особенности человека, а также позволяет отслеживать динамику восстановления обоняния.

Однако ОТ также имеет некоторые ограничения и риски. Во-первых, он не подходит для всех случаев потери обоняния. Если причина заключается в серьёзном повреждении нервных клеток или тканей, то ОТ может быть бесполезным или даже вредным. Во-вторых, он требует соблюдения определённых правил и рекомендаций. Например, не следует использовать слишком сильные или раздражающие ароматы, такие как мята, перец или корица. Также не стоит проводить тренинг сразу после еды или при наличии простудных симптомов. В-третьих, он может вызвать аллергическую реакцию или непереносимость некоторых ароматов. Поэтому перед началом тренинга нужно проверить свою чувствительность к выбранным маслам и избегать тех, которые вызывают дискомфорт или раздражение.

Многие работы по обонятельной тренировке основаны на гипотезе призмы запаха, предложенной Хансеном в 1916 г. Он классифицировал запахи на основе шести основных категорий: цветочный, фруктовый, ароматный, смолистый, горький и острый. Он предположил, что любой запах можно представить как комбинацию этих шести категорий в различных пропорциях. Термин «обонятельная тренировка» был использован на основе концепции тренировки обонятельных сенсорных нейронов для повторного обучения и различения обонятельных стимулов. Тем не менее, другие механизмы могут способствовать тому, как обонятельная тренировка может улучшить восстановление обоняния. Возможно, эфирные масла содержат компоненты с биологически активными свойствами, которые способствуют восстановлению обонятельного чувства, подавляя воспаление и усиливая регенерацию. Компонентный состав эфирных масел различается в зависимости от географического положения, погоды, части растений, из которых было изготовлено масло, и методов, используемых при изготовлении экстрактов [18–20].

Эвгенол является основным компонентом одного из эфирных масел набора, которое также в значительной степени содержит эугенилацетат и кариофиллен. Известно, что эвгенол и эугенилацетат обладают противовоспалительным действием [19, 20]. В исследованиях *in vitro* эвгенол и эугенилацетат подавляли уровни интерферона  $\gamma$ , интерлейкина (ИЛ) 2, ИЛ-10, а в исследованиях *in vivo* эвгенол подавлял экспрессию фактора не-

кроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и транскрипционного провоспалительного ядерного фактора NF- $\kappa$ Bp65 [20]. Известно также, что  $\alpha$ -гумулен обладает противовоспалительным действием, подавляя уровни ИЛ-5, эотаксина-1, лейкотриена В4 и активацию ядерного фактора NF- $\kappa$ B и активирующего белка-1 [20].

1,8-цинеол и  $\alpha$ -пинен, которые являются основными составляющими следующего эфирного масла, известны противовоспалительным действием [20–22]. Как 1,8-цинеол, так и  $\alpha$ -пинен статистически значимо подавляли уровень провоспалительных цитокинов, например, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  [22]. Кроме того, цимен, лимонен, спатуленол,  $\alpha$ -терпинеол и борнеол, которые также присутствуют в данном масле, но в более низком процентном соотношении, чем 1,8-цинеол и  $\alpha$ -пинен, подавляют воспаление и экспрессию провоспалительных цитокинов [20–22].

В следующем эфирном масле содержится ряд соединений, обладающих противовоспалительным действием:  $\beta$ -кариофиллен, гераниол, лимонен, линалоол, мирцен,  $\alpha$ -пинен,  $\beta$ -пинен, (Е)- $\beta$ -оцимен, сабинен,  $\gamma$ -терпинен и терпинен-4-ол [21, 22]. Высокий процент лимонена данного эфирного масла предполагает, что противовоспалительные эффекты могут быть опосредованы главным образом лимоненом, но большое количество химических компонентов, обладающих противовоспалительным действием в лимонене, также предполагает возможность синергетического воздействия различных химических соединений посредством активации отдельных рецепторов и каналов. Например,  $\beta$ -кариофиллен известен как лиганд каннабиноидного рецептора 2 [22]; лимонен, как известно, активирует каналы TRPA1 [20–22]; гераниол подавляет канал ионов калия KV1.3 [21]; линалоол активирует TRPA1 и TRPM8 [20] и подавляет канал ионов калия KV1.3 [20]. Гераниол, который является основным компонентом цветочного эфирного масла, обладает сродством к связыванию рецептор-связывающих доменов SARS-CoV-2 [18–20, 22].

Также стоит учитывать, что во время вдыхания запахов формируются новые или укрепляются старые синаптические связи нейронов – нейропластические процессы. Как известно, обоняние связано с эмоциями, воспоминаниями и прожитым опытом. Поэтому ольфакторная тренировка действует на несколько звеньев обоняния, влияя на психоэмоциональный аспект, оказывая нейропластический, противовоспалительный эффект и стимулируя рост поддерживающих клеток [18–20, 22].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ольфакторный тренинг, основой которого является применение эфирных масел, представляет собой доступный перспективный метод восстановления обоняния, который может помочь многим людям вернуть себе радость восприятия запахов и значительно повысить качество жизни. Успех применения метода зависит от правильности применения эфирных масел и соблюдения частоты тренировок.

**Финансирование**

Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

**Конфликт интересов**

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES**

1. Sedaghat AR, Gengler I, Speth MM. Olfactory dysfunction in COVID-19: Diagnosis, pathophysiology, and treatment. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2020; 163(1): 12-15. doi: 10.1177/0194599820929185
2. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): A multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2020; 277(8): 2251-2261. doi: 10.1007/s00405-020-05965-1
3. Войтенков В.Б., Екушева Е.В., Лавренова Г.В., Скрипченко Н.В., Бедова М.А., Комазов А.А. Ведение и реабилитация пациентов со стойким нарушением обоняния (гипо- и anosмией) (обзор литературы). *Нервно-мышечные болезни.* 2021; 11(2): 12-16. [Voitenkov VB, Ekusheva EV, Lavrenova GV, Skripchenko NV, Bedova MA, Komazov AA. Management and rehabilitation of patients with persistent olfactory disorders (hypo- and anosmia) (literature review). *Neuromuscular Diseases.* 2021; 11(2): 12-16. (In Russ.).] doi: 10.17650/2222-8721-2021-11-2-12-16
4. Von Bartheld CS, Hagen MM, Butowt R. Expression of the SARS-CoV-2 entry proteins, ACE2 and TMPRSS2, in cells of the olfactory epithelium: Identification of cell types and trends with age. *ACS Chem Neurosci.* 2020; 11(11): 1555-1562. doi: 10.1021/acschemneuro.0c00210
5. Garden EM, Kumaresan K, Clark A, Philpott CM. Steroids and olfactory training for postviral olfactory dysfunction: A systematic review. *Front Neurosci.* 2021; 15: 708510. doi: 10.3389/fnins.2021.708510
6. Emmi A, Tushevski A, Sinigaglia A, Barbon S, Sandre M, Stocco E, et al. ACE2 receptor and TMPRSS2 protein expression patterns in the human brainstem reveal anatomical regions potentially vulnerable to SARS-CoV-2 infection. *ACS Chem Neurosci.* 2023; 14(11): 2089-2097. doi: 10.1021/acschemneuro.3c00101
7. Zamorano Cuervo N, Grandvaux N. ACE2: Evidence of role as entry receptor for SARS-CoV-2 and implications in comorbidities. *Elife.* 2020; 9: e61390. doi: 10.7554/eLife.61390
8. Butowt R, von Bartheld CS. Anosmia in COVID-19: Underlying mechanisms and assessment of an olfactory route to brain infection. *Neuroscientist.* 2021; 27(6): 582-603. doi: 10.1177/1073858420956905
9. Bilinska K, Butowt R. Anosmia in COVID-19: A bumpy road to establishing a cellular mechanism. *ACS Chem Neurosci.* 2020; 11(15): 2152-2155. doi: 10.1021/acschemneuro.0c00406
10. Davies J, Randevara H, Chatha K, Hall M, Spandidos DA, Karteris E, et al. Neuropilin-1 as a new potential SARS-CoV-2 infection mediator implicated in the neurologic features and central nervous system involvement of COVID-19. *Mol Med Rep.* 2020; 22(5): 4221-4226. doi: 10.3892/mmr.2020.11510
11. Kanjanaumporn J, Aejumjaturapat S, Snidvongs K, Seresirikachorn K, Chusakul S. Smell and taste dysfunction in patients with SARS-CoV-2 infection: A review of epidemiology, pathogenesis, prognosis, and treatment options. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2020; 38(2): 69-77. doi: 10.12932/AP-030520-0826
12. Zubair AS, McAlpine LS, Gardin T, Farhadian S, Kuruvilla DE, Spudich S. Neuropathogenesis and neurologic manifestations of the coronaviruses in the age of coronavirus disease 2019: A review. *JAMA Neurol.* 2020; 77(8): 1018-1027. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.2065
13. Лопатин АС. Современные методы исследования обонятельного анализатора. Динамика функции обоняния у пациентов с полипозным риносинуситом. *Consilium Medicum.* 2014; 16(3): 55-59. [Lopatin AS. Modern methods of olfactory analyzer research. Dynamics of olfactory function in patients with polyposis rhinosinusitis. *Consilium Medicum.* 2014; 16(3): 55-59 (In Russ.).]
14. Addison AB, Wong B, Ahmed T, Macchi A, Konstantinidis I, Huart C, et al. Clinical olfactory working group consensus statement on the treatment of post-infectious olfactory dysfunction. *J Allergy Clin Immunol.* 2021; 147(6): 1704-1719. doi: 10.1016/j.jaci.2020.12.641
15. Altundag A, Cayonu M, Kayabasoglu G, Salihoglu M, Tekeli H, Saglam O, et al. Modified olfactory training in patients with post-infectious olfactory loss. *Laryngoscope.* 2015; 125(8): 1763-1766. doi: 10.1002/lary.25245
16. Garden EM, Kumaresan K, Clark A, Philpott CM. Olfactory Disorders Questionnaire: Scaling severity of quality-of-life impact. *Clin Otolaryngol.* 2023; 48(2): 206-212. doi: 10.1111/coa.14017
17. Olofsson JK, Ekström I, Lindström J, Syrjänen E, Stigsdotter-Neely A, Nyberg L, et al. Smell-based memory training: Evidence of olfactory learning and transfer to the visual domain. *Chem Senses.* 2020; 45(7): 593-600. doi: 10.1093/chemse/bjaa049
18. Koyama S, Heinbockel T. Chemical constituents of essential oils used in olfactory training: Focus on COVID-19 induced olfactory dysfunction. *Front Pharmacol.* 2022; 13: 835886. doi: 10.3389/fphar.2022.835886
19. Koyama S, Kashiwadani H, Heinbockel T. Possible use of phytochemicals for recovery from COVID-19-induced anosmia and ageusia. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(16): 8912. doi: 10.3390/ijms22168912
20. Koyama S, Purk A, Kaur M, Soini HA, Novotny MV, Davis K, et al. Beta-caryophyllene enhances wound healing through multiple routes. *PLoS One.* 2019; 14(12): e0216104. doi: 10.1371/journal.pone.0216104
21. Barbosa LC, Filomeno CA, Teixeira RR. Chemical variability and biological activities of Eucalyptus spp. essential oils. *Molecules.* 2016; 21(12): 1671. doi: 10.3390/molecules21121671
22. Caceres AI, Liu B, Jabba SV, Achanta S, Morris JB, Jordt SE. Transient receptor potential cation channel subfamily M member 8 channels mediate the anti-inflammatory effects of eucalyptol. *Br J Pharmacol.* 2017; 174(9): 867-879. doi: 10.1111/bph.13760

**Сведения об авторах**

**Белоглазов Владимир Алексеевич** – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой внутренней медицины № 2, Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: biloglazov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9640-754X>

**Бурцева Елена Владимировна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры медицинской и фармацевтической химии, Институт биохимических технологий, экологии и фармации, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: burtsevaev2009@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5418-7849>

**Яцков Игорь Анатольевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренней медицины № 2, Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: egermd@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5486-7262>

**Бублей Константин Викторович** – ординатор кафедры внутренней медицины № 2, Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: bubley.99@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8960-602X>

**Новосад Александр Сергеевич** – генеральный директор, АО «Алуштинский эфиромасличный совхоз-завод», e-mail: ordarulit21@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7167-4609>

**Шадчнева Наталья Александровна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренней медицины № 2, Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: shadchneva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9717-7782>

**Information about the authors**

**Vladimir A. Beloglazov** – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Internal Medicine No. 2, Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: biloglazov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9640-754X>

**Elena V. Burtseva** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Medical and Pharmaceutical Chemistry, Institute of Biochemical Technologies, Ecology and Pharmacy, V.I. Vernadsky Crimean Federal University e-mail: burtsevaev2009@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5418-7849>

**Igor A. Yatskov** – Cand. Sc. (Med.), Associate professor at the Department of Internal Medicine No. 2, Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: egermd@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5486-7262>

**Konstantin V. Bublej** – Clinical Resident at the Department of Internal Medicine No. 2, Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: bubley.99@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8960-602X>

**Alexander S. Novosad** – CEO, Alushta Plant Farm of Essential Oils, e-mail: ordarulit21@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7167-4609>

**Natalia A. Shadchneva** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Internal Medicine No. 2, Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: shadchneva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9717-7782>

## КАРДИОЛОГИЯ CARDIOLOGY

### LEUKOCYTE AS AN ADEQUATE MODEL FOR STUDYING CHANGES IN ENERGY METABOLISM IN HEART CELLS UNDER THE INFLUENCE OF CARDIOPROTECTORS IN MYOCARDIAL ISCHEMIA

Khokhlov A.L.<sup>1</sup>,  
Romashchenko O.V.<sup>1,2</sup>,  
Rumbesht V.V.<sup>2</sup>,  
Yakunchenko T.I.<sup>2</sup>,  
Zhernakova N.I.<sup>2</sup>,  
Zakirova L.R.<sup>2</sup>,  
Kukes V.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Yaroslavl State Medical University  
(Revolutsionnaya str. 5, Yaroslavl 150000,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> Belgorod State National  
Research University (Pobedy str. 85,  
Belgorod 308015, Russian Federation)

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow  
State Medical University (Sechenov  
University) (Trubetskaya str. 8, build. 2,  
Moscow 119048, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Olesya V. Romaschenko**,  
e-mail: RomashenkoOV@gmail.com

#### ABSTRACT

**The aim of this study** was to determine the possibility of studying the nature of the influence of cardioprotectors on energy metabolism in cardiomyocytes using a model of human peripheral blood leukocytes.

**Materials and methods.** Sixty Wistar rats were divided into groups: 1) intact rats; 2) rats with experimental myocardial ischemia; 3) rats with myocardial ischemia, which were injected with cardioprotector – trimetazidine, 4) meldonium, 5) cytoflavin and 6) ethoxydol.

Animals were taken out of the experiment 10 days after the administration of drugs by decapitation. The activities of pyruvate dehydrogenase and citrate synthase were determined in mitochondria of myocardial homogenates and in mitochondria of leukocytes by spectrophotometric methods.

**Results.** The decrease in pyruvate dehydrogenase and citrate synthase activity in cardiomyocytes and in leukocytes were revealed in case of myocardial ischemia modeling. The introduction of cardioprotectors led to the activation of these enzymes both in heart cells and in blood leukocytes. Direct positive correlations were obtained between the activity of pyruvate dehydrogenase in the mitochondria of cardiomyocytes and in the mitochondria of leukocytes ( $r = 0.811$ ;  $p < 0.0001$ ); between citrate synthase activity in the mitochondria of cardiomyocytes and in the mitochondria of leukocytes ( $r = 0.909$ ;  $p < 0.0001$ ).

**Conclusion.** Changes in energy metabolism in blood leukocytes under the influence of cytoprotectors reflect similar changes occurring in heart cells.

**Key words:** leukocyte, cardiomyocyte, energy metabolism, cytoprotectors, myocardial ischemia

Received: 20.12.2023

Accepted: 03.10.2024

Published: 22.11.2024

**For citation:** Khokhlov A.L., Romaschenko O.V., Rumbesht V.V., Yakunchenko T.I., Zhernakova N.I., Zakirova L.R., Kukes V.G. Leukocyte as an adequate model for studying changes in energy metabolism in heart cells under the influence of cardioprotectors in myocardial ischemia. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 114-121. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.12

## ЛЕЙКОЦИТ КАК АДЕКВАТНАЯ МОДЕЛЬ ИЗУЧЕНИЯ ХАРАКТЕРА ИЗМЕНЕНИЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В КЛЕТКАХ СЕРДЦА ПОД ВЛИЯНИЕМ КАРДИОЦИТОПРОТЕКТОРОВ ПРИ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Хохлов А.Л.<sup>1</sup>,  
Ромашенко О.В.<sup>1,2</sup>,  
Румбешт В.В.<sup>2</sup>,  
Якунченко Т.И.<sup>2</sup>,  
Жернакова Н.И.<sup>2</sup>,  
Закирова Л.Р.<sup>2</sup>,  
Кукес В.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет»

Минздрава России (150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5, Россия)

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, Россия)

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (119048, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку: :

**Ромашенко Олеся Викторовна**,  
e-mail: RomashenkoOV@gmail.com

### РЕЗЮМЕ

**Целью данного исследования** явилось определение возможности изучения характера влияния кардиоцитопротекторов на энергетический обмен в кардиомиоцитах на модели лейкоцитов периферической крови человека. **Материалы и методы.** Шестьдесят крыс линии Вистар были разделены на группы: 1) интактные крысы; 2) крысы с экспериментальной ишемией миокарда; 3) крысы с ишемией миокарда, которым вводили кардиоцитопротектор – триметазидин, 4) мельдоний, 5) цитофлавин и 6) этоксидол. Животных выводили из эксперимента через 10 суток после введения препаратов методом декапитации. Активность пируватдегидрогеназы и цитратсинтазы определяли в митохондриях гомогенатов миокарда и в митохондриях лейкоцитов спектрофотометрическими методами.

**Результаты.** При моделировании ишемии миокарда выявлено снижение активности пируватдегидрогеназы и цитратсинтазы в кардиомиоцитах и в лейкоцитах. Введение кардиоцитопротекторов приводило к активации этих ферментов как в клетках сердца, так и в лейкоцитах крови. Получены прямые положительные корреляции между активностью пируватдегидрогеназы в митохондриях кардиомиоцитов и в митохондриях лейкоцитов ( $r = 0,811$ ;  $p < 0,0001$ ); между активностью цитратсинтазы в митохондриях кардиомиоцитов и в митохондриях лейкоцитов ( $r = 0,909$ ;  $p < 0,0001$ ).

**Заключение.** Изменения энергетического обмена в лейкоцитах крови под влиянием цитопротекторов отражают аналогичные изменения, происходящие в клетках сердца.

**Ключевые слова:** лейкоцит, кардиомиоцит, энергетический обмен, цитопротекторы, ишемия миокарда

**Для цитирования:** Хохлов А.Л., Ромашенко О.В., Румбешт В.В., Якунченко Т.И., Жернакова Н.И., Закирова Л.Р., Кукес В.Г. Лейкоцит как адекватная модель изучения характера изменений энергетического обмена в клетках сердца под влиянием кардиоцитопротекторов при ишемии миокарда. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 114-121. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.12

Статья поступила: 20.12.2023

Статья принята: 03.10.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

## INTRODUCTION

Cytoprotectors that affect energy metabolism in cardiomyocytes are included in the treatment standards for a number of diseases of the cardiovascular system: coronary heart disease, chronic heart failure [1, 2]. However, it is not possible to evaluate their direct influence on the energy processes in the mitochondria of myocardial cells in routine outpatient or inpatient practice without the use of invasive surgical methods for the purpose of myocardial biopsy. In this regard, we decided to study the possibility of assessing the effect of cardiocytoprotectors on energy processes in the mitochondria of myocardial cells according to the state of energy metabolism in peripheral blood leukocytes under experimental conditions.

Leukocytes are highly specialized, functionally different blood cells that implement specific and nonspecific cellular immunity in the body. According to a number of studies, the quantitative and qualitative composition of leukocytes in the blood can reflect, as in a mirror, the state of various organs and systems, including the myocardium [3, 4].

The energy status of the cell is provided by mitochondria, specialized organelles present in almost all cells of the body. The synthesis of high-energy adenosine triphosphate (ATP) molecules by oxidative phosphorylation is associated with many metabolic processes occurring in the mitochondrial matrix and on its membranes: transport of electrons and protons in the respiratory chain, pyruvate decarboxylation, citric acid cycle, beta-oxidation of fatty acids, etc., and, of course, associated with oxygen consumption [5].

An analysis of the literature data has shown that disorders of cellular energy, which is based on mitochondrial deficiency, lead to a wide range of diseases that are not limited to hereditary syndromes caused by mutations in mitochondrial DNA genes, but also include structural, biochemical defects in mitochondria, disorders of tissue respiration and decreased synthesis of ATP [6–8].

The most energy-intensive tissues include: nervous, muscular, cardiac [9]. In particular, cardiomyocytes contract throughout life and are absolute champions among cells of other tissues both in terms of the amount of ATP produced and the volume of oxygen consumed [10]. For effective work the heart muscle needs a full and timely delivery of oxygen and energy substrates [11]. Obviously under conditions of ischemia, there is a lack of oxygen supply and energy substrates, which justifies the need for the use of drugs that affect the energy metabolism in cardiomyocytes [11]. At the same time, in real clinical practice, there is no technical possibility to assess those changes in energy metabolism that occur under the influence of metabolic correctors inside cardiomyocytes. Therefore, it becomes necessary to study the indicators of energy exchange in a tissue that is easily accessible to people – blood. At the same time, the question of extrapolation of data obtained from blood tests to the myocardium, remains open.

In recent years, an increasing number of researchers, as a result of experiments, have come to unequivocal conclusions that the activity of enzymes of lymphocytes, as mi-

grating cells, can reflect the state of the enzymatic status of all cell populations of the body [12–14]. In this regard, it is of great scientific interest to study the nature of changes in the activity of key mitochondrial enzymes under the influence of cardiocytoprotectors both in cardiomyocytes and in peripheral blood leukocytes under conditions of experimental myocardial ischemia in order to determine the potential possibility of assessing the state of energy exchange in the heart in terms of energy exchange in blood leukocytes, which is the subject of this study.

**The aim of this study** was to assess the adequacy of the leukocyte model for studying the nature of changes in energy metabolism under the influence of cardiocytoprotectors in myocardial ischemia.

## MATERIALS AND METHODS

The object of our study were 60 male Wistar rats aged 10 months, which were kept under standard vivarium conditions. The age of rats was chosen based on its correspondence to the average age of humans [15], when, according to the latest data, coronary heart disease, the subject of our study, most often manifests [16]. The following groups of animals were used: 1) intact rats ( $n = 10$ ); 2) rats with experimental myocardial ischemia ( $n = 10$ ); 3) rats with myocardial ischemia treated with 1-[(2,3,4-trimethoxyphenyl)methyl]piperazine (trimetazidine) ( $n = 10$ ); 4) rats with myocardial ischemia, which were injected with trimethylhydrazinium propionate dihydrate (meldonium) ( $n = 10$ ); 5) rats with myocardial ischemia treated with inosine + nicotinamide + riboflavin + succinic acid (cytoflavin) ( $n = 10$ ); 6) rats with myocardial ischemia treated with ethylmethylhydroxypyridine malate (ethoxidol) ( $n = 10$ ).

Chronic myocardial ischemia was modeled in animals using the method described by D.V. Gaman (2011): 0.1 ml of 0.1 % adrenaline solution was administered subcutaneously to rats daily for 7 days at a dose of 0.1 ml per 100 g of animal's weight. After completing the course of adrenaline, against the background of already formed myocardial ischemia, medications were administered. The dose of drugs, administered for therapeutic purposes, was calculated according to the formula of Yu.R. Rybolovlev, it was 1) for trimetazidine (pure dry matter from Sigma Aldrich, USA) – 0.5 mg/100 g of rat body weight in 2 ml of 0.9 % NaCl solution intragastrically 2 times a day, which is equivalent to the recommended dose of trimetazidine for human (35 mg 2 times a day orally); 2) for meldonium (Grindex, Latvia) – 0.03 ml/100 g of rat body weight in 1.5 ml of 0.9 % NaCl solution intravenously 1 time per day, which is equivalent to the recommended dose of meldonium for humans (5 ml intravenously 1 time per day); 3) for cytoflavin (Polysan, Russia) – 0.07 ml/100 g of rat body weight in 1.5 ml of 0.9 % NaCl solution intravenously 1 time per day, which is equivalent to the recommended dose for humans (10 ml intravenously by drop infusion in a dilution of 200 ml of 0.9 % NaCl solution 1 time per day); 4) for ethoxidol (Sintez, Russia) – 1.2 mg/100 g of rat body weight in 1.5 ml of 0.9 % NaCl solution intravenously 1 time per day, which is equiv-

alent to the recommended dose for humans (2 ml intravenously 1 time per day).

Animals were taken out of the experiment 10 days after the administration of drugs by decapitation. The heart was perfused with chilled 0.9 % NaCl solution. The preparation of myocardial homogenates and the isolation of mitochondria were carried out according to the method described by N.P. Meshkova, S.E. Severin (1979).

Cranial blood (10–12 ml) was used for research. Heparinized blood (20 IU of heparin per 1 ml) was mixed with a 0.3 % gelatin solution in a ratio of 1:5. The mixture in the test tube was defended for 40 minutes at an angle of 45° in a thermostat at a temperature of 37 °C until the erythrocytes precipitated. Leukocyte-rich plasma was collected. The isolated cells were washed by 2-fold centrifugation in Hank's solution at 1000 rpm for 5 minutes. Mitochondria were isolated from leukocytes by differential centrifugation (standard methods). In the mitochondria of the myocardial homogenate and leukocytes, the activities of citrate synthase and pyruvate dehydrogenase were determined by biochemical spectrophotometric analysis using proprietary methods described by F.E. Putilina and N.D. Yeshchenko [17, 18].

The work complied with bioethical standards for conducting experiments on animals for scientific purposes in accordance with Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010, on the protection of animals used for scientific purposes, as well as in accordance with Guide for the care and use of laboratory animals, National academy (Washington, D.C., 1996). The work received approval from the Ethical Committee of Yaroslavl State Medical University (Protocol No. 58 dated November 11, 2022).

The materials were processed statistically. The belonging of the studied parameters to the normal distribution law was checked using the Shapiro – Wilk test. For all parameters, the values of the arithmetic mean, median, the 1st and the 3rd quartiles (Me (Q1; Q3)) were calculated. To compare groups of animals, the nonparametric Mann – Whitney U-test was used. The relationship between the factors was assessed by the methods of correlation analysis with the calculation of Spearman correlation coefficients, as well as by the method of multiple regression analysis with the calculation of determination coefficients. A 3D plotting method was used to depict a regression relationship between three variables. The software “Statistica” (StatSoft Inc., USA) was used.

## RESULTS AND DISCUSSION

Modeling myocardial ischemia in rats led to a significant decrease in the activity of the main enzymes of energy metabolism – pyruvate dehydrogenase and citrate synthase, both in cardiomyocytes and in peripheral blood leukocytes, as shown in Table 1.

When modeling myocardial ischemia, a significant decrease in the activity of mitochondrial enzymes is observed both in cardiomyocytes and leukocytes. Pyruvate dehydro-

genase activity decreased from 29.98/29.75 (29.16; 30.84) to 19.89/19.77 (19.10; 20.61)  $\mu\text{mol NAD}/\text{min}/\text{mg protein}$  ( $p < 0.0001$ ) in cardiomyocytes and from 17.22/17.00 (16.91; 17.49) to 12.26/12.17 (11.88; 12.81)  $\mu\text{mol NAD}/\text{min}/\text{mg protein}$  ( $p < 0.0001$ ) in leukocytes. Citrate synthase activity decreased from 4.06/4.03 (3.87; 4.21) to 2.06/2.07 (1.89; 2.21)  $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg protein}$  ( $p < 0.0001$ ) in cardiomyocytes and from 2.09/2.10 (1.95; 2.17) to 1.1/1.01 (0.97; 1.07)  $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg protein}$  ( $p < 0.0001$ ) in leukocytes.

The results obtained can be explained by the following biochemical features of the regulation of energy metabolism in cells.

Pyruvate dehydrogenase and citrate synthase are among the most important regulatory enzymes at the final stage of catabolism [5]. Coordinated control of the activity of these enzymes is carried out in various ways: by the availability of substrates, inhibition by reaction products, allosterically and by covalent modification [5]. The ratio of NADH/NAD and ATP/ADP also plays an important role in the regulation of the activity of these enzymes. With an increase in the concentration of NADH, the activity of regulatory enzymes decreases. This, in turn, leads to allosteric inactivation of pyruvate dehydrogenase and blocking of other NAD-dependent enzymes of the tricarboxylic acid cycle [19, 20]. Those, the rate of the Krebs cycle (tricarboxylic acids) under conditions of hypoxia and the inability to use reduced NADH equivalents decreases, which leads to the accumulation of acetyl-CoA in the mitochondrial matrix of cardiomyocytes, which stimulates pyruvate dehydrogenase protein kinase, converting it into an inactive form and, thereby limiting the formation of the itself from pyruvate and citrate, which allosterically inhibits the key enzyme of glycolysis – phosphofructokinase [19].

Citrate synthase is a regulatory enzyme of the Krebs cycle, catalyzes the key reaction of the cycle – the formation of citrate (citric acid). The regulation of the activity of this enzyme is also influenced by the ratio of the main modulators of ATP/ADP and NADH/NADH and intermediate metabolites of the common pathway of catabolism of substances: acetyl-CoA, which is a substrate of citrate synthase and palmitoyl-CoA [21]. During ischemia (hypoxia), there is a deficiency of the first, as a result of blocking the pyruvate dehydrogenase complex, and the accumulation of the second, as a result of a decrease in the process of beta-oxidation. This leads to a decrease in activity due to substrate deficiency and specific inhibition of citrate synthase by activated palmitic acid [11].

When analyzing the data in Table 1, attention is drawn to the difference in the activity of pyruvate dehydrogenase and citrate synthase in cardiomyocytes and leukocytes: in cardiomyocytes it is significantly higher. The most likely explanation for this fact is the direct dependence of enzyme activity on the concentration of the enzyme itself: with an increase in the number of enzyme molecules, the reaction rate increases continuously and in direct proportion to the amount of enzyme, because more enzyme molecules produce more product molecules. Therefore, the differences in the activity of pyruvate dehydrogenase and citrate synthase found by us in cardiomyocytes and pe-

**TABLE 1**  
**THE ACTIVITY OF MITOCHONDRIAL ENZYMES – PYRUVATE DEHYDROGENASE AND CITRATE SYNTHASE – IN CARDIOMYOCYTES AND IN BLOOD LEUKOCYTES DURING ADMINISTRATION OF CARDIOPROTECTORS IN RATS WITH SIMULATED MYOCARDIAL ISCHEMIA**

Observation groups	Object of study			
	Cardiomyocytes		Blood leukocytes	
	PDH, $\mu\text{mol NAD}/\text{min}/\text{mg protein}$	CS, $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg protein}$	PDH, $\mu\text{mol NAD}/\text{min}/\text{mg protein}$	CS, $\text{nmol}/\text{min}/\text{mg protein}$
Intact rats	29.98/29.75* (29.16; 30.84)	4.06/4.03* (3.87; 4.21)	17.22/17.00* (16.91 ;17.49)	2.09/2.10* (1.95; 2.17)
Rats with myocardial ischemia	19.89/19.77* (19.10; 20.61)	2.06/2.07* (1.89; 2.21)	12.26/12.17* (11.88; 12.81)	1.1/1.01* (0.97; 1.07)
Rats with myocardial ischemia + trimetazidine	23.09/23.05* (22.56; 23.85)	3.28/3.24* (3.13; 3.42)	14.10/13.99* (13.67; 14.53)	1.41/1.40* (1.33; 1.49)
Rats with myocardial ischemia + meldonium	26.31/26.42* (25.65; 26.88)	3.57/3.58* (3.46; 3.65)	15.25/15.29* (14.83; 15.66)	1.72/1.72* (1.66; 1.77)
Rats with myocardial ischemia + ethoxidol	24.37/27.13* (25.87; 28.15)	2.18/3.78* (3.64; 4.05)	13.49/16.40* (15.80; 17.50)	1.22/1.78* (1.65; 1.89)
Rats with myocardial ischemia + cytoflavin	33.24/33.66* (32.11; 34.10)	3.91/3.90* (3.78; 4.06)	15.91/15.83* (15.23; 16.63)	2.03/2.03* (1.93; 2.12)

**Note.** PDH – pyruvate dehydrogenase; CS – citrate synthase. Numerator – arithmetic mean, denominator – median (25%; 75% quartile). The significance of differences was assessed using the Mann – Whitney U test. \* –  $p < 0.0001$ , the significance of differences between the group with myocardial ischemia and other groups of animals.

ripheral blood leukocytes (according to Table 1) are probably due to the fact that mitochondria in heart cells occupy up to a third of the cytoplasm volume, while they are present in a smaller volume in leukocytes [6, 22].

When cardioprotectors are administered to rats with simulated myocardial ischemia, their corrective effect on energy metabolism parameters is observed in the form of activation of pyruvate dehydrogenase and citrate synthase, however, without reaching the level of PDH and CS activity of intact rats (see Table 1). Moreover, the nature of changes in the activity of mitochondrial enzymes in heart cells and in blood cells turned out to be the same, despite the fact that cytoprotectors with different mechanisms of action were used.

So, trimetazidine (a derivative of piperazine-1-(2,3,4-trimethoxybenzyl) piperazine dihydrochloride) blocks the oxidation of free fatty acids, inhibiting the activity of 3-ketoacyl-CoA-thiolase (3-CAT), thereby reducing the formation of acetyl-CoA and NADH, promotes the unblocking of pyruvate dehydrogenase and switching of myocardial energy metabolism to glucose utilization through more “profitable” energy production – glycolysis (anaerobic breakdown of glucose to lactate) and oxidative decarboxylation (aerobic oxidation in the Krebs cycle) [23]. The excess of free fatty acids entering cardiomyocytes under these conditions is directed to the synthesis of phospholipids, which determines the membrane-protective properties of trimetazidine [24–26].

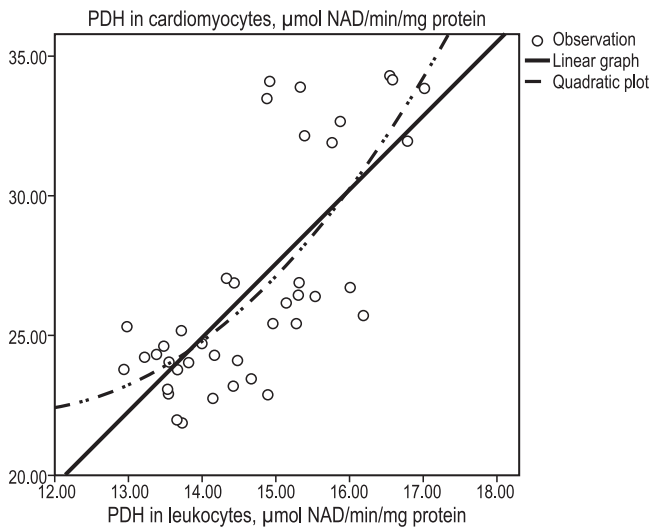
Meldonium (3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate (monohydrate)) is a structural synthetic analogue of gamma-butyrobetaine. It reduces the synthesis of carnitine and

the transport of long-chain fatty acids through cell membranes [27, 28]. The mediated effect of meldonium is similar to the action of trimetazidine: by preventing long-chain fatty acids from entering the mitochondria, meldonium thereby switch myocardial energy metabolism to glucose utilization through glycolysis and oxidative decarboxylation [27, 28].

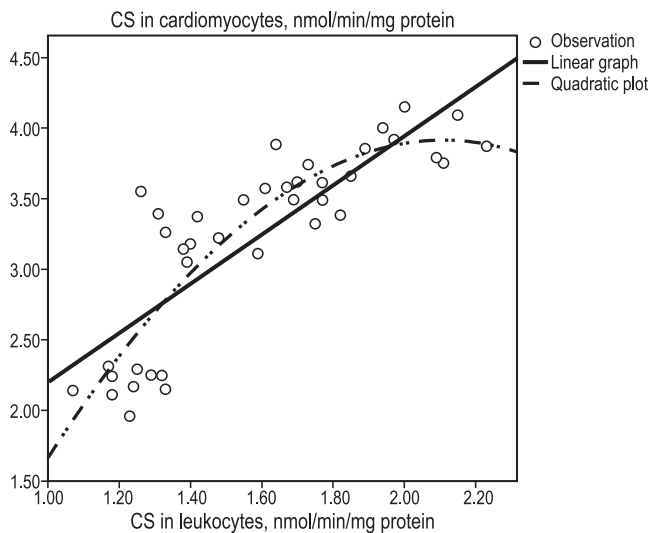
Ethoxidol (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridinium hydroxybutanedioate) is a metabolically active drug belonging to the group of antioxidants. Due to the presence of unpaired electrons in its molecule, ethoxidol is able to capture electrons of reactive oxygen species and neutralize them, thus preventing damage to cell membranes and other structures – mitochondria, DNA molecules, RNA, maintaining normal ATP production and cell viability [29–31].

Cytoflavin is a combined drug and contains four components: inosine, nicotinamide, riboflavin and succinic acid [32]. Due to the active substances included in the composition, cytoflavin activates the redox enzymes of the mitochondrial respiratory chain, stimulates respiration and energy production in cells [33].

When conducting a correlation analysis, direct positive correlations were obtained between the activity of pyruvate dehydrogenase in the mitochondria of cardiomyocytes and in the mitochondria of leukocytes ( $r = 0.811$ ;  $p < 0.0001$ ); between the activity of citrate synthase in mitochondria of cardiomyocytes and mitochondria of leukocytes ( $r = 0.909$ ;  $p < 0.0001$ ). The data are highly reliable and indicate the potential possibility of considering the leukocyte as an adequate model for studying the nature of the effect of cardioprotectors on the activity of energy metabolism enzymes in heart cells.



**FIG. 1.** Correlation between the activity of pyruvate dehydrogenase in the mitochondria of cardiomyocytes and the activity of pyruvate dehydrogenase in the mitochondria of peripheral blood leukocytes (correlation coefficient  $r = 0.838$ ;  $p < 0.0001$ )

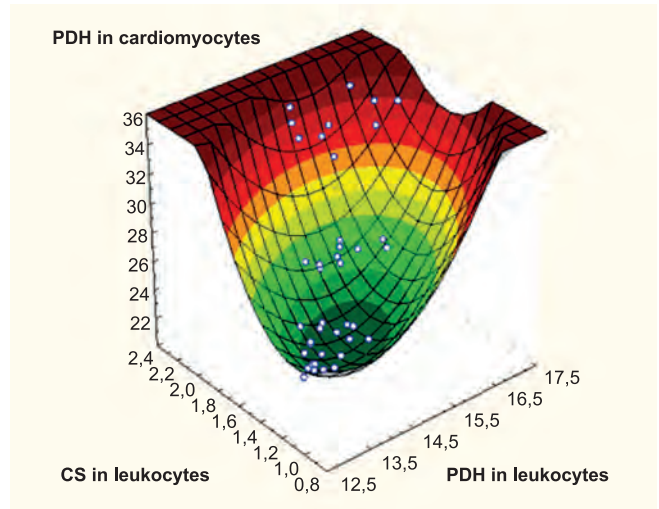


**FIG. 2.** Correlation between the activity of citrate synthase in the mitochondria of cardiomyocytes and the activity of citrate synthase in the mitochondria of peripheral blood leukocytes (correlation coefficient  $r = 0.909$ ;  $p < 0.0001$ )

The method of multiple regression analysis made it possible to construct three-dimensional graphs of the dependences of pyruvate dehydrogenase activity in cardiomyocytes on the activity of PDH and CS in leukocytes (Fig. 3) and the dependence of citrate synthase activity in cardiomyocytes on the activity of PDH and CS in leukocytes (Fig. 4) with the calculation of the corresponding regression equations (1) and (2).

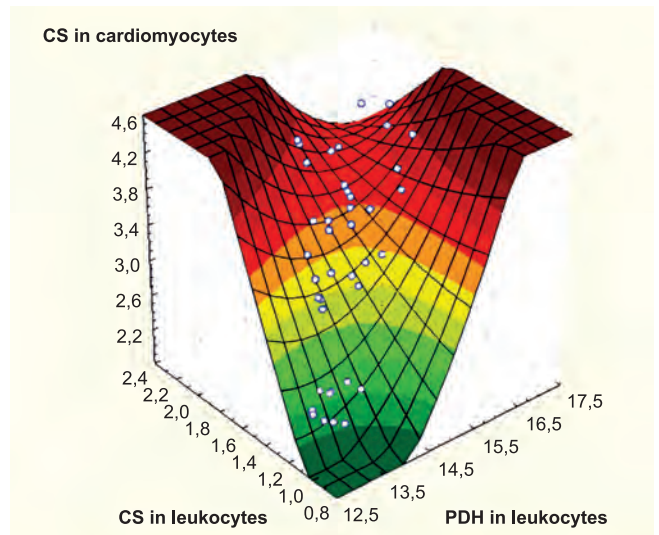
The regression equation for the dependence of the level of activity of PDH in cardiomyocytes from the level of activity of PDH and CS in leukocytes has the following form (1):  $Z = 0.552x^2 - 15.990x + 11.174y^2 - 26.679y + 154.941$  (1),

where  $Z$  – is the level of PDH activity in cardiomyocytes,  $x$  – the level of PDH activity in leukocytes,  $y$  – the level of CS activity in leukocytes.



**FIG. 3.** Three-dimensional image of the regression dependence of the level of pyruvate dehydrogenase activity in cardiomyocytes from the level of activity of pyruvate dehydrogenase and citrate synthase in leukocytes

The coefficient of determination of this model  $R^2$  was 0.859, which indicates a high reliability of the described dependence.



**FIG. 4.** Three-dimensional image of the regression dependence of the citrate synthase level in cardiomyocytes from the level of pyruvate dehydrogenase and citrate synthase in leukocytes

The regression equation for the dependence of the level of CS in cardiomyocytes from the level of PDH and CS in leukocytes has the following form (2):

$Z = -0.022x^2 + 0.802x - 1.452y^2 + 6.085y - 9.598$  (2), where  $Z$  – the level of CS in cardiomyocytes,  $x$  – the level of PDG in leukocytes,  $y$  – the level of CS in leukocytes.

The coefficient of determination of this model  $R^2$  was 0.785, which indicates a high reliability of the described dependence.

Based on the described regression models, it can be said that the level of activity of pyruvate dehydrogenase in cardiomyocytes during the introduction of cardiocytoprotectors, by 86 % depends upon the level of activity of pyruvate dehydrogenase and citrate synthase in peripheral blood leukocytes, and by 14 % – from other unaccounted factors. The level of activity of citrate synthase in cardiomyocytes during the introduction of cardiocytoprotectors, by 79 % depends upon the level of activity of pyruvate dehydrogenase and citrate synthase in peripheral blood leukocytes, and by 21 % – from the other unaccounted factors. Thus, knowing the level of activity of CS and PDH in blood leukocytes, it is possible to judge with a high degree of certainty the level of activity of these mitochondrial enzymes in cardiomyocytes during the administration of cardiocytoprotectors. The above regression equations (1) and (2) make it possible to make an accurate calculation of these indicators.

## CONCLUSION

The data obtained indicate the potential possibility of studying the nature of changes in energy metabolism in cardiomyocytes under the influence of cardiocytoprotectors by studying biochemical markers in peripheral blood leukocytes.

### Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

## REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- 2020 Clinical practice guidelines for stable coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(11): 4076. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2020-4076
- 2020 Clinical practice guidelines for chronic heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(11): 4083. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2020-4083
- Umehara T, Oka H, Nakahara A, Matsuno H, Murakami H. Differential leukocyte count is associated with clinical phenotype in Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2020; 409: 116638. doi: 10.1016/j.jns.2019.116638
- Vinodh Rajkumar R. Exercise Performance and Immune Competence [EPIC]: Background of natural immunity, immune diversity and immuno-iatrogenesis. *Int J Physiother Res*. 2022; 10(3): 4250-4268. doi: 10.16965/ijpr.2022.124
- Schirmacher V. Mitochondria at work: New insights into regulation and dysregulation of cellular energy supply and metabolism. *Biomedicines*. 2020; 8(11): 526. doi: 10.3390/biomedicines8110526
- Zuurbier CJ, Bertrand L, Beauloye CR, Andreadou I, Ruiz-Meana M, Jespersen NR, et al. Cardiac metabolism as a driver and therapeutic target of myocardial infarction. *J Cell Mol Med*. 2020; 24(11): 5937-5954. doi: 10.1111/jcmm.15180
- Dard L, Blanchard W, Huber C, Lacombe D, Rossignol R. Mitochondrial functions and rare diseases. *Mol Aspects Med*. 2020; 71: 100842. doi: 10.1016/j.mam.2019.100842
- Sukhorukov VS. Individual peculiarities of tissue energy metabolism and their role in the development of childhood diseases. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2011; 56(2): 4-11. (In Russ.)
- Huang Z, Xie N, Illes P, Di Virgilio F, Ulrich H, Semyanov A, et al. From purines to purinergic signalling: Molecular functions and human diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6(1): 162. doi: 10.1038/s41392-021-00553-z
- Romanov BK. Lysosome enzyme activity as a new diagnostic and prognostic criterium for the evaluation of cardiomyocyte damage rate. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2004; 1-2: 155-163. (In Russ.)
- Dambrova M, Zuurbier CJ, Borutaite V, Liepinsh E, Makrecka-Kuka M. Energy substrate metabolism and mitochondrial oxidative stress in cardiac ischemia/reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2021; 165: 24-37. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.036
- Vasyuk YuA, Kulikov KG, Kudryakov ON, Krikunova OV, Sadulaeva IA. Secondary mitochondrial dysfunction in acute coronary syndrome. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2007; 3(1): 41-47. (In Russ.). doi: 10.20996/1819-6446-2007-3-1-41-47
- Vuononvirta J, Marelli-Berg FM, Poobalasingam T. Metabolic regulation of T lymphocyte motility and migration. *Mol Aspects Med*. 2021; 77: 100888. doi: 10.1016/j.mam.2020.100888
- Hortová-Kohoutková M, Lázníčková P, Frič J. How immune-cell fate and function are determined by metabolic pathway choice: The bioenergetics underlying the immune response. *Bioessays*. 2021; 43(2): 2000067. doi: 10.1002/bies.202000067
- Koterov AN, Ushenkova LN, Zubenkova ES, Vaynson AA, Biryukov AP. Age relationships between major laboratory animals (mice, rats, hamsters and dogs) and humans: Relevance to age-related radiosensitivity and analysis of published data. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2018; 63(1): 5-27. (In Russ.). doi: 10.12737/article\_5a82e4a3908213.56647014
- Rogozhina AA, Averkova AO, Zubova YeA, Minushkina LO, Brazhnik VA, Ivanova ON, et al. Incidence of familial hypercholesterolemia in patients with early manifestations of coronary artery disease: Data from a Russian multicenter study and meta-analysis. *Russian Journal of Cardiology*. 2023; 28(10): 5587. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2023-5587
- Putilina FYe. Method for determining citrate synthase activity. In: *Methods of biochemical research (lipid and energy metabolism)*. Ed. by M.I. Prokhorova. Leningrad: Leningrad University Publ., 1982: 179-181. (In Russ.)
- Yeshchenko ND. Method for determining pyruvate dehydrogenase activity. In: *Methods of biochemical research (lipid and energy metabolism)*. Ed. by M.I. Prokhorova. Leningrad: Leningrad University Publ., 1982: 192-195. (In Russ.)
- Prochownik EV, Wang H. The metabolic fates of pyruvate in normal and neoplastic cells. *Cells*. 2021; 10(4): 762. doi: 10.3390/cells10040762

20. Maurer J, Hoene M, Weigert C. Signals from the circle: Tricarboxylic acid cycle intermediates as myometabolites. *Me-tabolites*. 2021; 11(8): 474. doi: 10.3390/metabo11080474
21. Roosterman D, Cottrell GS. Rethinking the citric acid cycle: Connecting pyruvate carboxylase and citrate synthase to the flow of energy and material. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(2): 604. doi: 10.3390/ijms22020604
22. Guo Y, Pu WT. Cardiomyocyte maturation: New phase in development. *Circ Res*. 2020; 126(8): 1086-1106. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315862
23. Kantor PF, Lucien A, Kozak R, Lopaschuk GD. The antiangi-nal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A thiolase. *Circ Res*. 2000; 86(5): 580-588. doi: 10.1161/01.res.86.5.580
24. Bobescu E, Marceanu LG, Dima L, Balan A, Stempel CG, Covaciu A. Trimetazidine therapy in coronary artery disease: The impact on oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunc-tion, and long-term prognosis. *Am J Ther*. 2021; 28(5): e540-e547. doi: 10.1097/MJT.0000000000001430
25. Romashchenko OV. Personalized trimetazidine prescrip-tion as a cytoprotective agent in patients with coronary artery dis-ease. *Russian Journal of Cardiology*. 2021; 26(6): 106-114. (In Russ.). doi: 10.15829/1560-4071-2021-4532
26. Larina VN. Multisystem effect of cytoprotection. *Consilium Medicum*. 2021; 23(1): 93-98. (In Russ.]. doi: 10.26442/20751753.2021.1.200732
27. Berlato DG, de Baires AV. Meldonium: Pharmacological, toxicological, and analytical aspects. *Toxicology Research and Ap-plication*. 2020; 4. doi: 10.1177/2397847320915143
28. Nedogoda SV. Meldonium as a suprenological drug. *Consilium Medicum*. 2020; 22(5): 57-61. (In Russ.). doi: 10.26442/20751753.2020.5.200208
29. Shivakumar A, Yogendra Kumar MS. Critical review on the analytical mechanistic steps in the evaluation of antioxidant activity. *Crit Rev Anal Chem*. 2018; 48(3): 214-236. doi: 10.1080/10408347.2017.1400423
30. Zhigacheva VI, Krikunova IN, Binyukov IV, Mil E, Rusina I, Goloshchapov A. Etoxidol as a broad spectrum adap-togen. *Curr Mol Pharmacol*. 2023; 16(1): 109-115. doi: 10.2174/1874467215666220308115514
31. Romaschenko O, Pokrovsky M, Nadezhdin S, Rumbesht V, Zhernakova N, Alferov P, et al. Personalized approaches to the use of the antioxidant ethoxidol in patients with coronary heart disease. *Journal of Nanostructures*. 2022; 12(2): 343-352. doi: 10.22052/JNS.2022.02.011
32. Novikov VE, Levchenkova OS, Ivantsova EN, Vorobieva VV. Mitochondrial dysfunctions and antihypoxants. *Reviewers on Clini-cal Pharmacology and Drug Therapy*. 2019; 17(4): 30-41. (In Russ.). doi: 10.7816/RCF17431-42
33. Romashchenko O.V. The influence of cytoflavin on the vi-ability of blood leukocytes in patients with ischemic heart dis-ease. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021; 84(3): 17-21. (In Russ.). doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-3-17-21

#### Information about the authors

**Alexander L. Khokhlov** – Dr. Sc. (Med.), Member of the RAS, Professor, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Rector, Yaroslavl State Medical University, e-mail: al460935@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0032-0341>

**Olesya V. Romashchenko** – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Yaroslavl State Medical University; Associate Pro-fessor of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine and Clinical Information Technologies, Belgorod State National Research University, e-mail: RomashenkoOV@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2496-5870>

**Vadim V. Rumbesht** – Cand. Sc. (Techn.), Docent, Associate Professor at the Department of Mathematical and Software Information Systems, Belgorod State National Research University, e-mail: rumbesht@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5622-6525>

**Tatyana I. Yakunchenko** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine and Clinical Information Technologies of the Medical Institute, Belgorod State National Research University, e-mail: yakunchenko@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4031-6267>

**Nina I. Zhernakova** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Family Medicine of the Medical Institute, Belgorod State National Research University, e-mail: zhernakova@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7648-0774>

**Lyudmila R. Zakirova** – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor at the Department of Biochemistry of the Medical Institute, Belgorod State National Research University, e-mail: zakirova@bsu.edu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7361-8598>

**Vladimir G. Kukes** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honorary Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Propaedeutics of Internal Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

# МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

## MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ЕВРОПЕЙСКОГО СУБТИПА, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ЛЮДЕЙ ИЗ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ И ИЗ ВОСТОЧНОЙ И СЕВЕРНОЙ ЕВРОПЫ

#### РЕЗЮМЕ

Козлова И.В.<sup>1</sup>,  
Сунцова О.В.<sup>1</sup>,  
Ткачев С.Е.<sup>2</sup>,  
Парамонов А.И.<sup>1</sup>,  
Дорощенко Е.К.<sup>1</sup>,  
Лисак О.В.<sup>1</sup>,  
Охотина Ю.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

<sup>2</sup> Институт фундаментальной медицины и биологии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (420012, г. Казань, ул. К. Маркса, 74, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Козлова Ирина Валерьевна,  
e-mail: diwerhoz@rambler.ru

**Обоснование.** Изоляцией штаммов вируса клещевого энцефалита европейского субтипа (ВКЭ-Евр) от больных людей было доказано, что в Сибири он участвует в региональной инфекционной патологии и вызывает клиническую картину, сходную с западным КЭ. Однако сравнительный анализ геномов штаммов ВКЭ-Евр, выделенных от людей больных КЭ в Восточной Сибири и в Европе, не проводился.

**Цель исследования.** Сравнительное исследование генома и поиск детерминант вирулентности у штаммов ВКЭ-Евр, изолированных от больных людей из Восточной Сибири и Европы.

**Материалы и методы.** В работе использован штамм 1G-98 ВКЭ-Евр из коллекции ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (GenBank № KY069119). В анализ также включены все полногеномные последовательности штаммов ВКЭ-Евр от людей, депонированные в GenBank на момент начала исследований. Секвенирование генома штамма 1G-98 проведено по методу Сэнгера. Получена характеристика вирулентности штамма при внутримозговом и подкожном заражении лабораторных мышей.

**Результаты.** Показано, что по кодирующей области генома уровень различий штаммов ВКЭ-Евр из Сибири не превышает установленный ранее максимальный для данного субтипа показатель в 3,1 %. Установлено, что штамм 1G-98, выделенный из крови больного КЭ из Иркутской области, характеризуется высокими показателями церебральной и периферической активности. У него выявлена мутация D67G в домене DII белка E, которая потенциально может быть ассоциирована с вирулентностью, обнаружена протяжённая делеция в вариабельной части 3'-некодирующей области генома, сопоставимая по длине с высоковирулентным штаммом Нурр из Европы.

**Заключение.** Впервые осуществлён сравнительный анализ геномов штаммов ВКЭ-Евр от больных людей из азиатской части России и Европы, показавший их генетическое сходство, выявлены потенциальные детерминанты вирулентности.

**Ключевые слова:** вирус клещевого энцефалита, европейский субтип, геном, аминокислотная последовательность, детерминанты вирулентности

**Для цитирования:** Козлова И.В., Сунцова О.В., Ткачев С.Е., Парамонов А.И., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Охотина Ю.С. Сравнительный анализ штаммов вируса клещевого энцефалита европейского субтипа, изолированных от больных людей из Восточной Сибири и из Восточной и Северной Европы. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 122-134. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.13

Статья поступила: 15.07.2024

Статья принята: 18.10.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

## COMPARATIVE ANALYSIS OF EUROPEAN SUBTYPE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS STRAINS ISOLATED FROM PATIENTS FROM EASTERN SIBERIA AND EASTERN AND NORTHERN EUROPE

Kozlova I.V.<sup>1</sup>,  
Suntsova O.V.<sup>1</sup>,  
Tkachev S.E.<sup>2</sup>,  
Paramonov A.I.<sup>1</sup>,  
Doroschenko E.K.<sup>1</sup>,  
Lisak O.V.<sup>1</sup>,  
Okhotina Yu.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

<sup>2</sup> Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University (Karla Marksa str., 74, Kazan 420012, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Irina V. Kozlova,**  
e-mail: diwerhoz@rambler.ru

### ABSTRACT

**Background.** Isolation of strains from tick-borne encephalitis (TBE) patients proved that the European subtype tick-borne encephalitis virus (TBEV-Eur) in Siberia is involved in regional human infectious pathology and causes a clinical picture similar to Western TBE. However, a comparative analysis of the genomes of TBEV-Eur strains isolated from TBE patients in Eastern Siberia and Europe has not been carried out.

**The aim.** Genome comparative analysis and search for virulence determinants in TBEV-Eur strains isolated from patients in Eastern Siberia and Northern and Eastern Europe.

**Materials and methods.** In current work, TBEV-Eur strain 1G-98 from the collection of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (GenBank Acc. No. KY069119) was used. The analysis also included all complete genome sequences of TBEV-Eur strains from patients submitted in GenBank database at the time the study began. Complete genome sequencing of strain 1G-98 was performed using the Sanger method. The virulence of the strain was assessed by intracerebral and subcutaneous infection of laboratory mice.

**Results.** It has been shown that, according to the coding region of the genomes, the level of differences between TBEV-Eur strains from Siberia does not exceed the previously established maximum for this subtype of 3.1 %. The strain 1G-98, isolated from the blood of TBE patient from the Irkutsk region demonstrated high cerebral and peripheral activity. In this strain, D67G mutation in E protein DII domain was revealed, which could potentially be associated with virulence, and a long deletion in the variable part of the 3'-noncoding genome region, comparable in length to the highly virulent strain Hypr from Europe was found.

**Conclusions.** For the first time, a comparative analysis of the genomes of TBEV-Eur strains from TBE patients from the Asian part of Russia and Europe was carried out showing their genetic similarity, and potential virulence determinants were identified.

**Key words:** tick-borne encephalitis virus, European subtype, genome, amino acid sequence, virulence determinants

Received: 15.07.2024  
Accepted: 18.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Kozlova I.V., Suntsova O.V., Tkachev S.E., Paramonov A.I., Doroschenko E.K., Lisak O.V., Okhotina Yu.S. Comparative analysis of European subtype tick-borne encephalitis virus strains isolated from patients from Eastern Siberia and Eastern and Northern Europe. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 122-134. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.13

Клещевой энцефалит (КЭ) является одной из наиболее значимых природно-очаговых вирусных инфекций, передающихся через укус иксодовых клещей. Возбудителем заболевания является вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), который в соответствии с изменениями, внесёнными Международным комитетом по таксономии вирусов (ICTV) в марте 2023 г., переименован в *Orthoflavivirus encephalitis* [1]. Нозоареал КЭ включает большую часть территории России, а также 29 стран Европы. Кроме того, случаи заболевания КЭ или вирусной активности регистрируются в 6 азиатских странах [2], а в 2021 г. ВКЭ впервые изолирован от клещей *Ixodes ricinus* на территории Африканского континента (Тунис) [3]. В настоящее время выделяют три основных субтипа ВКЭ – европейский (ВКЭ-Евр), сибирский (ВКЭ-Сиб) и дальневосточный (ВКЭ-ДВ). В последние годы описано ещё два предполагаемых субтипа ВКЭ – Байкальский (ВКЭ-Байк) [4, 5] и Гималайский (ВКЭ-Гим) [6]. ВКЭ-Евр доминирует в Европе, тогда как ВКЭ-Сиб и ВКЭ-ДВ чаще встречаются в Азии. Однако существуют территории, где одновременно встречаются два или даже три основных субтипа вируса. Одной из таких территорий является Восточная Сибирь, где обнаружены все известные на сегодняшний день субтипы ВКЭ, включая ВКЭ-Байк, за исключением ВКЭ-Гим [7].

КЭ отличается значительной вариабельностью клинического течения заболевания от инapparантной формы инфекции до тяжёлых форм с поражением центральной нервной системы. Клинические проявления КЭ во многом определяются свойствами возбудителя и особенностями реагирования иммунной системы человека. ВКЭ-Евр, как правило, вызывает заболевание с более мягким течением и благоприятным исходом, по сравнению с КЭ, вызванным ВКЭ-Сиб и ВКЭ-ДВ [8]. Для него характерно двухфазное течение, которое наблюдается у 74–85 % пациентов, инфицированных ВКЭ-Евр. Клиническая картина инфекции в Европе варьирует от субклинической до случаев КЭ с поражением ЦНС с тяжёлыми и сохраняющимися после заболевания неврологическими последствиями (до 10 % случаев). Показатель летальности от ВКЭ-Евр, как правило, не выше 2 % [8, 9]. Для западного КЭ нехарактерны геморрагические и хронические (прогрессирующие) формы заболевания, которые обычно ассоциируют с другими субтипами вируса. Летальные случаи КЭ, в основном, наблюдаются у пациентов с ослабленным иммунитетом или у пожилых людей [8].

Изоляцией штаммов от людей, больных КЭ, было доказано, что ВКЭ-Евр в Сибири участвует в региональной инфекционной патологии человека и вызывает клиническую картину, сходную с КЭ, регистрируемым на территории Европы [2, 10]. Однако сравнительный анализ геномов штаммов ВКЭ-Евр, выделенных от больных КЭ людей в Восточной Сибири и в Европе, ранее не проводился.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведение сравнительного анализа и поиск детерминант вирулентности у штаммов вируса клеще-

вого энцефалита европейского субтипа, изолированных от больных людей в Восточной Сибири и Северной и Восточной Европе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использован штамм 1G-98 ВКЭ-Евр из коллекции ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (№ 478258 скр.rf.ru), который был изолирован в 1998 г. из сгустка крови больного, пострадавшего от укуса таёжного клеща на территории Иркутской области. Определённая нами полногеномная последовательность этого штамма депонирована в базу данных GenBank под № KY069119. В анализ полных геномов штаммов мы также включили последовательности штаммов 214-67 (MK562430) и 172-68 (MK562446) из коллекции ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, которые были изолированы из ликвора больных на территории Иркутской области. Кроме того, из базы данных GenBank в анализ были взяты полногеномные последовательности штаммов ВКЭ-Евр: *Absettarov* (KU885457) (Россия); *Skrivanek* (KJ922514), *Hypr* (U392292), *Tobrman* (KJ22515), *Petracova* (KJ922513), *Kubinova* (KJ922512), *Vlasaty* (KJ922516) (Чешская Республика); *Kuutsalo-2015* (MG589937) (Финляндия); *Ljubljana-1* (JQ654701) (Словения); 93/783 (MT581212) (Швеция).

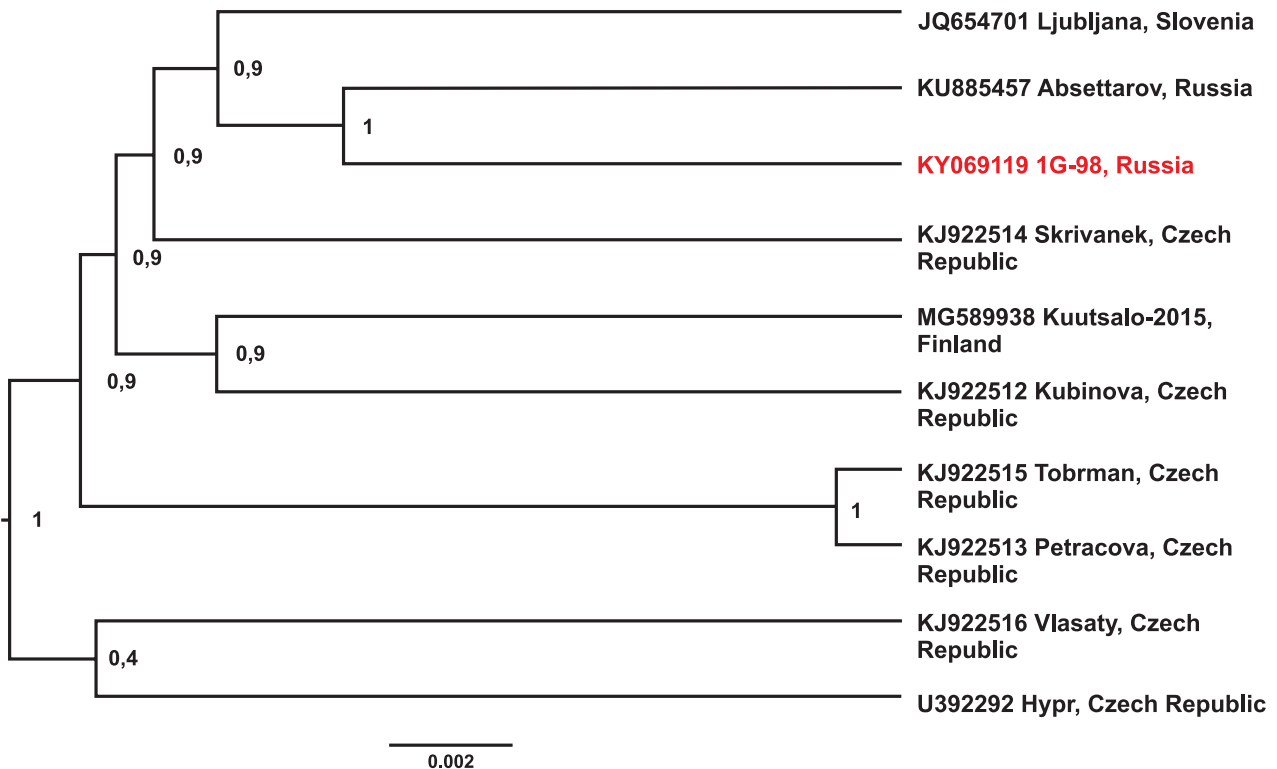
Для накопления вируса готовили суспензию из лиофилизированных штаммов в разведении  $10^{-3}$  с применением среды Игла МЕМ, 2%-й сыворотки КРС и антибиотиков (200 Ед/мл) и проводили заражение сосунков нелинейных белых мышей (0,03 мл – интрацеребрально). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977), а также в соответствии с Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986). Выполнение экспериментальных исследований на лабораторных животных одобрено комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Выписка из протокола № 6.1 от 20.11.2017). Для экстракции РНК готовили 10 % суспензии головного мозга мышей, инфицированных штаммом 1G-98 ВКЭ-ЕС, центрифугировали их при 300 g в течение 15 мин, 100 мкл супернатанта суспензии использовали для экстракции РНК с помощью набора реагентов «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия). Обратную транскрипцию проводили с помощью набора Reverta L-100, содержащего рандомизированные гексануклеотиды («АмплиСенс», Россия). ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной смеси, согласно инструкциям производителя набора реагентов для определения РНК ВКЭ в биологическом материале, методом двухраундовой ПЦР («BioSan», Россия) с 3 мкл кДНК и парой соответствующих праймеров, как было описано нами ранее [11]. Для полногеномного секвенирования использовали на-

боры ПЦР-фрагментов разной длины (298–693 п.н.), соответствующих определённым фрагментам генома ВКЭ и перекрывающихся друг с другом на 50–100 п.н. Нуклеотидные последовательности продуктов ПЦР, очищенных с помощью колонок GFX («Amersham Biosciences», США), определяли с использованием генетического анализатора ABI PRISM 3100 («Applied Biosystems», США). Сборку последовательностей ПЦР-фрагментов в полногеномные и выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы MEGA 6.0 [12]. Филогенетический анализ выполняли методом байесовского анализа Монте-Карло с использованием цепей Маркова (Bayesian Markov chain Monte-Carlo method) в пакете программ BEAST v.1.10.4 [13, 14]. Оценку достоверности построенных деревьев проводили с помощью показателя апостериорной вероятности. Биоинформационный анализ и графическое представление расположения аминокислотных замен в белках штаммов ВКЭ-Евр из Восточной Сибири проводили в соответствии с описанием в статье P. Formanova et al. [15]. Для визуализации структуры белка E ВКЭ использовали структуру 1SVB из базы данных белков RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB) [16]. Структуры белков NS1, NS3 и NS5 моделировали на сервере Phyre2 [17] в соответствии со структурами 4O6C [18], 2VBC [19] и 4K6M [20] из базы RCSB PDB.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

К моменту начала проводимых исследований (2021 г.) в базе данных GenBank находилось десять полногеномных последовательностей ВКЭ-Евр, изолированных от больных КЭ людей. Изучаемые штаммы были изолированы на территории СССР, Чешской Республики, Словении и Финляндии в период с 1953 по 2015 г. Кластеризация штаммов ВКЭ-Евр, выделенных от больных КЭ людей, показана на дендрограмме (рис. 1).

Штамм 1G-98 из нашей коллекции был изолирован из сгустка крови больного, пострадавшего от укуса таёжного клеща на территории Иркутской области (17 км Байкальского тракта), в 1998 г. Генетически наиболее близким к нему оказался штамм *Absettarov*. Этот штамм изолирован из крови 3-летнего мальчика с двухфазной лихорадкой и признаками менингита в 1951 г. в Ленинградской области. Несмотря на то, что штаммы 1G-98 и *Absettarov* были выделены от больных КЭ людей в разных точках России (Иркутская и Ленинградская области) с разрывом более чем в 40 лет, на дендрограмме они сформировали общую кладу (степень апостериорной вероятности – 100%). Уровень гомологии последовательностей кодирующей части генома этих штаммов составил 98,32%. При этом уровень сходства последовательностей по данной части генома штаммов *Skrivaneck*



**РИС. 1.**  
Дендрограмма ВКЭ-Евр, построенная на основании 10 последовательностей кодирующей части генома (10 245 п.н.) штаммов, выделенных от больных людей, с помощью метода байесовского анализа Монте-Карло с использованием цепей Маркова в пакете программ BEAST v. 1.10.4 (числа в узлах отражают апостериорную вероятность)

**FIG. 1.**  
Dendrogram of TBEV-Eur constructed on the basis of 10 sequences of the genome coding part (10 245 bp.) of strains isolated from patients using Bayesian Markov chain Monte-Carlo analysis method in the BEAST v. 1.10.4 software package (the numbers at the nodes represent the posterior probability)

и *Hyprr* из Чешской Республики, которые были изолированы в один и тот же год, был ниже (97,32 %). Достаточно высокий для ВКЭ-Евр уровень различий был зафиксирован и между штаммом *Kuutsalo-2015* и штаммом *Hyprr* – 2,6 %. Уровень различий штамма *1G-98* с данными штаммами составил 2,39 и 2,71 % соответственно.

Интересно, что несмотря на то, что все штаммы из Чешской Республики были изолированы в течение одного сезона и в одном и том же регионе, на дендрограмме они вошли в состав разных клад. Эти штаммы были выделены в 1953 г. из крови пациентов, заболевших КЭ во время вспышки в Центральной Богемии (Чехословакия). У пациентов отмечалось тяжёлое клиническое течение заболевания. Считается, что это одни из старейших изолятов ВКЭ-Евр в Европе [15].

Штаммы *Tobrman* и *Petracova* на дендрограмме образовали единую кладу. Штамм *Kubinova* из Чешской Республики кластеризовался вместе со штаммом *Kuutsalo-2015*, выделенным в 2015 г. из мозжечка мужчины, погибшего от КЭ в Финляндии. Штамм *Ljubljana-1*, изолированный в 1992 г. из сыворотки крови больного КЭ человека из Словении, и штамм *Skrivanek* из Чешской Республики (1953 г.) на дендрограмме сформировали отдельные генетические линии. Штамм *Hyprr*, как и другие штаммы из Чешской Республики, был изолирован в 1953 г. из крови заболевшего мальчика. Наиболее тесное генетическое родство к нему демонстрирует штамм *Vlasaty*.

Далее проводили сравнительный анализ геномов штаммов ВКЭ-Евр, выделенных от больных людей в Европе и Восточной Сибири. В данный анализ дополнительно включили последовательности штаммов *214-67* и *172-68* из Восточной Сибири, которые были депонированы в GenBank в 2021 г., а также последовательность штамма *93/783*, который в 2019 г. был изолирован из сыворотки крови 56-летнего мужчины из Швеции с энцефалитической формой КЭ.

Анализ кодирующих частей геномов штаммов, изолированных от больных КЭ людей, в сравнении с прототипным штаммом ВКЭ-Евр *Neudorfl*, выявил наличие множества аминокислотных замен, которые распределены по всему полипротеину (табл. 1).

Каждый из рассмотренных нами штаммов имел от 23 (*Ljubljana-1*) до 40 (*Hyprr*) аминокислотных замен относительно штамма *Neudorfl*. У штаммов ВКЭ-Евр из Восточной Сибири (*1G-98*, *214-67* и *172-68*) зафиксировано 35 таких замен.

Максимальное количество аминокислотных замен у всех без исключения штаммов выявлено в последовательности неструктурного белка NS5. Минимальное количество уникальных аминокислотных замен обнаружено в белках C, prM, NS2B и NS4A.

При сравнительном анализе геномов штаммов ВКЭ-Евр, изолированных от больных КЭ людей из Иркутской области, со штаммами из Европы было выявлено множество аминокислотных замен, которые

**ТАБЛИЦА 1**  
**КОЛИЧЕСТВО АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН**  
**В ПОЛИПРОТЕИНАХ ШТАММОВ ВКЭ-ЕВР,**  
**ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ КЭ ЛЮДЕЙ,**  
**В СРАВНЕНИИ СО ШТАММОМ NEUDORFL**

Штамм	Белок										Всего
	C	prM	E	NS1	NS2a	NS2b	NS3	NS4a	NS4b	NS5	
<i>Ljubljana-1</i>	0	0	3	1	4	2	3	0	5	6	23
<i>Kuutsalo2015</i>	0	0	1	3	4	2	2	0	3	9	24
<i>93/783</i>	0	0	3	1	4	2	3	1	4	7	25
<i>Skrivanek</i>	1	2	2	0	5	2	3	0	4	10	29
<i>Tobrman</i>	2	1	1	1	5	2	3	1	3	10	29
<i>Absettarov</i>	1	0	1	2	5	3	3	0	4	11	30
<i>Kubinova</i>	0	1	1	6	4	2	3	0	3	10	30
<i>Petracova</i>	2	2	2	2	5	2	3	1	2	10	31
<i>Vlasaty</i>	0	0	4	3	5	2	3	0	3	12	32
<i>214-67</i>	1	1	1	4	7	2	3	1	4	11	35
<i>172-68</i>	1	1	1	3	8	2	2	1	4	12	35
<i>1G-98</i>	1	1	2	3	8	2	2	1	4	11	35
<i>Hyprr</i>	0	1	6	2	10	3	3	2	3	10	40

**TABLE 1**  
**NUMBER OF AMINO ACID SUBSTITUTIONS**  
**IN THE POLYPROTEINS OF TBEV-EUR STRAINS ISOLATED**  
**FROM PATIENTS WITH TBE,**  
**IN COMPARISON WITH THE STRAIN NEUDORFL**

ТАБЛИЦА 2

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН У ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ЕВРОПЕЙСКОГО СУБТИПА, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ЛЮДЕЙ ИЗ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ И ИЗ ВОСТОЧНОЙ И СЕВЕРНОЙ ЕВРОПЫ

TABLE 2

COMPARATIVE ANALYSIS OF AMINO ACID SUBSTITUTIONS IN EUROPEAN SUBTYPE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS STRAINS ISOLATED FROM PATIENTS FROM EASTERN SIBERIA AND EASTERN AND NORTHERN EUROPE

Штамм	Позиция в белке																					
	C	prM	E	NS1			NS2a				NS3		NS4a		NS4b			NS5				
	77	54	67	174	237	340	53	124	128	141	224	447	619	55	21	56	119	297	397	521	699	724
<b>1G-98</b>	R	M	<b>G</b>	K	M	H	M	<b>E</b>	L	M	A	I	<b>G</b>	A	R	V	F	E	K	Q	P	A
<b>214-67</b>	R	M	D	K	M	<b>L</b>	M	<b>G</b>	L	M	A	I	<b>R</b>	A	R	V	F	E	K	Q	P	A
<b>172-68</b>	R	M	D	K	M	H	M	<b>G</b>	L	M	A	I	<b>G</b>	A	R	V	F	<b>K</b>	K	Q	P	A
<i>Absettarov</i>	K	L	D	E	V	H	I	S	L	I	A	T	G	V	Q	I	L	E	K	K	A	T
<i>Kubinova</i>	K	L	D	E	V	H	I	S	F	I	S	T	G	V	Q	I	L	E	K	K	A	T
<i>Petracova</i>	K	L	D	E	V	H	M	S	F	I	S	T	G	A	R	I	L	E	K	K	A	T
<i>Skrivanek</i>	K	L	D	E	V	H	I	S	F	I	S	T	G	V	Q	I	L	E	K	K	A	T
<i>Tobrman</i>	K	L	D	E	V	H	M	S	F	I	S	T	G	A	Q	I	L	E	K	K	A	T
<i>Vlasaty</i>	K	L	D	E	V	H	M	S	F	I	S	T	G	V	Q	I	L	E	K	K	A	<b>S</b>
<i>Hyprr</i>	K	L	D	E	V	H	M	<b>N</b>	F	I	S	T	G	V	R	I	L	E	R	K	A	T
<i>Ljubljana-1</i>	K	L	D	E	V	H	I	S	F	I	S	T	G	V	Q	I	L	E	K	K	A	T
<i>Kuutsalo2015</i>	K	L	D	E	V	H	I	S	F	I	S	T	G	V	Q	I	L	E	R	K	A	T
<i>93/783</i>	K	L	D	E	V	H	I	S	F	I	S	T	G	A	Q	I	L	E	R	K	A	T

Примечание. Цветом выделены уникальные замены, серым – чаще всего встречающиеся аминокислотные остатки, белым цветом выделены замены, встречающиеся у нескольких штаммов.

встречаются во всех белках, за исключением белка NS2B (табл. 2). В последовательности штамма 1G-98 обнаружены две уникальные замены, одна из них – D67G – локализована в домене II белка E (рис. 2), а вторая – в белке NS2a.

У двух других штаммов из Иркутской области уникальные замены имеются в неструктурных белках (табл. 2). Штамм 172-68 имеет замену в белке NS5 (E297K), а у штамма 214-67 – по одной замене в белках NS1 (H340L) и NS3 (G619R). В позиции 124 белка NS2a у обоих штаммов вместо остатка серина, как у большинства исследованных штаммов, находится остаток глицина (S124G), а у штамма *Hyprr* – аспарагина (S124N).

У всех трёх штаммов, изолированных от больных людей из Восточной Сибири, имеются идентичные замены в белках C (K77R), M (L54M) (рис. 3, а), NS1 (E174K, V237M) (рис. 3, б), NS2a (F128L, I141M, S224A), NS3 (T447I) (рис. 3, в), NS4a (V55A), NS4b (Q21R, I56V, L119F) и NS5 (K521Q, A699P, T724A) (рис. 3, г). Необходимо отметить, что большая часть вышеперечисленных аминокислотных замен была выявлена и у штаммов ВКЭ-Евр, выделенных из других источников (*I. persulcatus*, мелких млекопитающих) на территории Восточной Сибири в различные годы и, возможно, является маркером географической привязки штаммов к региону изоляции.

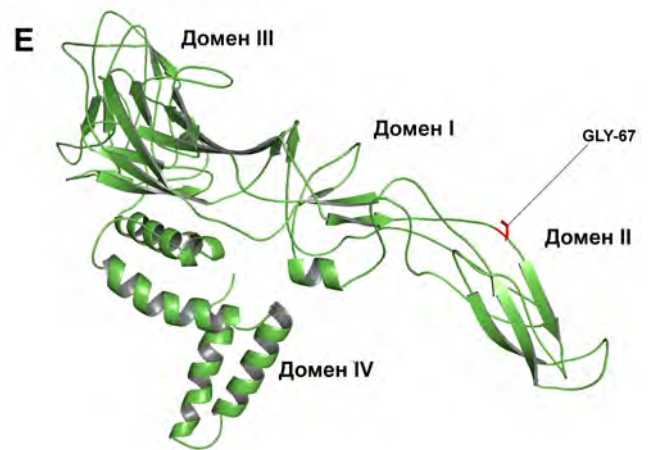


РИС. 2. Расположение аминокислотных замен в белке E штамма 1G-98 ВКЭ-Евр

FIG. 2. Amino acid substitutions location in E protein of TBEV-Eur strain 1G-98

В соответствии с аминокислотной позицией 53 белка NS2a среди штаммов ВКЭ-Евр, изолирован-

ных от больных КЭ людей, можно выделить две группы. У первой из них в этой позиции находится остаток изолейцина, как у штаммов западносибирской линии ВКЭ-Евр и ВКЭ-Сиб (табл. 2). В эту группу вошли штаммы из Европы *Ljubljana-1*, *Kubinova*, *Skrivanek*, *Kuutsalo-2015*, *93/783* и штамм из европейской части России *Absettarov*. У второй группы штаммов в аминокислотной позиции 53 белка NS2a находится остаток метионина. К этой группе относятся штаммы ВКЭ-Евр от больных из Восточной Сибири *1G-98*, *214-67*, *172-68*, а также штаммы из Чешской Республики *Petracova*, *Tobrman*, *Vlasaty* и *Huylr*.

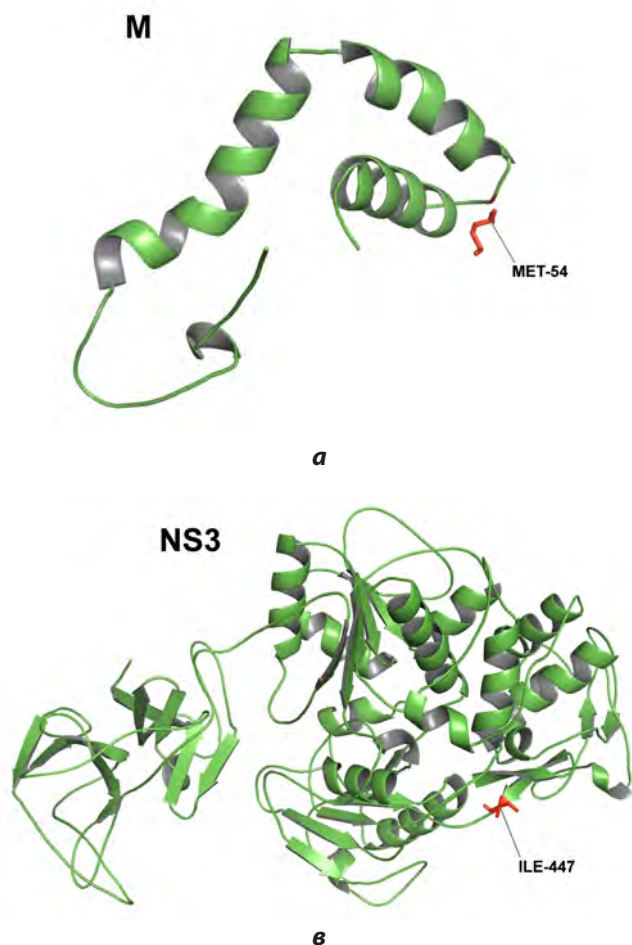
Замены F128L и S224A в белке NS2a встречаются не только у штаммов от больных КЭ людей из Восточной Сибири, но и у штамма *Absettarov*. В позиции 55 белка NS4a замену V55A имеют все штаммы из Восточной Сибири, в том числе и изолированные от больных КЭ людей (табл. 2). Такие же замены выявлены у штаммов *93/783*, *Petracova* и *Tobrman* из Европы.

Считается, что сибирский и дальневосточный субтипы ВКЭ ассоциированы с более тяжёлым течением заболевания по сравнению с ВКЭ-Евр. Механизмы, по кото-

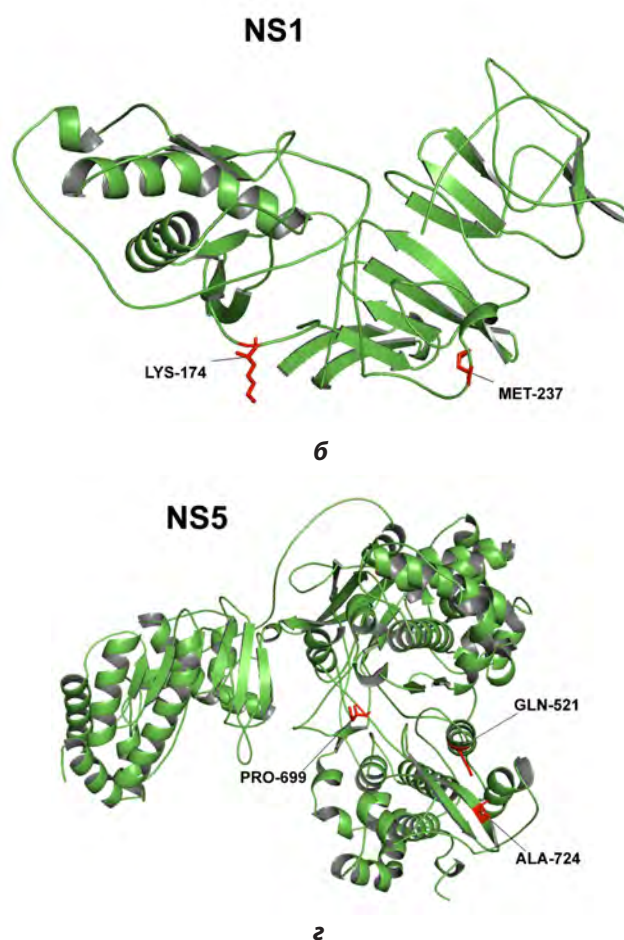
рым реализуется тяжесть заболевания КЭ в зависимости от субтипа вируса, остаются малоизученными.

Штаммы ВКЭ-Евр, ВКЭ-ДВ и ВКЭ-Сиб демонстрируют разную степень нейроинвазивности и нейровирулентности при заражении лабораторных животных, что, возможно, является одним из объяснений в наблюдаемых различиях в клиническом течении КЭ. Однако важно отметить, что каждый субтип ВКЭ имеет в своём составе штаммы с низкой и высокой степенью патогенности. Так, например, штамм ВКЭ-Евр *Huylr* проявляет патогенность, аналогичную или даже более высокую, чем штамм ВКЭ-ДВ *Sofjin* [21].

Проведённое нами инфекционное титрование выявило, что штамм *1G-98* из Иркутской области проявляет высокую церебральную и периферическую активность. При заражении аутбредных лабораторных мышей массой 5–7 г 0,03 мл суспензии штамма *1G-98* в мозг инфекционный титр составил 8,72 IgLD<sub>50</sub>/мл, при подкожном заражении – 6,35 IgLD<sub>50</sub>/мл. Индекс инвазивности составил 2,37 IgLD<sub>50</sub>/мл (< 3,0), что свидетельствует о способности данного штамма преодолевать гематоэнцефалический барьер, достигать ЦНС и размножаться в ней.



**РИС. 3.**  
Расположение аминокислотных замен в белках М (а), NS1 (б), NS3 (в), NS5 (г) у штаммов ВКЭ-Евр, изолированных от больных в Восточной Сибири



**FIG. 3.**  
Amino acid substitutions location in M (a), NS1 (б), NS3 (в), NS5 (г) proteins of TBEV-Eur strains isolated from patients from Eastern Siberia

Штамм 1G-98 вызывал 100%-ю летальность у лабораторных мышей, средняя продолжительность жизни которых после интрацеребральной инокуляции вируса составила пять дней. Клиника КЭ, вызванного этим штаммом у человека в Иркутской области, характеризовалась умеренной лихорадкой, двухфазным течением, симптомами общей интоксикации, отсутствием менингеального синдрома и признаков остаточных явлений после перенесённой инфекции, что существенно не отличается от описания клинического течения КЭ, вызванного ВКЭ-Евр в Европе. Необходимо отметить, что такая клиническая картина заболевания наблюдалась у больного уже после осуществлённой серопротекции с помощью специфического донорского иммуноглобулина. К сожалению, мы не располагаем данными о клинической картине КЭ, которая отмечалась у больных, от которых были изолированы штаммы 214-67 и 172-68, а также об их патогенности для лабораторных животных.

Штамм *Absettarov* является высоковирулентным как при интрацеребральном, так и периферическом введении для лабораторных мышей BALB/c. По уровню вирулентности он сходен со штаммом *EK-328 ВКЭ-Сиб* (Балтийская линия) [22]. Штамм из Чешской Республики *Hypr* обладает более вирулентным фенотипом на мышинной модели, чем прототипный штамм ВКЭ-Евр *Neudoerfl*. Штамм 93/783 ВКЭ-Евр является высокопатогенным и нейровирулентным штаммом. При внутрибрюшинном и интрацеребральном заражении мышей линии C57BL/6 он оказался более вирулентным, чем штаммы ВКЭ-Евр (*Torö*, *HM467/09*, *Neudoerfl*, *Hypr*, *AS33*), а также штаммы ВКЭ-ДВ (*Sofjin*) и ВКЭ-Сиб (*Aina*, *M14/10*) [23].

Было установлено, что на нейропатогенез КЭ могут оказывать влияние мутации, происходящие не только в структурных, но и неструктурных белках вируса [21, 24].

Белок Е связан с основными биологическими характеристиками флавивирусов, включая адсорбцию вириона, рН-зависимую пенетрацию, гемагглютинацию, индукцию вируснейтрализующих и защитных антител, антителозависимое усиление вирулентности [21]. Белок Е опосредует тропизм и прикрепление ВКЭ к клетке хозяина и, следовательно, может быть решающим фактором, определяющим нейровирулентность и/или нейроинвазивность [21]. Было идентифицировано множество мутаций, которые ослабляют репродукцию флавивирусов через различные функциональные области белка Е [21, 24].

Наибольшее потенциальное влияние на нейропатогенез оказывает геномная изменчивость в домене III белка Е. Так, W.R. Jiang и соавт. на примере мутантов штамма вируса шотландского энцефалита (*Louping ill virus*) продемонстрировали важность аминокислотных замен в положениях с 308 по 311 белка Е для аттенуации вируса и его гемагглютинирующей активности [25]. Наиболее эффективной заменой в снижении нейровирулентности для лабораторных мышей было изменение остатка аспартата на аспарагин (D308N) в аминокислотном положении 308, которое представляет собой потенциальный сайт гликозилирования. Полученные результаты демонстрируют важность критических участков внутри гликопротеина оболочки как детерминант вирулентно-

сти вируса [25]. C.W. Mandl и соавт. с помощью направленного мутагенеза и использованием штамма *Neudoerfl* показали, что его вирулентность зависела от специфических остатков (E308, E310, E311 и E315) в белке Е, расположенных в области, которая считается потенциальной детерминантой связывания рецептора [21]. Наиболее значительная аттенуация ВКЭ для мышей была достигнута путём мутагенеза остатка треонина в позиции 310. Сочетание этой мутации с делеционными мутациями в 3'-некодирующей области генома привело к получению мутантов с высокой степенью аттенуации. Однако биологические эффекты мутации T310K могут быть в значительной степени обращены вспять мутацией в соседнем положении (K311E), которая возникла спонтанно во время заражения мышей [21]. Мутагенез других положений предоставил доказательства функциональной важности остатка 308 (Asp) и его зарядового взаимодействия с остатком 311 (Lys), тогда как остаток 309 мог быть изменён или даже удалён без каких-либо заметных последствий. Делеция остатка 309 сопровождалась спонтанной мутацией второго сайта (Phe на Tyr) в положении 332, которое в трёхмерной структуре белка Е пространственно близко к остатку 309. H. Holzmann и соавт. было показано, что аминокислотная замена G368R в штамме *Neudoerfl* связана с потерей нейроинвазивности, а аминокислотные замены Y384H и G386R могут приводить к локальным изменениям заряда, поскольку фланкирующие аминокислоты могут играть важную роль в образовании дисульфидной связи [21]. G. Wallner и соавт. сравнили геномные последовательности двух штаммов ВКЭ-Евр: *Hypr* (штамм с длительной пассажной историей, выделен от человека) и 263 (штамм изолирован непосредственно от клещей). В отличие от штамма 263, штамм *Hypr* показал значительно более высокую нейроинвазивность для мышей, чем штамм-прототип. Авторы идентифицировали небольшое количество специфических аминокислот, особенно в положении 390, которые могут влиять на нейропатогенез [21].

У проанализированных нами аминокислотных последовательностей штаммов ВКЭ-Евр, изолированных от больных людей, мутация в домене III белка Е наблюдалась только у штамма *Hypr* (H390Y) (табл. 3).

Мутация D67G, выявленная нами в домене DII белка Е у штамма 1G-98, ранее была описана Л.И. Козловской и соавт. на примере клона 18А штамма ВКЭ-Евр *Absettarov*, полученного путём клонирования вируса после четырёх пассажей в культуре клеток СПЭВ [22]. Было установлено, что так же как и родительский штамм, клон 18А сохранял высокую вирулентность для мышей, гемагглютинирующую активность в отношении эритроцитов гуся и способность к формированию крупных бляшек в культуре клеток [22].

Мутация D67G, E122G и D277A (домен DII), введённые в штаммы сибирского субтипа, индуцировали повышенную гидрофобность и положительный заряд на поверхности вириона. Интересно, что все три сконструированных вирусных мутанта продемонстрировали меньшую нейроинвазивность для лабораторных мышей, чем вирус дикого типа. D67G-мутации в белке Е наблюдалась

**ТАБЛИЦА 3**  
**РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ИЗВЕСТНЫХ ДЕТЕРМИНАНТ**  
**ВИРУЛЕНТНОСТИ У ШТАММОВ ВКЭ-ЕВР,**  
**ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ЛЮДЕЙ**

**TABLE 3**  
**IDENTIFICATION RESULTS OF KNOWN VIRULENCE**  
**DETERMINANTS IN TBEV-EUR STRAINS ISOLATED**  
**FROM PATIENTS**

Штамм	Позиция в последовательности белка, а. о.								
	E			NS4b		NS5			
	67	83	390	463	95	213	634	692	724
<b>1G-98</b>	<b>G</b>	A	H	A	M	A	A	I	<b>A</b>
<b>214-67</b>	D	A	H	A	M	A	A	I	<b>A</b>
<b>172-68</b>	D	A	H	A	M	A	A	I	<b>A</b>
<i>Absettarov</i>	D	A	H	A	M	A	A	I	T
<i>Kubinova</i>	D	A	H	A	M	A	A	I	T
<i>Petracova</i>	D	A	H	A	M	A	A	T	T
<i>Skrivanek</i>	D	A	H	A	M	A	T	I	T
<i>Tobrman</i>	D	A	H	A	M	A	A	T	T
<i>Vlasaty</i>	D	A	H	A	M	A	A	S	S
<i>Hypir</i>	D	A	Y	A	M	A	A	I	T
<i>Ljubljana-1</i>	D	A	H	A	V	A	A	T	T
<i>Kuutsalo2015</i>	D	A	H	A	M	A	A	I	T
<i>93/783</i>	D	T	H	S	M	V	A	I	T

**Примечание.** Цветом выделена уникальная мутация (красным – для штаммов с Восточной Сибири, серым – для штаммов из Европы), белым – чаще всего встречающиеся замены в аминокислотной последовательности.

у семи штаммов ВКЭ-ДВ (шесть выделены от больных КЭ людей, один штамм – от мелкого млекопитающего) и одного штамма ВКЭ-Сиб – *Yar46-2* (EU444079), изолированного от человека, умершего от КЭ в 2001 г. [26]. Штаммы ВКЭ-ДВ с такой мутацией были также выделены в 1943 г. в северо-западном регионе России (*Volkhov-Knromov* (FJ214114)), в 1942 и 1943 гг. на Урале (*T-blood* (AF091019), *Ural-Nina* (FJ214119), *Ural-Ponomarev* (FJ214118), *Ural-Belyaeva* (FJ214117) и *Ural-Antipov* (FJ214115)), а также в 1998 г. от *Apodemus agrarius* (*Est2546* (DQ393779)) в Эстонии [26]. Мутация D67G, выявленная в случае летального исхода КЭ в Монголии, по-видимому, увеличивает способность ВКЭ преодолевать гематоэнцефалический барьер, что, вероятно, объясняет фатальный исход энцефалита у пациента [27]. Н. Holzmann и соавт. показали, что мутант по домену DI Y181D и мутант по домену DII A123K белка E штамма ВКЭ-Евр *Neudoerfl* демонстрируют значительно сниженную нейроинвазивность после подкожной инокуляции мышам-альбиносам GP Swiss [21]. Мутация N154L, введенная путём сайт-направленного мутагенеза в сайт гликозилирования белка E в домене DI, значительно снижала нейровирулентность химер TBEV-DEN-4 у мышей и ограничивала репликацию вируса в клеточной культуре [21]. Специфическая замена V463A расположена в трансмембранном домене белка E и различается у штаммов ВКЭ-ДВ, изолированных от людей с субклиническими и тяжёлыми и форма-

ми КЭ [28]. В позиции 463 белка E у штаммов ВКЭ-ДВ, выделенных от людей с лёгкими формами инфекции, находится остаток аланина, а у штаммов, изолированных от людей с тяжёлыми формами КЭ, находится остаток валина. При этом у штамма ВКЭ-Евр *93/783* в этой позиции находится остаток серина. Данный штамм прошёл минимальное количество пассажей и обладает более высокой вирулентностью по сравнению с другими штаммами европейского, сибирского и дальневосточного субтипов [23]. R. Lindqvist и соавт. было показано, что штамм *93/783* имеет две аминокислотные замены в белке E – A83T и A463S, которые при введении их в геном непатогенного штамма *Toro* усиливают инфицирование нейронов, а также репликацию вируса *in vivo* [23].

В штамме *Oshima 5-10* (ВКЭ-ДВ) аминокислотная замена S40R/P в положении 40 в домене DI белка E приводит к уменьшению размеров бляшек, к выходу инфекционного вируса в культуре клеток и к снижению нейровирулентности для мышей [21]. А. Goto и соавт. наблюдали потерю нейроинвазивности мутанта A483G по сравнению с родительским штаммом *Oshima 5-10* (ВКЭ-ДВ) у мышей. Эта замена расположена в якорном домене белка E [21].

Аминокислотные замены в белке NS5 могут оказывать влияние на нейровирулентность штаммов ВКЭ не только за счёт изменения эффективности репликации вирусной РНК или ингибирования продукции ин-

терферона, но и за счёт взаимодействия с некоторыми клеточными белками, что может приводить к изменению патогенных свойств вируса. Г.Н. Леонова и соавт. показали важность некоторых ключевых замен (S634T, R677K, I692V и A724S) в РНК-зависимом домене РНК-полимеразы (RdRp) белка NS5, которые могут влиять на патогенность штаммов ВКЭ-ДВ [28, 29]. Замена A724S локализована в мотиве E РНК-зависимой полимеразы, рядом с важным функциональным доменом, ответственным за связывание ионов цинка ( $Zn^{2+}$ ), тогда как остальные три замены – S634T, R677K и I692V – консервативны [28, 29]. У всех штаммов ВКЭ-Евр, взятых нами в анализ, в позиции 634 белка NS5 находится остаток аланина, за исключением штамма *Skrievanek* из Чешской Республики, у которого в этой позиции он заменён на остаток треонина, как и у штаммов ВКЭ-ДВ, изолированных от людей с субклиническим течением заболевания. В позиции 692 белка NS5 у 10 из 14 исследованных штаммов ВКЭ-Евр находится остаток изолейцина, как и у штаммов ВКЭ-ДВ, изолированных от людей с тяжёлым течением заболевания, а у штаммов *Ljubljana-1*, *Petracova* и *Tobrman* остаток изолейцина заменён на остаток треонина, в то время как у штамма *Vlasaty* он заменён на остаток серина. Эти замены локализованы в области hmd белка NS5, формирующей матричный входной канал полимеразы ВКЭ. Р. Formanova и соавт. предположили, что эти замены могут быть ответственны за лучшее взаимодействие с транзакционными факторами репликации хозяина [15]. В позиции 724 белка NS5 у штаммов ВКЭ-Евр из Восточной Сибири (1G-98, 172-63, 214-67) находится остаток аланина, как у штаммов ВКЭ-ДВ, изолированных от людей с тяжёлым течением заболевания, а у штамма *Vlasaty* – остаток серина, как у штаммов ВКЭ-ДВ, изолированных от людей с субклиническим течением заболевания. У всех остальных штаммов ВКЭ-Евр от больных людей в этом положении находится остаток треонина.

Используя клоны штамма *Oshima* (ВКЭ-ДВ), D. Hayasaka и соавт. показали, что изменения аминокислотных остатков в позициях 378 (V378R/A) и 674 (R674K) влияют на нейровирулентность и нейроинвазивность вируса при заражении лабораторных мышей BALB/c [21]. A.R. Engel и соавт. оценили кандидатную вакцину на основе химерного аттенуированного вируса, содержащую гены структурных белков ВКЭ (штамм *Sofjin*, ВКЭ-ДВ), на примере химеры ВКЭ-вируса денге (ВКЭ/DEN4). Эта молекулярная конструкция показала высокий уровень нейровирулентности как для мышей, так и для обезьян. Введение, с одной стороны, мутации в белке E (315) или мутаций в белке NS5 (654, 655), а с другой стороны, обеих мутаций в белках E (315) и NS5 (654, 655), приводило к ступенчатому ослаблению вируса как *in vitro*, так и *in vivo* с низким, умеренным и высоким уровнем аттенуации соответственно [21].

За исключением белков E и NS5, роль структурных и неструктурных белков во взаимодействиях «вирус – хозяин» мало изучена, и доступно лишь малое количество данных, в основном полученных на штаммах ВКЭ-ДВ. Г.Н. Леонова и соавт. выявили связь делеции аминокислотного остатка в позиции 111 капсидного белка С

с тремя ключевыми аминокислотными заменами, потенциально влияющими на патогенез у некоторых штаммов ВКЭ-ДВ [29]. При введении определённых делеций и аминокислотных замен в белок С может нарушаться сборка инфекционных частиц [21]. Некоторые точечные мутации, расположенные в положениях 45 и 46 протеазы NS3, могут оказывать влияние на процесс отпочкования вирусных частиц и приводить к снижению нейроинвазивности вируса для лабораторных мышей [28, 29]. Более того, мутации, картированные в непосредственной близости от активного сайта сериновой протеазы NS2B-NS3, могут определять нейропатогенность ВКЭ [21]. Мутации в белке NS1 связаны с хроническим прогрессированием заболевания в случаях инфекции, вызванной ВКЭ-Сиб [21].

Неструктурный белок NS4B является крупнейшим из небольших гидрофобных белков вируса и содержит 252 аминокислоты и 5 гидрофобных областей с четырьмя трансмембранными доменами. Он взаимодействует с хеликазным доменом NS3 и может служить антагонистом интерферона [21]. С.И. Беликовым и соавт. показано, что штаммы ВКЭ-ДВ, изолированные от людей с тяжёлыми формами КЭ, имеют три ключевые замены в белке NS4B, две из которых, M95V и V179A, расположены в трансмембранных доменах 2 и 3, а замена A213V локализована в гидрофильной области, между трансмембранными доменами 3 и 4 [28]. У штаммов ВКЭ-Евр, изолированных от больных людей, в позиции 95 находится остаток метионина, как у штаммов ВКЭ-ДВ, выделенных от людей с тяжёлыми формами КЭ. Исключением из этого правила является штамм *Ljubljana-1*, у которого в этой позиции находится остаток валина, как у штаммов ВКЭ-ДВ, изолированных от людей с субклиническими формами КЭ. Ключевая замена A213V была выявлена только у высокопатогенного штамма 93/783 ВКЭ-Евр, в то время как у всех остальных штаммов ВКЭ-Евр от больных людей в этой позиции находился остаток аланина, как у штаммов ВКЭ-ДВ, изолированных от людей с тяжёлыми формами КЭ.

Геномные детерминанты, потенциально ассоциированные с энцефалитическими и геморрагическими проявлениями заболевания и выявленные у некоторых патогенных для человека клещевых флавивирусов, которые были описаны в работе А.Н. Бондарюка и соавт., у штаммов ВКЭ-Евр, изолированных от больных КЭ людей, нами не обнаружены [30].

3'-нетранслируемая область генома (3'-UTR) ВКЭ содержит несколько консервативных структурных ствольных петель, которые важны для процессов репликации, инициации трансляции и упаковки вируса [21]. В 3'-UTR ВКЭ выделяют 5'-концевую вариабельную область, гетерогенную как по длине, так и по последовательности, необходимую для репликации генома вируса и 3'-высококонсервативный коровый элемент [21]. Вариабельная область 3'-UTR считается важной для естественного цикла передачи ВКЭ, но, по-видимому, не участвует в репликации вируса и не влияет на вирулентность [21]. Последовательность и длина вариабельной области у разных штаммов ВКЭ различаются, при этом некоторые штаммы содержат в этой области поли(А)-тракт. Делеции в последовательности ва-

риабельной области генома были выявлены у штаммов ВКЭ трёх основных субтипов. Эти штаммы были либо выделены от позвоночных животных и клещей и пассированы в культуре клеток млекопитающих, либо выделены из клинических образцов [15, 28, 29]. Однако положение и размер этих делеций не консервативны и варьируются в зависимости от штамма. С.И. Беликов с соавт. описали варианты ВКЭ-ДВ с обширными делециями, охватывающими почти всю 3'-UTR, выделенными от пациентов, которые вызывали либо субклиническую инфекцию, либо тяжёлое течение заболевания [28]. Самая длинная делеция в 3'-UTR была обнаружена у штаммов, принадлежащих к кластеру штаммов ВКЭ-ДВ, вызывающих субклиническую форму заболевания. Эта закономерность предполагает, что обширная делеция может значительно снизить патогенность вируса. Исходя из этого, авторы предположили, что расширенная делеция, если она не затрагивает консервативную концевую часть 3'-UTR (325 нуклеотидов), оказывает умеренное влияние на патогенность [28]. Однако в отношении делеций в 3'-UTR для ВКЭ-Евр наблюдались противоречивые результаты. Некоторые делеции, введённые в 3'-UTR штамма *Neudoerfl*, вызывали сильное ослабление вирулентности на мышинной модели [21], в то время как присутствие протяжённой делеции в 3'-UTR у штамма *Huyn* было ассоциировано с высокой вирулентностью [21]. Механизм возникновения делеций, а также их значение в эволюции вирусной популяции пока остаются неясными и требуют дополнительных исследований. Кроме того, некоторые штаммы ВКЭ-Евр содержат поли(А)-тракт, расположенный в вариабельной области 3'-UTR, который, по-видимому, влияет на вирулентность штаммов для лабораторных мышей [21]. Более поздние исследования также показали, что как длина вариабельной области, так и наличие поли(А)-тракта могут модулировать вирулентность штаммов ВКЭ-ДВ [21]. N. Ashgar с соавт. показали, что штаммы с длинным поли(А)-трактом были ослаблены в культуре клеток, но более вирулентны при инокуляции лабораторным мышам [21].

В ходе нашего исследования установлено, что у штамма 1G-98 имеется протяжённая делеция в вариабельной части 3'-некодирующей области генома, длина которой сопоставима с таковой у штамма *Huyn* (235 нуклеотидов). Оба штамма являются высоковирулентными для лабораторных мышей. Более протяжённые делеции выявлены у штаммов *Kubinova* (351) и *Vlasaty* (318) из Чехословакии. У штамма *Kubinova* также имеются небольшие делеции в консервативной части 3'-некодирующей области генома. Поли(А)-тракт в 3'-UTR у штаммов ВКЭ-Евр, изолированных от больных КЭ людей, не обнаружен.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе данной работы получена полногеномная характеристика штаммов ВКЭ-Евр, изолированных от больных людей на территории Иркутской области. Впервые проведён сравнительный анализ штаммов ВКЭ-Евр, выделенных от пациентов с КЭ из Восточной Сибири и из Вос-

точной и Северной Европы. Показано, что по кодирующей области генома уровень сходства штаммов ВКЭ-Евр из Восточной Сибири не превышает установленный ранее максимальный для данного субтипа уровень различий в 3,1 %. Установлено, что штамм 1G-98, выделенный из крови больного КЭ из Иркутской области, является высоковирулентным. При заражении лабораторных мышей он характеризуется высокими показателями церебральной и периферической активности. Поиск детерминант вирулентности выявил у штамма 1G-98 мутацию D67G в домене DII белка E, которая может быть потенциально ассоциирована с вирулентностью, а также штамм имеет протяжённую делецию в вариабельной части 3'-некодирующей области генома, сопоставимую по длине с высоковирулентным штаммом *Huyn* из Европы.

## Финансирование

Исследование выполнено в рамках гос. задания № 1021060107125-0 и Программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Current ICTV Taxonomy Release*. URL: <https://ictv.global/taxonomy> [date of access: 01.07.2024]
2. Савинова Ю.С. Европейский субтип вируса клещевого энцефалита. Обзор литературы. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 100-113. [Savinova YuS. European subtype of tick-borne encephalitis virus. Literature review. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 100-113. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.9
3. Fares W, Dachraoui K, Cherni S, Barhoumi W, Slimane TB, Younsi H, et al. Tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) ticks, Tunisia. *Ticks Tick Borne Dis*. 2021; 12(1): 101606. doi: 10.1016/j.ttbdis.2020.101606
4. Демина Т.В., Джигоев Ю.П., Козлова И.В., Верхозина М.М., Ткачев С.Е., Дорощенко Е.К., и др. Генотипы 4 и 5 вируса клещевого энцефалита: особенности структуры геномов и возможный сценарий их формирования. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57(4): 13-18. [Demina TV, Dzhigoev YP, Kozlova IV, Verkhovina MM, Tkachev SE, Doroshchenko EK, et al. Genotypes 4 and 5 of the tick-borne encephalitis virus: Features of the genome structure and possible scenario for its formation. *Problems of Virology*. 2012; 57(4): 13-18. (In Russ.)].
5. Козлова И.В., Демина Т.В., Ткачев С.Е., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Верхозина М.М., и др. Характеристика байкальского субтипа вируса клещевого энцефалита, циркулирующего на территории Восточной Сибири. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(4): 53-60. [Kozlova IV, Demina TV, Tkachev SE, Doroshchenko EK, Lisak OV, Verkhovina MM, et al. Characteristics of the Baikal subtype of tick-borne encephalitis virus circulating in Eastern Siberia. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(4): 53-60. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2018-3.4.9
6. Dai X, Shang G, Lu S, Yang J, Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau,

- China. *Emerg Microbes Infect.* 2018; 7(1): 74. doi: 10.1038/s41426-018-0081-6
7. Верхозина М.М., Козлова И.В., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Демина Т.В., Ткачев С.Е., и др. Распространение генотипов вируса клещевого энцефалита в различных типах ландшафтов Сибири. *Acta biomedica scientifica.* 2017; 2(5(1)): 69-75. [Verkhovina MM, Kozlova IV, Doroshchenko EK, Lisak OV, Demina TV, et al. Distribution of tick-borne encephalitis virus genotypes in various types of landscapes of Siberia. *Acta biomedica scientifica.* 2017; 2(5(1)): 69-75. (In Russ.)]. doi: 10.12737/article\_59e8bd10164039.21079786
  8. Ruzek D, Avšič Županc T, Borde J, Chrdele A, Eyer L, Karganova G, et al. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral Res.* 2019; 164: 23-51. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.01.014
  9. Borde JP, Zajkowska J. Chapter 5: Tick-borne encephalitis in adults. In: *TBE in adults.* Ed by G Dobler, HJ Schmitt, W Erber. Global Health Press Pte Limited, 2018: 70-84.
  10. Аитов К.А., Бурданова Т.М., Верхозина М.М., Демина Т.В., Джиев Ю.П., Козлова И.В., и др. Клещевой энцефалит в Восточной Сибири: этиология, молекулярная эпидемиология, особенности клинического течения. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2018; 7(3): 31-40. [Aitov KA, Burdanova TM, Verkhovina MM, Demina TV, Dzhioev YuP, Kozlova IV, et al. Tick-borne encephalitis in Eastern Siberia: Etiology, molecular epidemiology, and peculiarities of the clinical course. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training.* 2018; 7(3): 31-40. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2305-3496-2018-13005
  11. Demina TV, Tkachev SE, Kozlova IV, Doroshchenko EK, Lisak OV, Sunstova OV, et al. Comparative analysis of complete genome sequences of European subtype tick-borne encephalitis virus strains isolated from *Ixode persulcatus* ticks, long-tailed ground squirrel (*Spermophilus undulatus*), and human blood in the Asian part of Russia. *Ticks and Tick-borne Diseases.* 2017; 8(4): 547-553. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.03.002
  12. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.* 2013; 30(12): 2725-2729. doi: 10.1093/molbev/mst197
  13. Drummond AJ, Nicholls GK, Rodrigo AG, Solomon W. Estimating mutation parameters, population history and genealogy simultaneously from temporally spaced sequence data. *Genetics.* 2002; 161(3): 1307-1320. doi: 10.1093/genetics/161.3.1307
  14. Drummond AJ, Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol.* 2007; 7: 214-221. doi: 10.1186/1471-2148-7-214
  15. Formanová P, Černý J, Bolfiková BČ, Valdés JJ, Kozlova I, Dzhioev Y, et al. Full genome sequences and molecular characterization of tick-borne encephalitis virus strains isolated from human patients. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015; 6(1): 38-46. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.09.002
  16. *RCSB Protein Data Bank.* URL: <https://www.rcsb.org/> [date of access: 01.07.2024]
  17. Kelley LA, Sternberg MJ. Protein structure prediction on the Web: A case study using the Phyre server. *Nat Protoc.* 2009; 4(3): 363-371. doi: 10.1038/nprot.2009.2
  18. Akey DL, Brown WC, Dutta S, Konwerski J, Jose J, Jurkiw TJ, et al. Flavivirus NS1 structures reveal surfaces for associations with membranes and the immune system. *Science.* 2014; 343(6173): 881-885. doi: 10.1126/science.1247749
  19. Luo D, Xu T, Hunke C, Grüber G, Vasudevan SG, Lescar J. Crystal structure of the NS3 protease-helicase from dengue virus. *J Virol.* 2008; 82(1): 173-183. doi: 10.1128/JVI.01788-07
  20. Lu G, Gong P. Crystal structure of the full-length Japanese encephalitis virus NS5 reveals a conserved methyltransferase-polymerase interface. *PLoS Pathog.* 2013; 9(8): e1003549. doi: 10.1371/journal.ppat.1003549
  21. Velay A, Paz M, Cesbron M, Gantner P, Solis M, Soulier E, et al. Tick-borne encephalitis virus: Molecular determinants of neuropathogenesis of an emerging pathogen. *Crit Rev Microbiol.* 2019; 45(4): 472-493. doi: 10.1080/1040841X.2019.1629872
  22. Kozlovskaya LI, Osolodkin DI, Shevtsova AS, Romanova LI, Rogova YV, Dzhivaniyan TI, et al. GAG-binding variants of tick-borne encephalitis virus. *Virology.* 2010; 398(2): 262-272. doi: 10.1016/j.virol.2009.12.012
  23. Lindquist R, Rosendal E, Weber E, Asghar N, Schreier S, Lenman A, et al. The envelope protein of tick-borne encephalitis virus influences neuron entry, pathogenicity, and vaccine protection. *J Neuroinflammation.* 2020; 17(1): 284. doi: 10.1186/s12974-020-01943-w
  24. Kellman EM, Offerdahl DK, Melik W, Bloom ME. Viral determinants of virulence in tick-borne flaviviruses. *Viruses.* 2018; 10(6): 329. doi: 10.3390/v10060329
  25. Jiang WR, Lowe A, Higgs S, Reid H, Gould EA. Single amino acid codon changes detected in Louping ill virus antibody-resistant mutants with reduced neurovirulence. *J Gen Virol.* 1993; 74(5): 931-935. doi: 10.1099/0022-1317-74-5-931
  26. Демина Т.В., Козлова И.В., Ткачев С.Е., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Савинова Е.С., и др. Определение и сравнительный анализ геномной структуры сибирских штаммов вируса клещевого энцефалита Европейского субтипа. *Вопросы вирусологии.* 2018; 63(1): 29-36. [Demina TV, Kozlova IV, Tkachev SE, Doroshchenko EK, Lisak OV, Savinova ES, et al. Determination and comparative analysis of the genomic structure of Siberian strains of tick-borne encephalitis virus of the European subtype. *Problems of Virology.* 2018; 63(1): 29-36. (In Russ.)]. doi: 10.18821/0507-4088-2018-63-1-29-36
  27. Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Кулакова Н.В., Тунгалог К., Арбатская Е.В., Миронова Л.В., и др. Генетическая характеристика возбудителя клещевого энцефалита в Монголии. *Вопросы вирусологии.* 2010; 55(3): 27-32. [Khasnatinov MA, Danchinova GA, Kulakova NV, Tungalag K, Arbatskaya EV, Mironova LV, et al. Genetic characteristics of the causative agent of tick-borne encephalitis in Mongolia. *Problems of Virology.* 2010; 55(3): 27-32. (In Russ.)].
  28. Belikov SI, Kondratov IG, Potapova UV, Leonova GN. The relationship between the structure of the tick-borne encephalitis virus strains and their pathogenic properties. *PLoS One.* 2014; 9(4): e94946. doi: 10.1371/journal.pone.0094946
  29. Leonova GN, Belikov SI, Kondratov IG, Takashima I. Comprehensive assessment of the genetics and virulence of tick-borne encephalitis virus strains isolated from patients with inapparent and clinical forms of the infection in the Russian Far East. *Virology.* 2013; 443(1): 89-98. doi: 10.1016/j.virol.2013.04.029
  30. Bondaryuk AN, Kulakova NV, Potapova UV, Belykh OI, Yudincaeva AV, Bukin YS. Genomic determinants potentially associated with clinical manifestations of human-pathogenic tick-borne flaviviruses. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(21): 13404. doi: 10.3390/ijms232113404

**Сведения об авторах**

**Козлова Ирина Валерьевна** – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: diwerhoz@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6324-8746>

**Сунцова Ольга Владимировна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: olga\_syntsova@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4057-2890>

**Ткачев Сергей Евгеньевич** – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, руководитель научно-исследовательской лаборатории «Молекулярная вирусология», Институт фундаментальной медицины и биологии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: sergey.e.tkachev@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7767-380X>

**Парамонов Алексей Игоревич** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: Paramonov\_a.i@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7156-4036>

**Дорощенко Елена Константиновна** – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8209-616X>

**Лисак Оксана Васильевна** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lisak.liza@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3909-7551>

**Охотина Юлия Сергеевна** – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: vipersona2389@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

**Information about the authors**

**Irina V. Kozlova** – Dr. Sc. (Med.), Head at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: diwerhoz@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6324-8746>

**Olga V. Suntsova** – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: olga\_syntsova@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4057-2890>

**Sergey E. Tkachev** – Senior Research Officer, Head of Research Laboratory “Molecular Virology”, Associate Professor of the Department of Genetics, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: sergey.e.tkachev@gmail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7767-380X>

**Aleksei I. Paramonov** – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: paramonov\_a.i@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7156-4036>

**Elena K. Doroshchenko** – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8209-616X>

**Oksana V. Lisak** – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lisak.liza@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3909-7551>

**Julia S. Okhotina** – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: vipersona2389@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8183-1233>

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОГО АНТИСЕПТИКА «АНОЛИТ» В ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Стяжкина С.Н.<sup>1</sup>,  
Куклин Д.Н.<sup>2</sup>,  
Тихонова В.В.<sup>1</sup>,  
Гущин С.Г.<sup>1</sup>,  
Бажина Ю.С.<sup>1</sup>,  
Гайнетдинова И.И.<sup>1</sup>,  
Тулынин С.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (426056, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281, Россия)

<sup>2</sup> БУЗ УР «Первая республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Удмуртской Республики» (426039, г. Ижевск, ш. Воткинское, 57, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Стяжкина Светлана Николаевна,  
e-mail: interestent.4@gmail.com

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Резистентность к противомикробным препаратам является одной из самых серьезных угроз для современной клинической медицины. Вопреки значительным успехам современной фармакологии, продолжают поиски эффективных антисептиков, позволяющих влиять на раневые процессы.

В нашем исследовании было проведено экспериментальное изучение воздействия раствора «Анолит» на патогенные микроорганизмы *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus mirabilis*.

**Цель исследования.** Оценка противомикробной активности отечественного антисептика «Анолит» в отношении грамотрицательных возбудителей внутрибольничных инфекций на примере *P. aeruginosa* и *P. mirabilis*.

**Методы.** Для оценки качества влияния «Анолита» на изучаемые колонии микроорганизмов экспериментальные исследования были выполнены *in vitro*. Бактериологическое исследование проводилось в три этапа с использованием метода Коха.

**Результаты.** «Анолит» – современное антисептическое средство с выраженным антимикробным эффектом, основанное на электролизе водных растворов. Его способность лизировать патогенные микроорганизмы (*P. aeruginosa* и *P. mirabilis*) подтверждена экспериментальным исследованием.

**Заключение.** Показано бактерицидное действие «Анолита» на рост представленных грамотрицательных бактерий, доказывающее его высокую антимикробную эффективность.

**Ключевые слова:** «Анолит», антимикробные свойства, возбудители внутрибольничной инфекции, грамотрицательные патогенные микроорганизмы

Статья поступила: 17.02.2023

Статья принята: 15.10.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Стяжкина С.Н., Куклин Д.Н., Тихонова В.В., Гущин С.Г., Бажина Ю.С., Гайнетдинова И.И., Тулынин С.Б. Экспериментальное подтверждение бактерицидного действия отечественного антисептика «Анолит» в хирургической практике. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 135-141. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.14

## EXPERIMENTAL CONFIRMATION OF THE BACTERICIDAL ACTION OF THE DOMESTIC ANTISEPTIC "ANOLIT" IN SURGICAL PRACTICE

Styazhkina S.N.<sup>1</sup>,  
Kuklin D.N.<sup>2</sup>,  
Tikhonova V.V.<sup>1</sup>,  
Gushchin S.G.<sup>1</sup>,  
Bazhina Y.S.<sup>1</sup>,  
Gaynetdinova I.I.<sup>1</sup>,  
Tulynin S.B.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Izhevsk State Medical Academy  
(Kommunarov str., 281, Izhevsk 426056,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> First Republican Clinical Hospital  
of the Ministry of Health  
of the Udmurt Republic  
(Votkinskoe Highway, 57, Izhevsk 426039,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
Svetlana N. Styazhkina,  
e-mail: interessent.4@gmail.com

### ABSTRACT

**Background.** Antimicrobial resistance is one of the most serious threats to modern clinical medicine. Despite the significant successes of modern pharmacology, the search for effective antiseptics that can influence wound processes continues. In our study, an experimental study of the effect of Anolit solution on pathogenic microorganisms *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis* was conducted.

**The aim.** To evaluate the antimicrobial activity of the domestic antiseptic "Anolit" against gram-negative pathogens of nosocomial infections using the example of *P. aeruginosa* and *P. mirabilis*.

**Methods.** To assess the quality of the effect of "Anolit" on the studied colonies of microorganisms, experimental studies were performed in vitro. The bacteriological study was carried out in three stages using the Koch method.

**Results.** "Anolit" is a modern antiseptic agent with a pronounced antimicrobial effect based on the electrolysis of aqueous solutions. Its ability to lyse pathogenic microorganisms (*P. aeruginosa* and *P. mirabilis*) has been confirmed by experimental research.

**Conclusion.** The bactericidal effect of "Anolit" on the growth of gram-negative bacteria is shown, proving its high antimicrobial efficacy.

**Key words:** "Anolit", antimicrobial properties, pathogens of nosocomial infection, gram-negative pathogens

Received: 17.02.2023  
Accepted: 15.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Styazhkina S.N., Kuklin D.N., Tikhonova V.V., Gushchin S.G., Bazhina Y.S., Gaynetdinova I.I., Tulynin S.B. Experimental confirmation of the bactericidal action of the domestic antiseptic "Anolit" in surgical practice. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 135-141. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.14

## ВВЕДЕНИЕ

Внутрибольничные инфекции (ВБИ) определяются как инфекции, которые выявляются через 48 часов после поступления пациентов в лечебные учреждения. ВБИ также являются важными проблемами общественного здравоохранения, как в России, так и в зарубежных странах [1]. Наиболее частыми типами внутрибольничных инфекций являются инфекции мочевыводящих путей, раневая инфекция и гнойно-септические осложнения [1, 2]. Распространёнными нозокомиальными (госпитальными) патогенами являются *Staphylococcus aureus*, коагулазонегативные стафилококки (*Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus saprophyticus*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp. и *Acinetobacter* spp. [2–4]. В результате широкого применения противомикробных препаратов внутрибольничные патогены сместились от легко поддающихся лечению бактерий к более устойчивым. Это изменение является важной проблемой для контроля и профилактики внутрибольничных инфекций. В клиниках обычно используются антибиотики широкого спектра действия, и данные о резистентности к антибиотикам ограничены [5].

Во всём мире в последние несколько лет замечена тенденция к повышению резистентности возбудителей внутрибольничных инфекций. Обусловлено это, прежде всего, тем, что среди почвенных бактерий выявлено большое разнообразие продуцентов антибиотиков. Помимо этого, у патогенных штаммов наблюдается высокая резистентность к антибиотикам и дезинфицирующим веществам, особенно у *P. aeruginosa*, в связи с чем они могут выделяться с рук медицинского персонала и контаминировать медицинский инструментарий, оборудование, что увеличивает риск попадания микроорганизмов на раневые поверхности [5].

В связи с увеличенной вероятностью заражения, становится необходимым осуществлять тщательный подбор антисептических средств, которые полностью соответствуют определённым критериям. К критериям относятся: способность обеспечивать широкий спектр дезинфицирующего действия на микроорганизмы, эффективное очищение и отсутствие вредного воздействия на поверхности.

Разработка препаратов, отвечающих вышеперечисленным требованиям, была предложена в 2008 г. В.М. Бахиром, с помощью электрохимического синтеза хлорида натрия [6].

Униполярная электрохимическая активация жидкости основана на реакциях электролиза. При получении чистого готового продукта электролиз концентрированных растворов прекращается, а слабые (до 5 г/л) водные растворы солей или обычную питьевую воду, которая в своём составе содержит до 1 г/л различных солей, подвергают электрохимической активации. Целью данного способа является превращение жидкости в её активированное состояние [7–9].

«Анолит» – это уникальный водный раствор, полученный путём разведения раствора натрия хлори-

да и прохождения через электрохимический реактор. В результате этого процесса образуются хлоркислородные и гидропероксидные оксиданты, которые обладают высокой эффективностью и уникальными свойствами [8, 10].

«Анолит» является универсальным средством с широким спектром противомикробной активности, которое используют для лечения инфицированных ран, ожогов, профилактики раневой инфекции; дезинфекции, предстерилизационной очистки, стерилизации медицинского инструментария; дезинфекции воды в плавательных бассейнах, в системах хозяйственно-питьевого водоснабжения; в производстве молочной, мясной, рыбной продукции; в сельском и коммунальном хозяйстве. Однако и для него недостаточно сведений об активности в отношении возбудителей внутрибольничной инфекции, либо они противоречивы. На сегодняшний день в Удмуртии налажено производство «Аналита» под руководством В.Г. Широсова. Совместно с ним проводятся исследования и регистрируются патенты [11].

Синегнойная палочка (*P. aeruginosa*) – это грамотрицательная аэробная бактерия, которая является одним из наиболее важных возбудителей оппортунистических инфекций. Эта бактерия обладает высокой устойчивостью ко многим антибиотикам и может вызывать серьёзные заболевания. Данный возбудитель удивляет разнообразием вызываемой патологии: от интоксикации до гнойно-воспалительных заболеваний, включая сепсис и септический шок.

Синегнойная палочка достаточно редко обнаруживается в микрофлоре у здорового человека. Однако у пациентов, находящихся на стационарном лечении, повышается вероятность носительства. Любые предметы обихода могут являться источником *P. aeruginosa* по истечении 24 часов после дезинфекции, особенно такие поверхности, как умывальные раковины, водопроводные краны, покрытые дезинфицирующими средствами поверхности.

Разнообразие заболеваний, вызываемых бактерией *Pseudomonas*, является особым риском из-за возросшей устойчивости к антибиотикам, что наблюдается в последнее время в больницах, особенно в хирургических отделениях, где возникают серьёзные проблемы при лечении гнойных заболеваний и осложнений после операции, вызванных гноеродными микробами. Частое необоснованное использование антибиотиков привело к появлению штаммов, устойчивых к ним [12].

Протей (*P. mirabilis*) – условно-патогенная грамотрицательная факультативно-анаэробная бактерия семейства *Enterobacteriaceae*, является возбудителем оппортунистических и госпитальных инфекций. Обладает высокой устойчивостью к различным антибактериальным средствам и дезинфицирующим растворам.

В природе бактерии рода *Proteus* встречаются в сточных водах, в воде открытых водоёмов, на овощах, в почве, в разлагающихся органических веществах. Протей способен повреждать кожу, слизистые оболочки, респираторный тракт, верхний и нижний мочеполовой тракт, ожоговые поверхности и раны.

Попадая в организм с пищевыми продуктами, *P. mirabilis* может вызвать пищевые токсикоинфекции. В случае попадания через раневую или ожоговую поверхность, она способна вызвать гнойно-воспалительные процессы, которые могут привести к сепсису [13].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка противомикробной активности отечественного антисептика «Анолит» в отношении грамотрицательных возбудителей внутрибольничных инфекций на примере *P. aeruginosa* и *P. mirabilis*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведённые бактериологические эксперименты были выполнены *in vitro*. Опытными образцами для изучения взяты колонии патогенной бактериальной флоры: *P. aeruginosa* и *P. mirabilis*; антисептическое средство «Анолит»; раствор натрия хлорида (NaCl 0,9%); питательные среды; термостат.

Эксперимент проводился в условиях стерильного бокса.

В исследование включено 30 изолятов *P. aeruginosa* и 20 изолятов *P. mirabilis*, полученных из мокроты. Эксперимент проводился в двух повторностях. Для выделения использовался культуральный метод, для идентификации – технология MALDI-TOF спектрометрии на масс-спектрометре Vitek® MS («bioMerieux SA», Франция).

### I этап

Микроорганизмы *P. aeruginosa* и *P. mirabilis* были инокулированы на мясопептонный агар в питательных средах чашек Петри. Инкубация проводилась в термостате на протяжении 20–24 часов при установленной температуре 37 °С.

После инкубации были проведены наблюдения за ростом и характеристиками колоний каждого микроорганизма. Для идентификации были использованы микробиологические методы – морфологические и биохимические тесты.

**ТАБЛИЦА 1**  
**АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ «АНОЛИТА»**  
**В ОТНОШЕНИИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ**  
***P. AERUGINOSA* И *P. MIRABILIS***

Время действия (часы)	<i>P. aeruginosa</i> (n = 30)		<i>P. mirabilis</i> (n = 20)	
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
1	0	Сплошной рост	0	Сплошной рост
24	0	Сплошной рост	0	Сплошной рост

Примечания. 0 – роста нет.

### II этап

1. Микробная взвесь по стандарту мутности 10 ЕД изготавливалась из полученных в первом этапе культур (*P. aeruginosa*, *P. mirabilis*). Уровень мутности 10 ЕД соответствовал содержанию  $8,5 \times 10^8$  КОЕ/мл для микробов кишечной группы;  $1,0 \times 10^{10}$  КОЕ/мл для микробов кожной группы в питательной среде.

2. Для оценки антимикробной активности исследуемого раствора с учётом стандарта мутности использовался метод последовательных (поэтапных) разведений суспензии клеток в физиологическом растворе до концентрации  $10^4$  КОЕ/мл, за которым следовало высевание клеток для количественного подсчёта на питательные среды по методу Коха.

3. Смешивали 1 мл рабочего разведения с 1 мл «Анолита», разбавленного в 10 раз раствором 0,9%-го хлорида натрия, и ставили в термостат на 1 час и на 24 часа.

4. После первой инкубации (60 минут) производили посев на питательные среды. Для этого раствор рабочего разведения с добавлением «Анолита» объёмом 0,1 мл высевали на мясопептонный агар и равномерно распределяли шпателем, после чего помещали в термостат на 24 часа. Далее производили те же действия с рабочим разведением микробной взвеси каждого тестируемого штамма в объёме 0,1 мл без добавления «Анолита» (контроль). Через 24 часа опыт повторили с использованием того же метода.

### III этап

На данном этапе производился учёт полученных результатов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бактерицидное действие «Анолита» было подтверждено результатами всех опытов, проведённых с добавлением этого препарата к рабочему разведению. Во всех случаях наблюдалась полная гибель клеток бактерий (табл. 1, рис. 1, 2).

«Анолит» – это инновационное антисептическое средство, обладающее выраженными антимикробными свойствами. Его действие основано на использова-

**TABLE 1**  
**ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF “ANOLIT” AGAINST**  
**CLINICAL STRAINS OF *P. AERUGINOSA* AND *P. MIRABILIS***



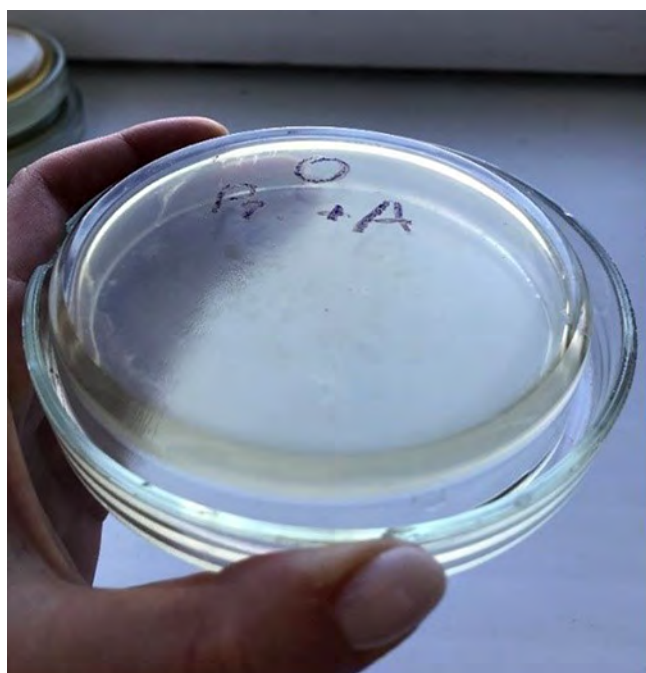
**а**

**РИС. 1.**  
 Антибактериальное действие «Анолита» на *P. aeruginosa* через 60 минут: **а** – опытная проба (микроорганизмы + «Анолит»); **б** – контрольная проба (микроорганизмы + 0,9%-й раствор хлорида натрия)



**б**

**FIG. 1.**  
 Antibacterial effect of “Anolit” on *P. aeruginosa* in 60 minutes: **a** – test sample (microorganisms + “Anolit”); **b** – control sample (microorganisms + 0.9% NaCl)



**а**

**РИС. 2.**  
 Антибактериальное воздействие «Анолита» на *P. mirabilis* через 60 минут: **а** – микроорганизмы + «Анолит»; **б** – микроорганизмы + 0,9%-й раствор хлорида натрия



**б**

**FIG. 2.**  
 Antibacterial effect of “Anolit” on *P. mirabilis* in 60 minutes: **a** – test sample (microorganisms + “Anolit”); **b** – control sample (microorganisms + 0.9% NaCl)

нии электролиза воды, что позволяет получить эффективное бактерицидное раствор, способное уничтожать патогенные микроорганизмы [14].

Клинические исследования показали, что применение «Анолита» способствует быстрому заживлению ран,

снижению воспаления и боли, а также предотвращению развития осложнений. Благодаря своей безопасности и эффективности, этот препарат с успехом используется в лечении самых разнообразных гнойных инфекций, в том числе и при ожогах [15–17].

Важно отметить, что «Анолит» не вызывает резистентности микроорганизмов, что делает его идеальным выбором для длительного применения. Благодаря его уникальным свойствам, рекомендовано его применение в случаях тяжёлых вирулентных раневых инфекций для ускорения процесса выздоровления [18].

Таким образом, «Анолит» является незаменимым инструментом в борьбе с гнойными инфекциями, ожогами и другими состояниями, требующими быстрого и эффективного лечения. Его применение позволяет не только улучшить состояние пациента, но и сократить время заживления гнойных ран, что делает его важным компонентом современной клинической практики [19].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведённого исследования было выявлено отсутствие роста микроорганизмов во всех экспериментальных образцах при введении в чашки Петри раствора «Анолит», чего не наблюдалось в контрольных образцах. «Анолит» обладает бактерицидным эффектом для лечения наиболее устойчивых и вирулентных патогенных микроорганизмов, таких как *P. aeruginosa* и *P. mirabilis*, в клинической практике.

Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение механизмов действия «Анолита» на бактерии, а также оптимизацию его использования для достижения максимальной эффективности. Эти данные откроют перспективы для разработки новых методов асептики и антисептики в борьбе с инфекциями, что может привести к улучшению здоровья и качества жизни пациентов.

### Финансирование

Исследование проведено без спонсорской поддержки.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Крамарь О.Г., Савченко Т.Н. Внутрибольничные инфекции. *Вестник ВолГМУ*. 2010; 2(34): 3-8. [Kramar OG, Savchenko TN. Hospital infections. *Journal of Volgograd State Medical University*. 2010; 2(34): 3-8. (In Russ.)].
2. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Романова Н.И., Цирульникова О.М. Госпитальная микрофлора и биоплёнки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2012; 14(3): 83-91. [Gabrielyan NI, Gorskaya EM, Romanova NI, Tsiurulnikova OM. Nosocomial infection and microbial biofilms in surgery. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2012; 14(3): 83-91. (In Russ.)]. doi: 10.15825/1995-1191-2012-3-83-91
3. Граничная Н.В., Зайцева Е.А., Переломова О.В. Резистентность коагулазонегативных стафилококков, выделенных из различного биоматериала у пациентов кардиохирургического профиля. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2019; (2):

- 38-42. [Granichnaya NV, Zaytseva EA, Perelomova OV. Resistance of coagulase negative *Staphylococci* recovered from different biomaterials in cardiac patients. *Pacific Medical Journal*. 2019;(2):38-42. (In Russ.)]. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2019.2.28-42

4. Бабьяк А.С., Полина А.В. Резистентность микроорганизмов к противомикробным препаратам. *Международный студенческий научный вестник*. 2017; 6: 11. [Babyak AS, Polina AV. Resistance of microorganisms to antimicrobial preparations. *European Student Scientific Journal*. 2017; 6: 11. (In Russ.)].

5. Путилина А.Д., Коменкова Т.С., Зайцева Е.А. Современные представления о механизмах формирования резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2019; 21(10): 125-130. [Putilina AD, Kamenkova TS, Zaitseva EA. Microorganisms antibiotic resistance mechanisms – present view. *Medical & Pharmaceutical Journal "Pulse"*. 2019; 21(10): 125-130. (In Russ.)]. doi: 10.26787/nydha-2686-6838-2019-21-10-125-130

6. Бахир В.М., Шомовская Н.Ю. Анолит АНК нового поколения – уникальный антимикробный раствор. *Медицинский алфавит*. 2010; 3(14): 38-44. [Bakhir VM, Shumovskaya NYu. Anolit ANC of the new generation – a unique antimicrobial solution. *Medical Alphabet*. 2010; 3(14): 38-44. (In Russ.)].

7. Алексеевнина В.В., Лебедь А.А., Олифирова О.С. Электроактивированные растворы в лечении гнойной хирургической инфекции. *Практическая медицина*. 2013; 2(67): 152-155. [Alekseevnina VV, Lebedev AA, Olifirova OS. The electroactivated water solutions in the treatment of purulent surgical infection. *Practical Medicine*. 2013; 2(67): 152-155. (In Russ.)].

8. Куклин Д.Н., Стяжкина С.Н., Тихонова В.В., Кузьяев М.В., Гилимханова А.Р., Вахитова А.И. Влияние Анолита на антибиотикочувствительность патогенных микроорганизмов. *Modern Science*. 2021; 12-2: 79-84. [Kuklin DN, Styazhkina SN, Tikhonova VV, Kuzyaev MV, Gilimkhanova A R, Vakhitova AI. The effect of Anolit on the antibiotic sensitivity of pathogenic microorganisms. *Modern Science*. 2021; 12-2: 79-84. (In Russ.)].

9. Стяжкина С.Н., Куклин Д.Н., Иванова М.К. Действие анолита на патогенную микрофлору. Антибиотики и химиотерапия. 2022; 67(5-6): 10-13. [Styazhkina SN, Kuklin DN, Ivanova MK. The effect of Anolit solution on pathogenic microflora. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2022;67(5-6):10-13. (In Russ.)]. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-5-6-10-13

10. Прилуцкий В.И., Бахир В.М. *Электрохимически активированная вода: аномальные свойства, механизм биологического действия*. М.: ВНИИИМТ АО НПО «Экран», 1997. [Prilutskiy VI, Bakhir VM. *Electrochemically activated water: Abnormal properties, mechanism of biological action*. Moscow: VNIIMT AO NPO "Ekran" Publ., 1997. (In Russ.)].

11. Широносов В.Г. *Резонанс в физике, химии и биологии*. Ижевск: Издательский дом «Удмуртский университет», 2001. [Shironosov VG. *Resonance in physics, chemistry and biology*. Izhevsk: Udmurt University Publ., 2001. (In Russ.)].

12. Сиюхова Ф.Ш., Гриб С.И., Лисикян А.А. Исследование значения *Pseudomonas aeruginosa* в качестве возбудителя гнойно-воспалительных заболеваний и осложнений. *Проблемы теории и практики современной науки: Материалы VIII Международной научно-практической конференции. Сборник научных трудов*, 2017: 32-37. [Siyukhova FSh, Grib SI, Lisikyan AA. Investigation of the significance of *Pseudomonas aeruginosa* as a causative agent of purulent-inflammatory diseases

and complications. *Problemy teorii i praktiki sovremennoy nauki: Materialy VIII Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Sbornik nauchnykh trudov*, 2017: 32-37. (In Russ.).

13. Замалютдинова Н.М., Шарипова М.Р., Богомольная Л.М., Божокина Е.С., Марданова А.М. Особенности биосинтеза внеклеточной металлопротеиназы *Proteus mirabilis*. *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. 2015; 1: 27. [Zamalyutdinova NM, Sharipova MR, Bogomolnaya LM, Bozhokina ES, Mardanova AM. Features of biosynthesis of extracellular metalloproteinase *Proteus mirabilis*. *Izvestiya Rossiyskoy akademii nauk. Seriya biologicheskaya*. 2015; 1: 27. (In Russ.). doi: 10.7868/S0002332915010142

14. Широносков В.Г., Широносков Е.В., Опыты по бесконтактной электрохимической активации воды. *Сборник докладов II Международного симпозиума «Электрохимическая активация в медицине, сельском хозяйстве, промышленности»*. М.: ВНИИИМТ АО НПО «Экран», 1999; 1: 66-68. [Shironosov VG, Shironosov EV. Experiments on contactless electrochemical activation of water. *Sbornik dokladov II Mezhdunarodnogo simpoziuma "Elektrokhimicheskaya aktivatsiya v meditsine, sel'skom khozyaystve, promyshlennosti"*. Moscow: VNIIMT OOO NPO "Ekran", 1999; 1: 66-68. (In Russ.).

15. Девятков В.А., Петров С.В. Опыт применения активированной электрохирургическим методом воды-анолита в гнойной хирургии. *Материалы первого международного симпозиума «Электрохимическая активация»*. 1997: 86-87. [Devyatov VA, Petrov SV. Experience in the use of electrochemically activated Anolit water in purulent surgery. *Materialy pervogo mezhdunarodnogo simpoziuma "Elektrokhimicheskaya aktivatsiya"*. 1997: 86-87. (In Russ.).

16. Аминев В.А., Пылаева С.И., Куприянов В.А., Горюшинская Н.А. Применение растворов анолита, полученных

на установках СТЭЛ, при лечении ожогов у детей. *Материалы первого международного симпозиума «Электрохимическая активация»*. 1997: 101-103. [Aminev VA, Pylaeva SI, Kupriyanov VA, Gorodinskaya NA. The use of Anolit solutions obtained at STEL installations in the treatment of burns in children. *Materialy pervogo mezhdunarodnogo simpoziuma "Elektrokhimicheskaya aktivatsiya"*. 1997: 101-103. (In Russ.).

17. Чикаев В.Ф., Зулкарнеев Р.А., Анисимов А.Ю., Агаджанян С.И. Роль электрохимически активированного раствора в лечении гнойных ран в неотложной хирургии. *Материалы первого международного симпозиума «Электрохимическая активация»*. 1997: 84-85. [Chikaev VF, Zulkarneev RA, Anisimov AYU, Aghajanyan SI. The role of electrochemically activated solution in the treatment of purulent wounds in emergency surgery. *Materialy pervogo mezhdunarodnogo simpoziuma "Elektrokhimicheskaya aktivatsiya"*. 1997: 84-85. (In Russ.).

18. Gluhchev G, Ignatov I, Karadzhov S, Miloshev G, Ivanov N, Mosin O. Electrochemically activated water. Biophysical and biological effects of Anolit and catholyte types of water. *European Journal of Molecular Biotechnology*. 2015; 1(7): 12-26. doi: 10.13187/ejmb.2015.7.12

19. Антонов А.А., Антонов А.К., Антонов К.А., Антонов Ю.К., Горенков Р.В., Комаров Р.Н., и др. Сопроводительная терапия при хирургическом лечении патологических переломов длинных костей и застарелых переломов вертельной области. *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2022; 11(4): 600-609. [Antonov AA, Antonov AK, Antonov KA, Antonov YUK, Gorenkov RV, Komarov RN, et al. Accompanying therapy in the surgical treatment of pathological fractures of the long bones and chronic fractures of the trochanteric region. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2022; 11(4): 600-609. (In Russ.). doi: 10.23934/2223-9022-2022-11-4-600609

#### Сведения об авторах

**Стяжкина Светлана Николаевна** – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской хирургии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: sstazkina064@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5787-8269>

**Куклин Дмитрий Николаевич** – врач-уролог, БУЗ УР «Первая республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Удмуртской Республики», e-mail: interessent.4@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3265-3650>

**Тихонова Валентина Васильевна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: interessent.4@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4047-1371>

**Гущин Сергей Геннадьевич** – аспирант кафедры факультетской хирургии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: interessent.4@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-9943-4715>

**Бажина Юлия Сергеевна** – студентка лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: bzhina.y4@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3477-1447>

**Гайнетдинова Инна Ирековна** – студентка лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: gaynetdinovainna@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9226-9546>

**Тулынин Степан Борисович** – студент лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: stepan.tulynin@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-0859-4154>

#### Information about the authors

**Svetlana N. Styazhkina** – Dr. Sc. (Med.), Professor of the Department of Faculty Surgery, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: sstazkina064@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5787-8269>

**Dmitry N. Kuklin** – Urologist, First Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Udmurt Republic, e-mail: interessent.4@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3265-3650>

**Valentina V. Tikhonova** – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor at the Department of Microbiology and Virology, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: interessent.4@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4047-1371>

**Sergey G. Gushchin** – Postgraduate at the Department of Faculty Surgery, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: interessent.4@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-9943-4715>

**Yulia S. Bzhina** – Student of the Faculty of Medicine, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: bzhina.y4@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3477-1447>

**Inna I. Gaynetdinova** – Student of the Faculty of Medicine, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: gaynetdinovainna@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9226-9546>

**Stepan B. Tulynin** – Student of the Faculty of Medicine, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: stepan.tulynin@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0004-0859-4154>

# МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

## ДИНАМИКА ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА И ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ЕГО НАРУШЕНИЯ В ОСЕННИЙ И ЗИМНИЙ ПЕРИОДЫ ГОДА У СОВРЕМЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ-СЕВЕРЯН

Аверьянова И.В.,  
Алёшина О.О.

Федеральное государственное  
бюджетное учреждение науки  
Научно-исследовательский центр  
«Арктика» Дальневосточного отделения  
Российской академии наук (685000,  
г. Магадан, просп. Карла Маркса, 24,  
Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Алёшина Ольга Олеговна,  
e-mail: oalesina597@gmail.com

### РЕЗЮМЕ

Для оценки резервных возможностей организма с физиологической точки зрения важным является изучение специфического «северного» гормонально-метаболического профиля организма в критические (осенний и зимний) периоды года у практически здоровых людей, родившихся и проживающих на Севере.

**Цель работы.** Изучение основных характеристик углеводного обмена, а также возможных причин его нарушений в динамике осеннего и зимнего периодов года у мужчин-северян.

**Материалы и методы.** В осенний (октябрь) и зимний (декабрь) этапы исследования были включены 45 мужчин (средний возраст  $40,0 \pm 0,8$  года), постоянно проживающих на территории Магаданской области. В работе использовали иммунохемилюминесцентный, ферментативный метод и иммунохроматографический анализ.

**Результаты исследования.** Установлено, что средние величины показателей углеводного обмена у обследуемых мужчин-северян сопоставимы с нормативными диапазонами со смещением в сторону больших значений относительно установленных пределов и не соответствуют основным критериям «полярного метаболического типа», для которого характерно проявление гипогликемии и гипоинсулинемии на фоне повышенных значений сывороточного кортизола. Показано, что в критический период года с октября по декабрь (при переходе температурной кривой через ноль) на фоне относительного «гиперкортицизма» наблюдается активация инсулярного аппарата поджелудочной железы, сопровождающаяся повышением уровня инсулина, а также развитием инсулинорезистентности при отсутствии компенсаторной секреции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. При этом наличие признаков инсулинорезистентности у мужчин-северян в зимний период года может быть обусловлено дисбалансом в сторону большего доминирования симпатического отдела вегетативной нервной системы, формируемым как ответная реакция на критический период года.

**Заключение.** Полученные результаты указывают на формирование трансформированного «северного» гормонально-метаболического профиля организма современного жителя Севера, который следует рассматривать как определённый адаптивный ответ на современную модификацию социально-экономического образа жизни северян (гиподинамия, избыточное питание и т. д.).

**Ключевые слова:** углеводный обмен, кортизол, индекс напряжения, гормонально-метаболический профиль, сезонная динамика

Статья поступила: 18.03.2024  
Статья принята: 25.09.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Аверьянова И.В., Алёшина О.О. Динамика основных показателей углеводного обмена и возможные причины его нарушения в осенний и зимний периоды года у современных жителей-северян. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 142-149. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.15

## DYNAMICS OF THE MAIN PARAMETERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM AND POSSIBLE CAUSES OF ITS DISORDERS IN THE AUTUMN AND WINTER PERIODS IN MODERN RESIDENTS OF THE NORTH

Averyanova I.V.,  
Alyoshina O.O.

Scientific Research Center "Arktika"  
Far Eastern Branch of the Russian Academy  
of Sciences (Karl Marksa Ave. 24,  
Magadan 685000, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Olga O. Alyoshina,**  
e-mail: oalesina597@gmail.com

### ABSTRACT

To assess the reserve capacity of the body from a physiological point of view, it is important to study the specific "northern" hormone metabolic profile of the body during critical (autumn and winter) periods in apparently healthy individuals born and living in the North.

**The aim of the work.** To study the main parameters of carbohydrate metabolism, as well as possible causes of its disorders in the dynamics of autumn and winter periods in men living in the North.

**Materials and methods.** The autumn (October) and winter (December) stages of the study included 45 men (mean age  $40.0 \pm 0.8$  years) permanently residing in the Magadan Region. We used chemiluminescent immunoassay, enzymatic method and immunochromatographic assay.

**Results of the study.** It was found that the average values of carbohydrate metabolism parameters in the examined male northern residents are comparable with the standard ranges with a shift towards higher values relative to the established limits and do not meet the main criteria of the "polar metabolic type". "Polar metabolic type" is characterized by hypoglycemia and hypoinsulinemia against the background of elevated serum cortisol values. It is shown that during the critical period of the year from October to December (temperature transition through zero) against the background of relative "hypercortisolism", activation of the insular apparatus of the pancreas is observed, accompanied by an increase in the insulin level, as well as the development of insulin resistance in the absence of compensatory secretion of  $\beta$ -cells of the pancreas. At the same time, the presence of signs of insulin resistance in northern male residents in the winter period may be determined by an imbalance towards greater dominance of the sympathetic nervous system, formed as a response to the critical period of the year.

**Conclusion.** The obtained results indicate the formation of a transformed "northern" hormone metabolic profile of the body of a modern resident of the North, which should be considered as a certain adaptive response to the modern modification of the socio-economic lifestyle of northern residents (hypodynamia, overeating, etc.).

**Key words:** carbohydrate metabolism, cortisol, stress index, hormone metabolic profile, seasonal dynamics

Received: 18.03.2024  
Accepted: 25.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Averyanova I.V., Alyoshina O.O. Dynamics of the main parameters of carbohydrate metabolism and possible causes of its disorders in the autumn and winter periods in modern residents of the North. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 142-149. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.15

## ВВЕДЕНИЕ

С позиции физиологии, для изучения резервных возможностей организма необходима оценка изменений функционального состояния, степени активации и напряжённости эндокринных и метаболических механизмов у практически здорового населения, живущего на Севере [1]. Особенности региональных вариантов нормы проявляются в изменении показателей эндокринной системы (как правило, незначительных) относительно общепринятых среднеширотных норм, при этом подобные перестройки происходят разнонаправленно для каждого гормона. Подобные трансформации приводят к формированию специфического «северного» гормонально-метаболического профиля организма, в результате чего возникает совершенно иная структура внутри- и межгормональных связей [2].

Необходимо подчеркнуть, что экстремальность климатогеографической зоны Севера усугубляется сменой сезонов. Учитывая то, что данные изменения не являются константными, ответная реакция организма на их воздействие будет неодинаковой в различные сезоны года. Развитие физиологических систем организма идёт по типу синусоиды, наклон которой определяется длительностью холодного периода года. В исследованиях на Северо-Западе России было показано, что наиболее напряжёнными периодами для функционирования кардиореспираторной системы человека являются переходные периоды года (осенний и весенний) [3].

В наших работах ранее было показано, что критическими периодами для функционального состояния обследуемых являются переходные весенне-летний (с марта по апрель) и осенне-зимний периоды года (с октября по декабрь), связанные с переходом температурной кривой через ноль, приводящие к негативным сдвигам физиологических характеристик и вызывающие снижение функционального состояния испытуемых [4], что как раз совпало с этапами данного исследования (осенне-зимний переход температурной кривой через ноль).

Учитывая вышеизложенное, **цель данной работы** заключается в оценке основных показателей углеводного обмена, а также возможных причин его нарушений в динамике осеннего и зимнего периодов года у мужчин-северян.

Внедрение полученных современных данных об углеводном обмене и возможных причинах его отклонения в практическое здравоохранение позволит проводить более качественную диспансеризацию населения, ориентированную на региональные, а не на среднестатистические физиологические показатели здоровья. Полученные данные позволят осуществлять превентивные меры и здоровьесберегающие технологии, направленные на повышение уровня здоровья, продолжительности и качества жизни, увеличение периода активного долголетия населения в экстремальных условиях Севера, на основе изученных биомаркеров адаптивности населения Севера.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе реализации программы научного мониторинга жителей-северян «Арктика. Человек. Адаптация» на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Научно-исследовательского центра «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук (г. Магадан) проведена оценка основных показателей углеводного обмена в осенний и зимний периоды года у мужчин-северян, постоянно проживающих на территории Магаданской области. Первый этап исследования был проведён в осенний период года (октябрь 2023 г.), второй – в зимний период (декабрь 2023 г.).

В общую выборку вошли 45 мужчин (средний возраст  $40,0 \pm 0,8$  года), характеризующихся следующими антропометрическими показателями: длина тела (ДТ) –  $180,7 \pm 0,9$  см; масса тела (МТ) –  $87,5 \pm 2,1$  кг; индекс массы тела (ИМТ) –  $26,8 \pm 0,6$  кг/м<sup>2</sup>. Расчёт индекса массы тела (кг/м<sup>2</sup>) произведён по формуле:  $ИМТ = МТ/ДТ^2$ ; интерпретация показателей ИМТ проводилась в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ): ИМТ < 18,5 кг/м<sup>2</sup> – дефицит массы тела; ИМТ = 25,0–29,9 кг/м<sup>2</sup> – нормальная масса тела; ИМТ > 30 кг/м<sup>2</sup> – ожирение.

Критерием включения в исследование являлось отсутствие хронических заболеваний в стадии обострения и жалоб на состояние здоровья. Все лица, входящие в выборку, были постоянными жителями Магаданской области и характеризовались сопоставимыми условиями жизни, в том числе одинаковым режимом двигательной активности. Обследуемая выборка представлена европеоидным населением Магаданской области.

Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Научно-исследовательского центра «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук (заключение № 002/021 от 26.11.2021). Исследование было выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013). До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

У испытуемых проводили взятие венозной крови натощак вакуумной системой в лаборатории ООО «Юни-лаб-Хабаровск». Гликозилированный гемоглобин (HbA<sub>1c</sub>) определяли на автоматическом биохимическом анализаторе (AU 680, Beckman Coulter, США) методом турбидиметрического иммуноингибирования, сертифицированного по NGSP. Инсулин определяли с использованием анализатора Dxl800 (Beckman Coulter, США) иммунохемилюминесцентным (ИХА) методом с использованием парамагнитных частиц. Анализ глюкозы цельной крови производился с использованием гексокиназного метода на биохимическом анализаторе (AU 680, Beckman Coulter, США). Кортизол в сыворотке крови (нмоль/л) определяли методом ИХА с использованием автоматического иммунохемилюминесцентного анализатора Mindray CL 6000i (Mindray, Китай).

Оценка инсулинорезистентности производилась по формуле для расчёта индекса HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance):

$[\text{Инсулин (мкМЕ/мл)} \times \text{Глюкоза (ммоль/л)}] / 22,5$  [5], с верхней точкой нормативного диапазона, равной 2,5 усл. ед. [6]. Расчёт HOMA- $\beta$ , отражающего функциональную (секреторную) способность  $\beta$ -клеток поджелудочной железы, проводили по следующей формуле:

$[20 \times \text{IRI (мкМЕ/мл)}] / [\text{Глюкоза (ммоль/л)} - 3,5]$  [7], где IRI – иммунореактивный инсулин (immunoreactive insulin). За нормальную секреторную функцию  $\beta$ -клеток принимался показатель HOMA- $\beta$ , равный 100 % [8].

Проведён анализ общего содержания жира в организме (%) с использованием биоимпедансного анализатора обменных процессов и состава тела ABC-02 (МЕДАСС, Россия). Процентное содержание жира в организме, превышающее нормативный диапазон, классифицировалось согласно рекомендациям ВОЗ для мужчин 1-го и 2-го зрелого возраста > 21 % [9, 10]. Вариабельность сердечного ритма (BCP) регистрировалась при помощи комплекса «Варикард» и программного обеспечения VARICARD-KARDi, в работе анализировался стресс-индекс (SI, stress index) – индекс напряжения регуляторных систем (усл. ед.).

Статистический анализ проведён с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Проверка на нормальность распределения измеренных переменных осуществлялась на основе теста Шапиро – Уилка. Результаты представлены в виде среднего значения и его ошибки ( $M \pm m$ ). В случае сравнения связанных выборок статистическая значимость различий определялась с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок с нормальным распределением. Для установления силы взаимного влияния анализируемых показателей в выборках применяли метод линейной корреляции Пирсона. Критический уровень статистической значимости ( $p$ ) в работе принимался равным 0,05, 0,01 и 0,001.

**ТАБЛИЦА 1**  
**СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА, НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕРДЕЧНОГО РИТМА, СОСТАВА ТЕЛА И КОНЦЕНТРАЦИИ КОРТИЗОЛА И ИХ СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ РАЗЛИЧИЯ**

Анализируемые показатели	Осенний период (октябрь)	Зимний период (декабрь)	$p$
Инсулин, мМЕ/мл	9,5 ± 0,6	11,6 ± 1,0	$p = 0,043$
Глюкоза, ммоль/л	5,3 ± 0,1	5,2 ± 0,1	$p = 0,345$
HbA1, %	5,4 ± 0,1	5,4 ± 0,0	$p = 0,214$
HOMA- $\beta$ , усл. ед.	120,0 ± 15,3	98,7 ± 38,9	$p = 0,306$
HOMA-IR, усл. ед.	2,1 ± 0,1	2,7 ± 0,3	$p = 0,024$
Кортизол, нмоль/л	453,0 ± 21,5	413,0 ± 20,6	$p = 0,094$
SI, усл. ед.	154,8 ± 15,8	209,5 ± 26,9	$p = 0,044$
Общее содержание жира, %	19,0 ± 0,8	19,6 ± 0,8	$p = 0,313$

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлены основные показатели углеводного обмена, а также их расчётные индексы у мужчин-северян в осенний и зимний периоды года. Из представленных данных видно, что статистически значимое возрастание в осенне-зимний период было отмечено по показателям базального инсулина, индекса HOMA-IR и индекса напряжения регуляторных систем (SI).

Необходимо отметить, что выявленное статистически значимое повышение концентрации базального инсулина в зимний период произошло при отсутствии признаков гиперинсулинемии на двух этапах исследования, которая определялась при значениях инсулина > 12,09 мкМЕ/мл [11]. В то же время возрастание индекса HOMA-IR в зимний период с превышением референсного диапазона является признаком развития инсулинорезистентности. Сезонное изменение стресс-индекса в сторону увеличения свидетельствует о повышении напряжения регуляторных систем.

Отмечено, что статистически значимой динамики по показателю глюкозы натощак и гликозилированного гемоглобина выявлено не было, при этом следует указать на то, что содержание глюкозы у мужчин как в осенний, так и в зимний этап исследования соответствовало её нормативному диапазону со смещением средней величины ближе к верхнему референсу, а не к параметрам «полярного метаболического типа», для которого характерно проявление гипогликемии, установленной у северян ранее [12, 13]. Отсутствие статистически значимой сезонной динамики также характерно для уровня кортизола в крови, при этом следует отметить тенденцию к его снижению в зимний период. Анализ индекса HOMA- $\beta$  и общего содержания жира в организме не выявил выраженных изменений по данным параметрам, их среднегрупповые значения в изучаемые периоды соответствуют установленным нормативным значениям.

**TABLE 1**  
**SEASONAL DYNAMICS OF CARBOHYDRATE METABOLISM, SOME INDICES OF HEART RATE, BODY COMPOSITION AND CORTISOL CONCENTRATION AND THEIR STATISTICALLY SIGNIFICANT DIFFERENCES**

Проведённый корреляционный анализ показал, что особенностью структуры взаимосвязей в осенний период года является опосредованное влияние SI через общее содержание жира на показатели углеводного обмена (с HOMA-IR ( $r = 0,5 \pm 0,01$ ;  $p < 0,001$ ) и с уровнем глюкозы ( $r = 0,5 \pm 0,01$ ;  $p < 0,001$ )).

В зимний период года корреляционное структурное ядро осталось неизменным и объединяло показатели общего содержания жира с HOMA-IR ( $r = 0,5 \pm 0,01$ ;  $p < 0,001$ ) и инсулином ( $r = 0,4 \pm 0,02$ ;  $p < 0,001$ ) с включением в систему взаимосвязей показателя глюкозы натошак ( $r = 0,5 \pm 0,01$ ;  $p < 0,001$ ), при этом SI в данный период исследования теряет связь с общим содержанием жира, включаясь в общую структуру посредством прямых ассоциаций с HOMA-IR ( $r = 0,5 \pm 0,01$ ;  $p < 0,001$ ), инсулином ( $r = 0,4 \pm 0,02$ ;  $p < 0,001$ ) и глюкозой ( $r = 0,5 \pm 0,01$ ;  $p < 0,001$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение параметров углеводного обмена, в том числе гормонов поджелудочной железы, являющихся одним из ключевых звеньев энергообеспечения организма и физиологических процессов у северян, имеет особую актуальность ввиду наличия северной специфики эндокринно-метаболического профиля [14].

Средние значения как гликемии, так и инсулинемии у мужчин в данном исследовании были выше величин, представленных в более ранних работах [15], но имели сопоставимый уровень с современными данными углеводного обмена жителей северных территорий [14]. Аналогичные результаты были отмечены в работах других авторов, которые свидетельствуют о приближении содержания глюкозы и её метаболитов к верхнему нормативному порогу; данная тенденция была интерпретирована как перестройка обменных процессов в сторону дизадаптации у жителей приарктического региона [16]. По мнению авторов, именно современные изменения образа жизни северян с одновременной перестройкой питания в сторону преобладания доли углеводов и жиров над белками могут оказывать влияние на активность ферментных систем и функционирование метаболических путей [17]. Данные тенденции могут приводить к снижению регистрации гипогликемических состояний и возрастному повышению концентрации глюкозы, при этом стоит отметить, что подобные изменения также могут быть связаны и со снижением двигательной активности с возрастом [18].

Согласно значению индекса HOMA-IR, на втором этапе исследования выявлены признаки развития инсулинорезистентности. В настоящее время причинами развития данного заболевания рассматриваются следующие механизмы: на дорецепторном уровне это выброс  $\beta$ -клетками поджелудочной железы в кровь проинсулина вместо инсулина, а на рецепторном уровне – уменьшение числа рецепторов инсулина на поверхности клетки, что может быть связано с повышением избыточной массы тела и питанием с включением быстро усваиваемых углеводов у северян [19]. Вместе с тем высказывается мнение, что инсулинорезистентность может являться лишь приспособитель-

ной реакцией, предназначенной для усиления и перераспределения потоков энергетических субстратов в клетке под действием влияния экстремальных факторов окружающей среды и носит физиологический (адаптивный) характер [20]. Отметим, что ранее в северных популяциях отмечался преимущественно белковый тип питания, который способствовал снижению нагрузки на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы и развитию инсулинорезистентности в тканях для сохранения гомеостаза глюкозы при её низком поступлении с пищей, а в настоящее время при переходе на углеводный тип питания экспрессия закреплённых генов инсулинорезистентности может проявлять себя развитием признаков данного заболевания [14].

Для определения секреции инсулина был использован индекс HOMA- $\beta$ , отражающий базальную секрецию инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы [21]. Среднее значение HOMA- $\beta$  в группе мужчин-северян в осенний период года отражает компенсаторное возрастание секреторной функции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы на 20 % с оптимизацией данного показателя в зимний этап исследования.

Стоит указать, что в целом об особенностях функциональной активности инсулярного аппарата поджелудочной железы жителей Севера нет единого мнения, а имеющиеся данные до сих пор остаются весьма разноречивыми. Указывается на то, что для аборигенных жителей Севера – с условием сохранения традиционного белково-липидного типа питания – был характерен особый, «экономный» тип метаболизма с повышением уровня кортизола на фоне снижения базального содержания инсулина в крови [22] с возрастанием инсулярной «северной» недостаточности по мере гиперпродукции контринсулярных гормонов, таких как кортизол и адреналин [15]. Также показано, что повышение концентрации инсулина у приезжих мужчин на 40 % является переходом к долговременной адаптации к условиям Севера. При этом при увеличении длительности проживания на Севере поддержание адекватного уровня углеводного баланса у мужчин осуществляется именно за счёт увеличения концентрации инсулина в крови и снижения уровня кортизола – гормона с контринсулярным действием [23]. В других работах, напротив, накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что как изменение характера питания, так и влияние сезонных перестроек природно-климатических факторов в осенне-зимний период приводит к интенсификации углеводного профиля за счёт активации секреторной активности поджелудочной железы [24, 25]. Сходные данные получены и в другой работе, где в выборках аборигенных и пришлых жителей Ямало-Ненецкого автономного округа были отмечены высокие содержания инсулина, соответствующие максимальному рекомендованному уровню для данного показателя [17]. Известно, что в основе нарушения углеводного обмена в виде признаков инсулинорезистентности также лежит неадекватная и/или избыточная продукция глюкокортикоидных гормонов [20].

Учитывая вышеописанный контринсулярный механизм взаимодействия кортизола и инсулина, широко освещённый в работах по изучению эндокринно-метаболических перестроек жителей-северян, был проведён анализ концентрации кортизола в крови у обследуемых

групп мужчин. Оказалось, что на 1-м этапе (октябрь) были отмечены достаточно высокие средние величины кортизола в крови с тенденцией к снижению в зимний период исследования. Аналогичные результаты гиперкортизолемии у жителей-северян были отмечены и в ряде других работ [26, 27], при этом в некоторых исследованиях даже указывается на особый сформированный «относительный гиперкортицизм» у жителей северных территорий [28]. По мнению авторов, усиление экскреции гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси у человека на Севере, по-видимому, является неотъемлемым звеном, реализующимся посредством влияния центральной нервной системы на метаболические процессы при адаптации к северным условиям, что в свою очередь направлено на поддержание показателей основного обмена для компенсации холодового фактора [27]. Несмотря на большой объём данных о перmissiveвных и супрессивных функциях глюкокортикоидов, в настоящее время особое значение придаётся роли кортизола в сохранении энергетических ресурсов и обеспечении адекватных долгосрочных реакций [29]. Гиперпродукция кортизола рассматривается как нормальная реакция на острый стрессор, необходимая для поддержания функций выживания, приводящая к повышению артериального давления, уровня глюкозы с одновременным сохранением энергии от не жизненно важных функций путём подавления репродуктивных, иммунных и пищеварительных функций [29].

Относительно динамики анализируемых показателей углеводного обмена следует указать, что полученные в нашем исследовании показатели концентрации кортизола, а также инсулина в полной мере сопоставимы с результатами Е.Р. Бойко, согласно которым у мигрантов на архипелаге Шпицберген в период с октября по январь была отмечена тенденция к снижению концентрации кортизола ( $с\ 528,77 \pm 16,23$  до  $478,25 \pm 15,12$  нмоль/л) на фоне значимого возрастания инсулина ( $с\ 8,28 \pm 0,40$  до  $13,29 \pm 0,45$  мкЕд/мл). Однако в нашей работе аналогичные перестройки в зимний период года сочетались с наличием признаков инсулинорезистентности на фоне отсутствия гипогликемических состояний, указанных в работах автора [13].

Учитывая тот факт, что достаточно высокие значения концентрации кортизола в крови у мужчин в осенний и зимний периоды года не оказывали контргормонального влияния на концентрацию инсулина в виде проявления гипоинсулинемии, нами был проведён корреляционный анализ показателей углеводного обмена и кортизола. Для выяснения степени силы и вида взаимосвязей между показателями углеводного обмена и кортизолом в осенний и зимний этапы исследования были рассчитаны коэффициенты корреляции. Показано, что уровни кортизола в сыворотке крови не коррелировали с секрецией инсулина, что противоречит результатам других исследователей [30] и не соответствует концепции действия высоких концентраций контринсулярных гормонов в формировании «северной инсулярной недостаточности» и «диабета напряжения» при проживании на Севере [12].

Гипоталамо-гипофизарная ось (ГГО) является основным медиатором реакции на стресс и действует совмест-

но с другим важным медиатором, таким как вегетативная нервная система (ВНС) и, в частности, её симпатическое звено, и часто активируются параллельно [31]. Следовательно, активация ГГО может происходить параллельно с активацией симпатического звена ВНС [32], и, в свою очередь, уровни сывороточного кортизола также могут отражать активность симпатической активации. Эти результаты указывают на то, что более высокие уровни сывороточного кортизола представляют собой, по крайней мере частично, активацию адренергических сигналов [30].

В дальнейшем, исходя из вышесказанного, мы добавили в корреляционный анализ достаточно информативную переменную ВСР, по которой судили об активности симпатического звена вегетативной нервной системы – стресс-индекс (SI), а также показатель общего содержания жира в организме ввиду его сезонной динамики.

Согласно результатам корреляционного анализа, по-видимому, именно высокая активация симпатического звена вегетативной нервной системы, которая подтверждается статистически значимым увеличением SI с октября по декабрь, приводит к снижению чувствительности инсулиновых рецепторов, что совпадает с ранее полученными результатами исследований [33]. Данные, полученные в нашей работе, по большей части согласуются с представленными в литературе результатами исследований других авторов, в которых ВСР коррелировала с ранними признаками резистентности к инсулину [34], при этом механизмы данных ассоциаций до конца не выяснены. Указывается, что симпатическая иннервация имеет решающее значение для регуляции выделения инсулина и глюкагона поджелудочной железой и контроля гомеостаза глюкозы, в частности путём защиты от гипогликемии во время голодания и путём повышения уровня глюкозы в крови в периоды повышенной потребности, такие как воздействие стрессовых факторов [35].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение динамики показателей углеводного профиля в критический осенне-зимний период года (с октября по декабрь) позволило установить, что в зимний период года достаточно высокие значения секреции инсулина с сохранением продукции контринсулярного гормона (кортизола) на уровне, превышающем нормативные значения, следует рассматривать как определённый адаптивный механизм, позволяющий поддерживать гомеостаз углеводного обмена на постоянном уровне, что проявляется на фоне признаков инсулинорезистентности с отсутствием компенсаторной секреторной функции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы.

В целом полученные данные указывают на то, что у мужчин-северян с октября по декабрь (при переходе температурной кривой через ноль) наблюдалась активация инсулярного аппарата поджелудочной железы, сопровождающаяся повышением уровня инсулина, развитием инсулинорезистентности при отсутствии компенсаторной секреции  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. При этом наличие признаков инсулинорезистентности у мужчин-северян в зим-

ний период года может быть обусловлено дисбалансом в сторону большего доминирования симпатического отдела вегетативной нервной системы, формируемым как ответная реакция на критический период года за счёт перепада температурной кривой через ноль.

### Финансирование

Работа выполнена за счёт бюджетного финансирования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Научно-исследовательского центра «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук в рамках выполнения темы «Изучение межсистемных и внутрисистемных механизмов реакций в формировании функциональных адаптивных резервов организма человека «северного типа» на разных этапах онтогенеза лиц, проживающих в дискомфортных и экстремальных условиях с определением интегральных информативных индексов здоровья» (регистрационный номер АААА-А21-121010690002-2).

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бойко Е.Р., Ларсен Т., Бичкаева Ф.А. Влияние продолжительности пребывания на севере на липидный профиль сыворотки крови во время полярной ночи. *Физиология человека*. 1997; 23(3): 75. [Boyko ER, Larsen T, Bichkaeva FA. Effect of duration of stay in the north on serum lipid profile during polar night. *Human Physiology*. 1997; 23(3): 75. (In Russ.).]
2. Мартынова Н.А. *Нарушения неспецифических защитных реакций организма при воздействии климатических и техногенных факторов Европейского Севера*. Архангельск: Изд-во АГМА; 1998. [Martynova NA. *Disorders in non-specific protective reactions of the body under the influence of climatic and anthropogenic factors of the European North*. Arkhangelsk: AGMA Publishing House; 1998. (In Russ.).]
3. Рошчевский М.П., Евдокимов В.Г., Варламова Н.Г., Рогачевская О.В. Сезонные и социальные влияния на кардиореспираторную систему жителей Севера. *Физиология человека*. 1995; 21(6): 55-69. [Roshchevsky MP, Evdokimov VG, Varlamova NG, Rogachevskaya OV. Seasonal and social effects on the cardiorespiratory system of residents of the North. *Human Physiology*. 1995; 21(6): 55-69. (In Russ.).]
4. Averyanova IV, Vdovenko SI. Peculiarities of morphological and functional characteristics of residents of the North-East of Russia, depending on background meteorological and heliomagnetic indices. *Cardiometry*. 2018; 12: 55-65 doi: 10.12710/cardiometry.2018.12.5565
5. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia*. 1985; 28: 412-419. doi: 10.1007/bf00280883
6. Vardeny O, Gupta DK, Claggett B, Burke S, Shah A, Loehtret L, et al. Insulin resistance and incident heart failure. *JACC Heart Fail*. 2013; 1(6): 531-536. doi: 10.1016/j.jchf.2013.07.006
7. Bonora E, Targher G, Alberiche M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care*. 2000; 23: 57-63. doi: 10.2337/diacare.23.1.57
8. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004; 27(6): 1487-1495. doi: 10.2337/diacare.27.6.1487
9. WHO European Regional Obesity Report 2022. Copenhagen, Denmark: 2022. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/353747.pdf> [date of access: 05.05.2023].
10. Pluta W, Dudzińska W, Lubkowska A. Metabolic obesity in people with normal body weight (MONW) – Review of diagnostic criteria. *Int J Environ Res Public Health*. 2022; 19(2): 624. doi: 10.3390/ijerph19020624
11. McAuley KA, Williams SM, Mann JI. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care*. 2011; 24(3): 460-464. doi: 10.2337/diacare.24.3.460
12. Панин Л.Е. *Энергетические аспекты адаптации*. Л.: Медицина; 1978. [Panin LE. *Energy aspects of adaptation*. Leningrad: Meditsina; 1978. (In Russ.).]
13. Бойко Е.Р. *Физиолого-биохимические основы жизнедеятельности человека на Севере*. Екатеринбург: Уральское отделение РАН; 2005. [Boyko ER. *Physiological and biochemical foundations of human life in the North*. Ekaterinburg: Ural Branch of the RAS; 2005. (In Russ.).]
14. Бичкаева Ф.А., Коваленко Т.Б., Бичкаев А.А., Шенгоф Б.А., Третьякова Т.В. Возрастные изменения уровня глюкозы, проинсулина и инсулина в крови у жителей Российской Арктики. *Экология человека*. 2021; 4: 30-39. [Bichkaeva FA, Kovalenko TB, Bichkaev AA, Shengof BA, Tretyakova TV. Age-related changes in blood concentrations of glucose, proinsulin and insulin among residents of the Russian Arctic. *Human Ecology*. 2021; 4: 30-39. (In Russ.).] doi: 10.33396/1728-0869-2021-4-30-39
15. Панин Л.Е. *Детерминантные системы в физике, химии, биологии*. Новосибирск: Сибирское университетское издательство; 2006. [Panin LE. *Determinant systems in physics, chemistry, biology*. Novosibirsk: Siberian University Press; 2006. (In Russ.).]
16. Бичкаева Ф.А., Власова О.С., Шенгоф Б.А., Бичкаев А.А., Нестерова Е.В., Волкова Н.И. Возрастные изменения концентрации глюкозы, её метаболитов и активности аминотрансфераз у женщин и мужчин зрелого и пожилого возраста. *Экология человека*. 2022; 29(3): 187-197. [Bichkaeva FA, Vlasova OS, Shengof BA, Bichkaev AA, Nesterova EV, Volkova NI. Age-related changes in the glucose level, its metabolites, and aminotransferases activity in women and men of mature and elderly age. *Human Ecology*. 2022; 29(3): 187-197. (In Russ.).] doi: 10.17816/humeco71477
17. Потеряева О.Н., Осипова Л.П., Русских Г.С., Биушкина Н.Г., Розуменко А.А., Чуркина Т.В., и др. Анализ содержания инсулина, кортизола и глюкозы в сыворотке крови поселковых жителей Ямало-Ненецкого автономного округа. *Физиология человека*. 2017; 43(6): 103-108. [Poteryaeva ON, Osipova LP, Russkikh GS, Biushkina NG, Rozumenko AA, Churkina TV, et al. Analysis of serum insulin, cortisol, and glucose levels in the settlement inhabitants of the Yamalo-Nenets autonomous okrug. *Human Physiology*. 2017; 43(6): 103-108. (In Russ.).] doi: 10.7868/S013116461706008X
18. Корчина Т.Я., Сухарева А.С., Корчин В.И., Лапенко В.В. Обеспеченность витамином D женщин Тюменского Севера. *Экология человека*. 2019; 26(5): 31-36. [Korchina TYa, Sukhareva AS, Korchin VI, Lapenko VV. Serum concentrations of vitamin D

in women living in the Tyumen North. *Human Ecology*. 2019; 26(5): 31-36. (In Russ.). doi: 10.33396/1728-0869-2019-5-31-36

19. Arunagiri A, Leena H, Pottekat A, Pamenan F, Kim S, Zeltser LM, et al. Proinsulin misfolding is an early event in the progression to type 2 diabetes. *eLife*. 2019; 8: 1323-1325. doi: 10.7554/eLife.44532

20. Fruehwald-Schultes B, Kern W, Born J, Fehm HL, Peters A. Hyperinsulinemia causes activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in humans. *Int J Obesity*. 2001; 25(1): 38-40. doi: 10.1038/sj.ijo.0801695

21. Kuroe A, Fukushima M, Usami M, Ikeda M, Nakai Y, Taniguchi A, et al. Impaired B-cell function and insulin sensitivity in Japanese subjects with normal glucose tolerance. *Diabetes Res Clin Pract*. 2003; 59: 71-77. doi: 10.1016/s0168-8227(02)00177-8

22. Панин Л.Е. Гомеостаз и проблемы приполярной медицины (методологические аспекты адаптации). *Бюллетень СО РАМН*. 2010; 3(3): 6-11. [Panin LE. Homeostasis and problems of circumpolar health (methodological aspects of adaptation). *The Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences*. 2010; 3(3): 6-11. (In Russ.)].

23. Шварева Н.В., Бартош Т.П. Регуляция углеводного обмена у человека на Севере. *Физиология человека*. 1993; 19(4): 127. [Shvareva NV, Bartosh TP. Regulation of carbohydrate metabolism in people living in the North. *Human Physiology*. 1993; 19(4): 127. (In Russ.)].

24. Агаджанян Н.А., Радыш И.В., Хисамутдинов А.Ф. Липидный и гормональный обмен у здоровых мужчин в различные сезоны года. *Казанский медицинский журнал*. 2009; 6: 776-779. [Agadzhanyan NA, Radysh IV, Khisamutdinov AF. Lipid and hormone metabolism in healthy men in different year seasons. *Kazan Medical Journal*. 2009; 6: 776-779. (In Russ.)].

25. Влощинский П.Е., Колпаков А.Р. Структура питания и толерантность к глюкозе у жителей Севера. *Техника и технология пищевых производств*. 2011; 3(22): 17-21. [Vloshchinskiy PE, Kolpakov AR. Dietary patterns and glucose tolerance in northern residents. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2011; 3(22): 17-21. (In Russ.)].

26. Догалин С.А., Ноздрачев К.Г., Крижановская Е.В., Манчук В.Т. Содержание инсулина, С-пептида и кортизола в динамике теста толерантности к глюкозе у коренных и пришлых жителей Крайнего Севера. *Проблемы эндокринологии*. 1997; 43(2): 7-10. [Dogadin SA, Nozdrachev KG, Krizhanovskaya YeV, Manchuk VT. Levels of insulin, C-peptide, and hydrocortisone in the course of glucose tolerance test in indigenous population of the Extreme North and in newcomers. *Problems of Endocrinology*. 1997; 43(2): 7-10. (In Russ.)]. doi: 10.14341/probl19974327-10

27. Хаснулин В.И., Хаснулина А.В. Особенности психоэмоционального стресса у жителей регионов севера и Сибири с дискомфортным климатом при высоком и низком содержании гор-

монов стресса в крови. *Мир науки, культуры, образования*. 2012; 5(36): 32-35. [Hasnulin VI, Hasnulina AV. Features of emotional stress in the residents of the North and Siberian regions with uncomfortable climate at high or low content of hormones in the blood. *The World of Science, Culture and Education*. 2012; 5(36): 32-35. (In Russ.)].

28. Волкова Н.И., Бичкаева Ф.А. Анализ содержания кортизола и глюкозы в сыворотке крови у жителей арктического и приарктического регионов Севера зрелого возраста. *Глобальные проблемы Арктики и Антарктики: Сборник научных материалов Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 90-летию со дня рождения академика Николая Павловича Лавёрова*. 2020: 956-961. [Volkova NI, Bichkaeva FA. Analysis of the content of cortisol and glucose in the blood serum of mature residents of the Arctic and Subarctic regions of the North. *Global Problems of the Arctic and Antarctic: Proceedings of the All-Russian conference with international participation dedicated to the 90th anniversary of Academician Nikolai Pavlovich Laverov*. 2020: 956-961. (In Russ.)].

29. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative action. *Endocrine Rev*. 2000; 21: 55. doi: 10.1210/edrv.21.1.0389

30. Kamba A, Daimon M, Murakami H, Otaka H, Matsuki K, Sato E. Association between higher serum cortisol levels and decreased insulin secretion in a general population. *PLoS One*. 2016; 11(11): e0166077. doi: 10.1371/journal.pone.0166077

31. Björntorp P, Rosmond R. Neuroendocrine abnormalities in visceral obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000; 24(2): S80-S85. doi: 10.1038/sj.ijo.0801285

32. Rosmond R, Björntorp P. Blood pressure in relation to obesity, insulin and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in Swedish men. *J Hypertens*. 1998; 16(12 Pt 1): 1721-1726. doi: 10.1097/00004872-199816120-00003

33. Севостьянова Е.В. Особенности липидного и углеводного метаболизма человека на Севере (литературный обзор). *Бюллетень сибирской медицины*. 2013; 12(1): 93-100. [Sevostyanova YeV. Some features of human lipid and carbohydrate metabolism in the North. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2013; 12(1): 93-100. (In Russ.)].

34. Simova I, Christov I, Bortolan G. A review on electrocardiographic changes in diabetic patients. *Curr Diabetes Rev*. 2015; 11(2): 102-106. doi: 10.2174/1573399811666150113161417

35. Martinez-Sanchez N, Sweeney O, Sidarta-Oliveira D, Caron A, Stanley SA, Domingos AI. The sympathetic nervous system in the 21st century: Neuroimmune interactions in metabolic homeostasis and obesity. *Neuron*. 2022; 110(21): 3597-3626. doi: 10.1016/j.neuron.2022.10.017

#### Сведения об авторах

**Аверьянова Инесса Владиславовна** – доктор биологических наук, заведующая, главный научный сотрудник лаборатории физиологии экстремальных состояний, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно-исследовательский центр «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук, e-mail: Inessa1382@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4511-6782>

**Алешина Ольга Олеговна** – младший научный сотрудник лаборатории физиологии экстремальных состояний, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно-исследовательский центр «Арктика» Дальневосточного отделения Российской академии наук, e-mail: oalesina597@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5718-5398>

#### Information about the authors

**Inessa V. Averyanova** – Dr. Sc. (Biol.), Head, Chief Research Officer at the Laboratory of Physiology of Extreme Conditions, Scientific Research Center “Arktika” Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: Inessa1382@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4511-6782>

**Olga O. Alyoshina** – Junior Research Officer at the Laboratory of the Physiology of Extreme Conditions, Scientific Research Center “Arktika” Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: oalesina597@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5718-5398>

## МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ, АССОЦИИРОВАННЫЙ С ГИПЕРАНДРОГЕНИЕЙ В РЕПРОДУКТИВНОМ ВОЗРАСТЕ. ГОРМОНАЛЬНЫЙ ПРОФИЛЬ У ЖЕНЩИН РАЗЛИЧНЫХ ЭТНОСОВ

Даренская М.А.<sup>1</sup>,  
Беленькая Л.В.<sup>1</sup>,  
Колесников С.И.<sup>1,2</sup>,  
Шолохов Л.Ф.<sup>1</sup>,  
Данусевич И.Н.<sup>1</sup>,  
Лазарева Л.М.<sup>1</sup>,  
Наделяева Я.Г.<sup>1</sup>,  
Колесникова Л.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Государственный университет просвещения» (105005, г. Москва, ул. Радио, 10А, стр. 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Даренская Марина Александровна,  
e-mail: marina\_darenskaya@inbox.ru

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Коморбидность метаболического синдрома (МС) с гиперандрогенией у женщин считается частым явлением, однако вклад в это показатель системы нейроэндокринной регуляции в репродуктивном возрасте до сих пор остаётся невыясненным.

**Цель работы.** Проанализировать активность системы нейроэндокринной регуляции у женщин репродуктивного возраста различных этнических групп с метаболическим синдромом, ассоциированным с гиперандрогенией.

**Методы.** Были сформированы группы женщин с МС русской ( $n = 209$ ) и бурятской ( $n = 84$ ) этнических групп и группы женщин с МС и синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) русской ( $n = 23$ ) и бурятской ( $n = 10$ ) этнических групп.

**Результаты.** У женщин репродуктивного возраста русской этнической группы с МС и СПКЯ отмечены более высокие уровни антимюллера гормона (АМГ) ( $p = 0,030$ ), тестостерона (Тс) ( $p = 0,026$ ), индекса свободных андрогенов (ИСА) ( $p < 0,0001$ ), дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С) ( $p < 0,0001$ ) и сниженный уровень глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ) ( $p < 0,0001$ ); а в сравнении с группой с МС – повышенные значения АМГ ( $p < 0,001$ ), Тс ( $p = 0,030$ ), ИСА ( $p < 0,001$ ), ДГЭА-С ( $p < 0,0001$ ) и сниженные значения ГСПГ ( $p = 0,001$ ).

У женщин бурятской этнической группы с МС и СПКЯ зарегистрированы повышенные значения АМГ ( $p = 0,045$ ), Тс ( $p = 0,002$ ), ИСА ( $p < 0,0001$ ), ДГЭА-С ( $p = 0,033$ ) и сниженные значения ГСПГ ( $p = 0,016$ ) и 17-ОН-прогестерона ( $p = 0,027$ ); а в сравнении с группой с МС – более высокий уровень ДГЭА-С ( $p = 0,006$ ) и сниженный уровень ГСПГ ( $p = 0,028$ ).

**Заключение.** У женщин с МС, ассоциированным с гиперандрогенизмом, отмечаются более интенсивные изменения в системе нейроэндокринной регуляции относительно контроля, причём у русских женщин сочетанный синдром (МС с СПКЯ) сопровождается большим количеством изменений в сравнении с моносиндромом (МС), чем у женщин бурятской этнической группы.

**Ключевые слова:** метаболический синдром, гиперандрогения, этнические группы, гормоны, женщины, репродуктивный возраст

**Для цитирования:** Даренская М.А., Беленькая Л.В., Колесников С.И., Шолохов Л.Ф., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Наделяева Я.Г., Колесникова Л.И. Метаболический синдром, ассоциированный с гиперандрогенией в репродуктивном возрасте. Гормональный профиль у женщин различных этносов. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 150-158. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.16

Статья поступила: 28.08.2024

Статья принята: 11.09.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

## METABOLIC SYNDROME ASSOCIATED WITH HYPERANDROGENISM IN THE REPRODUCTIVE AGE. HORMONAL PROFILE IN DIFFERENT ETHNICITIES WOMEN

Darenskaya M.A.<sup>1</sup>,  
 Belenkaia L.V.<sup>1</sup>,  
 Kolesnikov S.I.<sup>1,2</sup>,  
 Sholokhov L.F.<sup>1</sup>,  
 Danusevich I.N.<sup>1</sup>,  
 Lazareva L.M.<sup>1</sup>,  
 Nadeliaeva Ia.G.<sup>1</sup>,  
 Kolesnikova L.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

<sup>2</sup> Federal State University of Education (Radio str. 10A, building 2, Moscow 105005, Russian Federation)

Corresponding author:

**Marina A. Darenskaya,**

e-mail: marina\_darenskaya@inbox.ru

### ABSTRACT

**Background.** Metabolic syndrome (MS) with hyperandrogenism comorbidity in women is considered a common concept; however, the contribution of the neuroendocrine regulation system indicators to this in reproductive age remains unclear.

**The aim.** To analyze the activity of neuroendocrine regulation system in women of reproductive age of different ethnic groups with metabolic syndrome associated with hyperandrogenism.

**Materials and methods.** The groups of women with MS of Russian ( $n = 209$ ) and Buryat ( $n = 84$ ) ethnic groups and a group of women with MS and polycystic ovary syndrome (PCOS) of Russian ( $n = 23$ ) and Buryat ( $n = 10$ ) ethnic groups were formed.

**Results.** In women of reproductive age of the Russian ethnic group with MS and PCOS the study noted higher levels of anti-Müllerian hormone (AMH) ( $p = 0.030$ ), testosterone (Ts) ( $p = 0.026$ ), free androgen index (FAI) ( $p < 0.0001$ ), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) ( $p < 0.0001$ ), and reduced levels of sex hormone-binding globulin (SHBG) ( $p < 0.0001$ ) in relation to the control; in relation to the group with MS, we discovered increased values of AMH ( $p < 0.001$ ), Ts ( $p = 0.030$ ), FAI ( $p < 0.001$ ), DHEA-S ( $p < 0.0001$ ), and decreased values of SHBG ( $p = 0.001$ ).

In women of the Buryat ethnic group with MS and PCOS the study recorded increased values of AMH ( $p = 0.045$ ), Ts ( $p = 0.002$ ), FAI ( $p < 0.0001$ ), DHEA-S ( $p = 0.033$ ), decreased SHBG ( $p = 0.016$ ) and 17-OH-progesterone ( $p = 0.027$ ) levels in comparison with the control; in comparison with the group with MS we noted a higher level of DHEA-S ( $p = 0.006$ ) and a decreased level of SHBG ( $p = 0.028$ ).

**Conclusion.** Women with metabolic syndrome associated with hyperandrogenism showed more intense changes in the neuroendocrine regulation system relative to control values regardless of ethnicity. In Russian women, the combined syndrome (MS with PCOS) was accompanied by a greater number of hormonal changes compared to the monosyndrome (MS) than in Buryat women. The data obtained indicate the need to assess and control the content of these metabolites in women with MS and PCOS, taking into account ethnicity.

**Key words:** metabolic syndrome, hyperandrogenism, ethnicity, hormones, women, reproductive age

Received: 28.08.2024

Accepted: 11.09.2024

Published: 22.11.2024

**For citation:** Darenskaya M.A., Belenkaia L.V., Kolesnikov S.I., Sholokhov L.F., Danusevich I.N., Lazareva L.M., Nadeliaeva Ia.G., Kolesnikova L.I. Metabolic syndrome associated with hyperandrogenism in the reproductive age. Hormonal profile in different ethnicities women. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 150-158. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.16

## ОБОСНОВАНИЕ

Метаболический синдром (МС) считается кластером разнообразных факторов развития сердечно-сосудистых заболеваний, ассоциированных с ожирением, гипертонией, инсулинорезистентностью (ИР) и дислипидемией [1–3]. Важным элементом в генезе МС является сочетание ИР с последующей гиперинсулинемией [2, 3]. В свою очередь, ИР выступает основным патогенетическим звеном развития синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) [2]. Ряд исследований подтвердили тесную взаимосвязь двух синдромов через фактор ИР, а также посредством гиперандрогении (ГА), присущей СПКЯ [4]. Доказано, что ГА коррелирует с основными компонентами МС, способствует увеличению висцерального жира, уровня холестерина липопротеинов низкой плотности, снижению процессов липолиза в подкожном жире, чувствительности к инсулину [5]. У женщин с СПКЯ распространённость МС встречается значительно чаще, чем в общей популяции [4, 5].

Несмотря на единый диагноз СПКЯ, существуют значительные различия в распространённости МС и кластеризации его компонентов на основе расы и этнической принадлежности [6, 7]. Так, у женщин с СПКЯ, проживающих в Соединённых Штатах, МС регистрируется в 43–46 % случаев, ассоциируясь с высоким индексом массы тела (ИМТ) и низким уровнем холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) [6]. В южноазиатских популяциях с СПКЯ распространённость МС составляет 37,5 %, при этом центральное ожирение является одним из значимых предикторов МС [8]. У чернокожих женщин с СПКЯ отмечается более высокая распространённость МС, чем у белых; у женщин из Индии и Норвегии распространённость МС не зависит от ожирения [6]. ГА идентифицируется с СПКЯ, ассоциируется с бесплодием, сахарным диабетом 2-го типа, сердечно-сосудистыми нарушениями, карциномой эндометрия [9]. Отмечают низкое качество жизни пациенток, в связи с чем чрезвычайно важна ранняя диагностика ГА для предотвращения ранних и поздних последствий избытка андрогенов [10]. Продолжительные негативные эффекты ГА отмечаются во всех возрастах, в связи с чем рекомендуется тщательная оценка влияния фактора ГА на метаболические процессы у женщин независимо от возраста.

Биохимическая оценка ГА включает оценку уровня тестостерона (Тс) [11]. В сравнении с общим Тс глобулин, связывающий половые гормоны (ГСПГ), выступает в качестве сильного предиктора СПКЯ и ГА [11] с более высокой прогностической эффективностью. ГСПГ контролирует биодоступность Тс в кровотоке, поэтому анализ ГА также проводится косвенно, через расчёт индекса свободных андрогенов (ИСА) или биодоступного Тс с использованием ГСПГ [10].

Буряты относятся к наиболее многочисленному коренному этносу Восточной Сибири, в основном проживают на территории Республики Бурятия, Иркутской области, Забайкальского края и т. д. В ряде исследований выявлено, что представители данного этноса имеют определённые черты метаболических реакций, обу-

славливающих более лёгкое течение ряда заболеваний, в том числе сахарного диабета, артериальной гипертензии, сердечно-сосудистых расстройств и т. д. В сравнении с русскими отмечена более высокая частота маточного фактора бесплодия, повышенный риск осложнений во время беременности [12]. При этом по основным параметрам МС существенных различий между русскими и бурятами выявлено не было [13]. Хотя ГА является центральным звеном СПКЯ и важным показателем здоровья женщин, информации о её сочетании с МС влияния на состояние системы нейроэндокринной регуляции у женщин разных этносов, проживающих на территории Восточной Сибири, до сих пор недостаточно.

## ЦЕЛЬ НАСТОЯЩЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализировать активность системы нейроэндокринной регуляции у женщин репродуктивного возраста различных этнических групп с метаболическим синдромом, ассоциированным с гиперандрогенией.

## МЕТОДЫ

### Дизайн исследования

В ходе ежегодного профилактического осмотра по месту работы было обследовано 418 женщин репродуктивного возраста (18–44 лет), проживающих на территориях Иркутской области и Республики Бурятия. В результате отбора с использованием критериев диагностики МС и СПКЯ были сформированы группы женщин с МС русской ( $n = 209$ ) и бурятской ( $n = 84$ ) этнических групп и группы женщин с МС и СПКЯ (гиперандрогенные фенотипы) русской ( $n = 23$ ) и бурятской ( $n = 10$ ) этнических групп. Для сравнения использованы данные практически здоровых женщин (контрольные группы) русской ( $n = 68$ ) и бурятской ( $n = 24$ ) этнических групп.

Для диагностики МС применена классификация Adult Treatment Panel (ATP III) (абдоминальное ожирение: окружность талии для женщин  $> 80$  см; гипертриглицеридемия  $> 1,7$  ммоль/л; низкий уровень ЛПВП  $< 1,3$  ммоль/л для женщин; повышение артериального давления (АД)  $> 130/85$  мм рт. ст.; гипергликемия  $> 6,1$  ммоль/л) [14]. Диагноз устанавливался при наличии не менее трёх из пяти признаков. Диагноз СПКЯ, согласно современным диагностическим критериям, ставили при наличии хотя бы двух из трёх признаков: олигоовуляция; клинические (на основе оценки шкалы Ферримана – Галлвея) и/или биохимические проявления гиперандрогении (содержание дегидроэпиандростерона и тестостерона); поликистозные яичники при ультразвуковом исследовании. На основании критериев диагностики Национального института здравоохранения США (NIH, National Institutes of Health) были выделены три фенотипа СПКЯ: фенотип А (классический) – наличие ГА, хронической ановуляции, ультразвуковых признаков СПКЯ; фенотип В (ановуляторный) – наличие ГА, хронической ановуляции, отсутствие ультразвуковых

признаков СПКЯ; фенотип С (овуляторный) – наличие ГА, ультразвуковых признаков СПКЯ, регулярный овуляторный цикл) [15].

#### Критерии соответствия

**Критерии включения в общую выборку:** наличие подписанного информированного согласия; готовность участницы соблюдать все процедуры исследования; доступность в течение всего срока исследования; репродуктивный возраст – 18–44 года.

**Критерии исключения:** текущая беременность или лактация; удаление матки и/или придатков с двух сторон; абляция эндометрия и/или эмболизация маточных артерий; приём гормональных препаратов, препаратов менопаузальной гормонотерапии, инсулиносенситайзеров; наличие факторов, повышающих риск для субъекта либо мешающих полному выполнению участником условий исследования.

**Критерии невключения в группы контроля:** текущая беременность или лактация; гистерэктомия в анамнезе; двусторонняя овариэктомия; абляция эндометрия и/или эмболизация маточных артерий; текущий или предыдущий (в течение 3 месяцев) приём гормональных препаратов (тиреоидные гормоны, глюкокортикостероиды, а также инсулиносенситайзеры); хронические заболевания в анамнезе (сердечно-сосудистые, онкологические, мочеполовые заболевания, сахарный диабет, гипертония и др.); ИМТ  $\geq 30$  кг/м<sup>2</sup>.

Принадлежность к определённой этнической группе определяли с учётом длительности проживания на данной территории (как минимум одно поколение), генеалогического анамнеза (женщины, имеющие в двух поколениях родителей одной национальности), путём самоидентификации и с учётом фенотипических особенностей женщин.

#### Условия проведения

Учреждение, принявшее участие в исследовании: ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (Иркутск).

#### Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с 2016 по 2019 г.

#### Методы регистрации исходов

Содержание тиреотропного гормона (ТТГ), пролактина (ПРЛ), антимюллерова гормона (АМГ), 17-ОН-прогестерона (17-ОН-Пр.), ГСПГ определяли методом конкурентного твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Алкор-Био» (Россия) на иммуноферментном анализаторе ELx808 (BioTek, США). Уровень дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С) определяли с помощью конкурентного хемилюминесцентного иммуноферментного анализа на иммунохимическом анализаторе Immulite 1000 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., США). Уровень Тс был измерен с использованием аналитического комплекса на базе жидкостного хромато-масс-

спектрометра LCMS-8060 (Shimadzu, Япония). Кроме того, дополнительно рассчитывали ИСА, который отражал соотношение общего Тс к ГСПГ  $\times 100$ . Данный метод является приоритетным в оценке стероидного профиля. Содержание ТТГ, ПРЛ выражали в мЕД/мл; Тс – в пг/мл; 17-ОН-Пр. – в нмоль/л; ДГЭА-С – в мкг/дл; ГСПГ – в нмоль/л; АМГ – в нг/мл. Все исследуемые показатели находились в пределах референсных значений диагностических наборов.

Исследование выполнялось с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

#### Этическая экспертиза

Соблюдались этические принципы Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2013 ред.). Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (выписка из протокола заседания № 2.1 от 24.02.2016).

#### Статистический анализ

**Принципы расчёта размера выборки:** размер выборки предварительно не рассчитывался.

**Методы статистического анализа данных:** данные были обработаны с помощью пакета комплексного статистического анализа Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Использовались визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка для определения близости к нормальности. Равенство генеральных дисперсий оценивалось с помощью критерия Фишера (F-test). Для анализа межгрупповых различий применяли непараметрический критерий Манна – Уитни. Для проведения корреляционного анализа использовали метод Спирмена. Выбранный критический уровень значимости равнялся 5 % (0,05).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка параметров системы нейроэндокринной регуляции у женщин репродуктивного возраста русской этнической группы с МС показала повышенные уровни ТТГ ( $p = 0,010$ ), ИСА ( $p < 0,001$ ) и более низкие значения ГСПГ ( $p < 0,001$ ) в сравнении с контролем; у женщин группы с МС и СПКЯ – более высокие уровни АМГ ( $p = 0,030$ ), Тс ( $p = 0,026$ ), ИСА ( $p < 0,0001$ ), ДГЭА-С ( $p < 0,0001$ ), сниженный уровень ГСПГ ( $p < 0,0001$ ) по отношению к контролю (табл. 1). Кроме того, были выявлены высокие уровни АМГ ( $p < 0,001$ ), Тс ( $p = 0,030$ ), ИСА ( $p < 0,001$ ), ДГЭА-С ( $p < 0,0001$ ) и сниженный уровень ГСПГ ( $p = 0,001$ ) у женщин с МС и СПКЯ в сравнении с группой с МС (табл. 1).

В группе женщин бурятской этнической группы с МС регистрировались более высокие значения ИСА ( $p = 0,046$ ) в сравнении с контролем; с МС и СПКЯ – повышенные значения АМГ ( $p = 0,045$ ), Тс ( $p = 0,002$ ), ИСА

**ТАБЛИЦА 1**  
**ПАРАМЕТРЫ СИСТЕМЫ НЕЙРОЭНДОКРИННОЙ РЕГУЛЯЦИИ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ С СИНДРОМОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭТНИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ, МЕ [Q25; Q75]**

**TABLE 1**  
**PARAMETERS OF NEUROENDOCRINE REGULATION SYSTEM IN WOMEN OF REPRODUCTIVE AGE WITH METABOLIC SYNDROME AND COMBINATION OF METABOLIC SYNDROME AND POLYCYSTIC OVARY SYNDROME DEPENDING ON THEIR ETHNICITY, ME [Q25; Q75]**

Параметры	Русская этническая группа			Бурятская этническая группа			p
	Контроль (n = 68)	МС (n = 209)	МС + СПКЯ (n = 23)	Контроль (n = 24)	МС (n = 84)	МС + СПКЯ (n = 10)	
	1	2	3	4	5	6	
ТТГ, мЕД/мл	1,40 [0,90; 1,85]	1,50 [1,10; 2,20]	1,70 [1,10; 2,30]	1,90 [1,45; 2,95]	1,40 [1,00; 2,00]	1,7 [1,30; 2,70]	1–2
ПРЛ, мЕД/л	310,0 [231,0; 389,0]	300,0 [224,0; 385,0]	338,0 [238,0; 447,0]	427,5 [371,0; 560,0]	383,1 [258,0; 518,5]	389,0 [245,0; 569,0]	1–4 2–5
АМГ, нг/мл	3,9 [2,25; 3,95]	3,90 [2,60; 3,90]	4,3 [2,20; 8,70]	3,35 [1,15; 3,90]	3,90 [1,55; 3,90]	3,25 [1,10; 6,40]	1–3 2–3 4–6
Тс, пг/мл	296,9 [202,1; 376,4]	257,1 [152,3; 348,9]	392,2 [267,6; 606,2]	231,7 [159,7; 292,8]	275,5 [178,1; 345,1]	356,4 [312,4; 387,5]	1–3 2–3 4–6
ГСПГ, нмоль/л	76,1 [58,2; 123,6]	55,2 [33,8; 81,8]	32,5 [25,9; 42,30]	64,4 [41,7; 102,0]	56,4 [38,1; 81,8]	36,3 [23,0; 40,0]	1–2 1–3 2–3 4–6 5–6
ИСА	2,09 [1,05; 3,22]	3,09 [1,55; 4,36]	7,66 [3,91; 10,75]	1,72 [1,36; 2,76]	2,8 [1,64; 4,08]	7,64 [5,29; 8,16]	1–2 1–3 2–3 4–5 4–6
17-ОН-Пр., нмоль/л	5,58 [3,50; 7,55]	5,10 [2,50; 6,60]	5,0 [3,70; 8,80]	5,25 [2,25; 8,15]	4,85 [2,25; 6,60]	2,45 [1,90; 5,00]	3–6 4–6
ДГЭА-С, мкг/дл	162,5 [123,5; 200,5]	178,0 [106,0; 220,0]	334,0 [193,0; 443,0]	145,0 [106,8; 178,0]	163,0 [125,0; 187,5]	187,5 [168,0; 286,0]	1–3 2–3 3–6 4–6 5–6

( $p < 0,0001$ ), ДГЭА-С ( $p = 0,033$ ), и сниженные уровни ГСПГ ( $p = 0,016$ ) и 17-ОН-Пр. ( $p = 0,027$ ) (табл. 1). У женщин с МС и СПКЯ по сравнению с группой с МС был повышен уровень ДГЭА-С ( $p = 0,006$ ) и снижен уровень ГСПГ ( $p = 0,028$ ).

Этнические особенности в системе нейроэндокринной регуляции определялись в контрольных группах женщин – в отношении более высоких показателей ПРЛ ( $p < 0,001$ ) у женщин бурятского этноса в сравнении с русскими. В группе женщин бурятского этноса с МС отмечался более высокий уровень ПРЛ ( $p = 0,039$ ), в группе с МС и СПКЯ – более низкие уровни 17-ОН-Пр. ( $p = 0,017$ ) и ДГЭА-С ( $p = 0,030$ ), чем в соответствующих группах русских женщин (табл. 1).

#### Нежелательные явления

В исследовании отсутствовали случаи нежелательных явлений.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

До сих пор остаются невыясненными многие аспекты патогенеза МС, в частности ряд метаболических проявлений и механизмы их формирования в репродуктивном возрасте. В данном случае определённое влияние на организм женщины оказывают изменения в системе нейроэндокринной регуляции, в особенности гипофизарно-яичникового звена [16, 17]. Последние могут по-

влечь ослабление чувствительности к инсулину, соответствующие нарушения углеводного обмена и т. д. [18, 19]. Данные о влиянии МС на уровень половых гормонов и репродуктивную функцию у женщин довольно противоречивы, однако в большей части исследований подтверждается негативное влияние МС как фактора риска бесплодия [20].

В свою очередь дисбаланс соотношения половых гормонов (как эстрогенов, так и андрогенов) может провоцировать инсулинорезистентность, изменять метаболизм липидов и липопротеидов при МС [18, 21].

Действие половых стероидов обеспечивается свободными фракциями, связанными с ГСПГ. Вследствие наличия в молекуле одного связывающего участка ГСПГ выполняет функцию связывания и транспортировки половых гормонов, и, вероятно, снижение его уровня не может являться благоприятным фактором [10]. У женщин с МС русской и бурятской этнических групп более низкие значения ГСПГ способствовали росту значений ИСА.

Потенциальное влияние гиперандрогемии на метаболические нарушения является предметом интереса многих исследователей [5, 6, 11]. Показано, что ИСА положительно коррелирует с ИМТ, соотношением талия/бедро, % жира, артериальным давлением, уровнем триглицеридов, ДГЭА-С, индексом инсулинорезистентности НОМА-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance) [22]. Нами также установлен рост значений ИСА у представительниц бурятской этнической группы с МС, что может быть обусловлено, в том числе, этническим фактором. Так, поперечное когортное исследование женщин репродуктивного возраста китайской популяции обнаружило тесную взаимосвязь данного индекса с ИМТ, а гиперандрогенные женщины имели более высокий риск метаболических расстройств [23]. Этнические различия у женщин с МС касались более высоких значений ПРЛ у представительниц бурятского этноса в сравнении с русскими. Недавними исследованиями показано, что у азиатов с ожирением показатель инсулинорезистентности жировой ткани может являться независимым предиктором гиперпролактинемии, которая в свою очередь рассматривается как компенсаторная реакция, способствующая снижению метаболических расстройств [23].

В нашем исследовании установлено, что изменения в системе нейроэндокринной регуляции в группах женщин с МС и СПКЯ были более интенсивными независимо от этнической принадлежности. Так, отмечен рост уровней АМГ, Тс, ИСА, ДГЭА-С и снижение уровня ГСПГ у женщин русского этноса с МС и СПКЯ с аналогичными проявлениями у представительниц бурятского этноса относительно контроля. В то же время у русских женщин сочетанный синдром обнаруживал большее количество гормональных изменений в сравнении с моносиндромом.

В настоящее время установлено, что женщины с СПКЯ имеют большой риск появления МС. Повышенная распространённость МС обычно наблюдается у женщин с СПКЯ с сопутствующими избыточным весом или ожирением [24, 25]. Причём значительный вклад в гетерогенность распространённости МС при СПКЯ вносят метабо-

лические показатели и факторы (ЛПВП, триглицериды, АД, ИМТ, толерантность к глюкозе и суррогатные маркеры инсулинорезистентности (НОМА-IR)), но не маркеры репродуктивной функции [25].

Основные исследования в области СПКЯ указывают на ведущую роль ИР с компенсаторной гиперинсулинемией или без неё в отношении стимуляции секреции андрогенов яичниками/надпочечниками [26]. Дисфункциональная белая жировая ткань была показана основным фактором, способствующим ИР при СПКЯ [27]. Экологические и генетические/эпигенетические факторы также могут играть важную роль в развитии МС при СПКЯ [2, 4, 5, 24, 25]. С другой стороны, инсулинорезистентность и избыток инсулина являются максимально важными механизмами развития гиперандрогемии [28]. По большей части это происходит вследствие того, что в состоянии избыточного веса/ожирения адипозитопатия способствует резистентности периферического инсулина, компенсаторной гиперинсулинемии, избыточной выработке андрогенов [26]. Кроме того, инсулин дополнительно облегчает секрецию андрогенов надпочечниками. В свою очередь андрогены способствуют нарушению функции жировой ткани, что порождает порочный круг, способствуя развитию тканевого и висцерального ожирения. С этой точки зрения, основополагающее значение для развития МС имеют ожирение, абдоминальное ожирение и инсулинорезистентность [26]. В настоящее время отмечена тенденция к снижению инсулинового ответа у азиатских женщин [29].

В целом распространённость резистентности к инсулину у пациентов с СПКЯ варьируется в зависимости от используемого индекса и порогового значения, но женщины-азиатки с СПКЯ показали более высокую степень резистентности к инсулину, чем женщины из контрольной группы, независимо от этнической принадлежности [30].

Этнические различия при наличии сочетанного синдрома МС и СПКЯ обнаруживались в отношении более низких значений 17-ОН-Пр. и ДГЭА-С у женщин бурятского этноса в сравнении с русскими. Женщины с СПКЯ, как правило, более склонны к гипертрофии висцерального жира при наличии избытка андрогенов, а наличие этих состояний связано с резистентностью к инсулину и ухудшает фенотип СПКЯ [4]. Нарушенная секреция многих веществ, полученных из адипоцитов (адипокинов), связана с хроническим воспалением и способствует резистентности к инсулину [5].

Вероятно, у русских женщин с МС и СПКЯ изменения гормонального профиля носят более выраженный характер, что может повлечь за собой негативные последствия в плане дальнейшего течения заболевания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У женщин с МС, ассоциированным с гиперандрогенизмом, вне зависимости от этнической принадлежности отмечались более интенсивные изменения в системе нейроэндокринной регуляции относительно контроль-

ных значений. У русских женщин сочетанный синдром (МС с СПКЯ) сопровождался большим количеством гормональных изменений в сравнении с моносиндромом (МС), чем у женщин бурятского этноса. Этнические различия заключались в более низких значениях 17-ОН-Пр. и ДГЭА-С у женщин бурятского этноса в сравнении с русскими. Полученные данные указывают на необходимость оценки и контроля содержания данных метаболитов у женщин с МС и СПКЯ с учётом этнической принадлежности.

#### Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» в рамках государственной темы «Патофизиологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах».

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kayumov UK, Matmuratova SO, Khatamova DT, Saipova ML. Metabolic syndrome in women of childbearing age state of the main components. *Central Asian Journal of Medical and Natural Science*. 2023; 4(5): 959-963. doi: 10.17605/cajmnsv4i5.1948
2. Kim MJ, Lim NK, Choi YM, Kim JJ, Hwang KR, Chae SJ, et al. Prevalence of metabolic syndrome is higher among non-obese PCOS women with hyperandrogenism and menstrual irregularity in Korea. *PLoS One*. 2014; 9(6): e99252. doi: 10.1371/journal.pone.0099252
3. Беленькая Л.В., Даренская М.А., Колесников С.И., Шолохов Л.Ф., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., и др. Метаболический синдром у женщин репродуктивного возраста различных этнических групп. Нейроэндокринный статус и система липопероксидации. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2024; 177(6): 683-688. [Belenkaya LV, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Sholokhov LF, Danusevich IN, Lazareva LM, et al. Metabolic syndrome in reproductive age women of various ethnic groups. Neuroendocrine status and lipid peroxidation system. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2024; 177(6): 683-688. (In Russ.)]. doi: 10.47056/0365-9615-2024-177-6-683-688
4. Delitala AP, Capobianco G, Delitala G, Cherchi PL, Dessole S. Polycystic ovary syndrome, adipose tissue and metabolic syndrome. *Arch Gynecol Obstet*. 2017; 296: 405-419. doi: 10.1007/s00404-017-4429-2
5. Chen W, Pang Y. Metabolic syndrome and PCOS: Pathogenesis and the role of metabolites. *Metabolites*. 2021; 11(12): 869. doi: 10.3390/metabo11120869
6. Engmann L, Jin S, Sun F, Legro RS, Polotsky AJ, Hansen KR, et al. Racial and ethnic differences in the polycystic ovary syndrome metabolic phenotype. *Am J Obstet Gynecol*. 2017; 216(5): 493-e1. doi: 10.1016/j.ajog.2017.04.007
7. Suturina L, Lizneva D, Lazareva L, Danusevich I, Nadeliaeva I, Belenkaya L, et al. Ethnicity and the prevalence of polycystic ovary syndrome: The Eastern Siberia PCOS epidemiology and phenotype study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2024; dga424. doi: 10.1210/clinem/dga424
8. Wolf WM, Wattick RA, Kinkade ON, Olfert MD. Geographical prevalence of polycystic ovary syndrome as determined by region and race/ethnicity. *Int J Environ Res Public Health*. 2018; 15(11): 2589. doi: 10.3390/ijerph15112589
9. Dubey P, Reddy SY, Alvarado L, Manuel SL, Dwivedi AK. Prevalence of at-risk hyperandrogenism by age and race/ethnicity among females in the United States using NHANES III. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2021; 260: 189-197. doi: 10.1016/j.ejogrb.2021.03.033
10. Zhu JL, Chen Z, Feng WJ, Long SL, Mo ZC. Sex hormone-binding globulin and polycystic ovary syndrome. *Clin Chim Acta*. 2019; 499: 142-148. doi: 10.1016/j.cca.2019.09.010
11. Kanbour SA, Dobs AS. Hyperandrogenism in women with polycystic ovarian syndrome: Pathophysiology and controversies. *Androg Clin Res Ther*. 2022; 3(1): 22-30. doi: 10.1089/andro.2021.0020
12. Даренская М.А. Особенности метаболических реакций у коренного и пришлого населения Севера и Сибири. *Acta biomedica scientifica*. 2014; 2(96): 97-103. [Darenskaya MA. Peculiarities of metabolic reactions in indigenous and migrant populations of the North and Siberia. *Acta biomedica scientifica*. 2014; 2(96): 97-103. (In Russ.)].
13. Беленькая Л.В., Сутурина Л.В., Даренская М.А., Атаян А.В., Лазарева Л.М., Надеяева Я.Г., и др. Возрастные детерминанты метаболического синдрома у женщин репродуктивного возраста основных этнических групп Прибайкалья. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(4): 39-48. [Belenkaya LV, Suturina LV, Darenskaya MA, Atalyan AV, Lazareva LM, Nadelyaeva IG, et al. Age-related determinants of the metabolic syndrome in women of reproductive age of the main ethnic groups of the Baikal Region. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(4), 39-48. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2023-8.4.5
14. Мычка В.Б., Верткин А.Л., Вардаев Л.И., Дружиллов М.А., Ипаткин Р.В., Калинин А.Л., и др. Консенсус экспертов по междисциплинарному подходу к ведению, диагностике и лечению больных с метаболическим синдромом. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2013; 12(6): 41-82. [Mychka VB, Vertkin AL, Vardaev LI, Druzhilov MA, Ipatkin RV, Kalinkin AL, et al. Experts' consensus on the interdisciplinary approach towards the management, diagnostics, and treatment of patients with metabolic syndrome. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2013; 12(6): 41-82. (In Russ.)].
15. Rotterdam EA-SPcwg. Revised 2003 (2004) 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
16. Вильсон Н.И., Беленькая Л.В., Шолохов Л.Ф., Игумнов И.А., Надеяева Я.Г., Сутурина Л.В. Метаболический синдром: эпидемиология, критерии диагностики, расовые особенности. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 180-191. [Wilson NI, Belenkaya LV, Sholokhov LF, Igumnov IA, Nadelyaeva YaG, Suturina LV. Metabolic syndrome: Epidemiology, diagnostic criteria, racial characteristics. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(4): 180-191. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.16

17. Агарков Н.М., Титов А.А., Корнеева С.И., Коломиец В.И., Аксёнов В.В., Колпина Л.В. Метаболический синдром как актуальная проблема здравоохранения (аналитический обзор). *Здравоохранение Российской Федерации*. 2023; 67(2): 136-141. [Agarkov NM, Titov AA, Korneeva SI, Kolomiets VI, Ak-senov VV, Kolpina LV. Metabolic syndrome as an actual health problem (analytical review). *Health Care of the Russian Federation*. 2023; 67(2): 136-141. (In Russ.)]. doi: 10.47470/0044-197X-2023-67-2-136-141
18. Соснова Е.А. Метаболический синдром. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева*. 2016; 3(4): 172-180. [Sosnova E.A. Metabolic syndrome. *V.F. Snegirev Archives of Obstetrics and Gynecology*. 2016; 3(4): 172-180. (In Russ.)]. doi: 10.18821/2313-8726-2016-3-4-172-180
19. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Nikitina OA, Lazareva LM, et al. Activity of LPO processes in women with polycystic ovarian syndrome and infertility. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017; 162(3): 320-322. doi: 10.1007/s10517-017-3605-5
20. Zhou L, Han L, Liu M, Lu J, Pan S. Impact of metabolic syndrome on sex hormones and reproductive function: A meta-analysis of 2923 cases and 14062 controls. *Aging (Albany NY)*. 2021; 13(2): 1962. doi: 10.18632/aging.202160
21. Круско О.В., Шолохов Л.Ф., Беленькая Л.В., Рашидова М.А., Данусевич И.Н., Надеяева Я.Г., и др. Особенности функционального состояния гипофизарно-яичниковой системы у женщин с синдромом поликистозных яичников в различные периоды репродуктивного возраста. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2020; 75(6): 653-660. [Krusko OV, Sholokhov LF, Belenkaya LV, Rashidova MA, Danusevich IN, Nadelyaeva YG, et al. Features of the functional state of the pituitary-ovarian systems in women with polycystic ovary syndrome at different periods of reproductive age. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2020; 75(6): 653-660. (In Russ.)]. doi: 10.15690/vramn1251
22. Li H, Xu X, Wang X, Liao X, Li L, Yang G, et al. Free androgen index and Irisin in polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest*. 2016; 39: 549-556. doi: 10.1007/s40618-015-0403-7
23. Liu J, Wang Q, Zhang L, Fu J, An Y, Meng H, et al. Increased prolactin is an adaptive response to protect against metabolic disorders in obesity. *Endocr Pract*. 2021; 27(7): 728-735. doi: 10.1016/j.eprac.2021.01.002
24. Spinedi E, Cardinali DP. The polycystic ovary syndrome and the metabolic syndrome: A possible chronobiotic-cyto-protective adjuvant therapy. *Int J Endocrinol*. 2018; 1: 1349868. doi: 10.1155/2018/1349868
25. Lim SS, Kakoly NS, Tan JWJ, Fitzgerald G, Bahri Khomami M, Joham AE, et al. Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: A systematic review, meta-analysis and meta-regression. *Obes Rev*. 2019; 20(2): 339-352. doi: 10.1111/obr.12762
26. Behboudi-Gandevani S, Ramezani Tehrani F, Rostami Dvovom M, Farahmand M, Bahri Khomami M, Noroozadeh M, et al. Insulin resistance in obesity and polycystic ovary syndrome: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *Gynecol Endocrinol*. 2016; 32(5): 343-353. doi: 10.3109/09513590.2015.1117069
27. Pasquali R. Metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome. *Front Horm Res*. 2018; 49: 114-130. doi: 10.1159/000485995
28. Saldívar Cerón HI, Castañeda Ramírez AE, Quiñones LE, Vargas Camacho JA, López Desidero NG. Relationship between polycystic ovary syndrome and metabolic syndrome. *Journal of Reproduction*. 2023; 2(1): 5-14.
29. Kim JJ, Choi YM. Phenotype and genotype of polycystic ovary syndrome in Asia: Ethnic differences. *J Obstet Gynaecol Res*. 2019; 45(12): 2330-2337. doi: 10.1111/jog.14132
30. Chahal N, Quinn M, Jaswa EA, Kao CN, Cedars MI, Huddlestone HG. Comparison of metabolic syndrome elements in White and Asian women with polycystic ovary syndrome: Results of a regional, American cross-sectional study. *FS Rep*. 2020; 1(3): 305-313. doi: 10.1016/j.xfre.2020.09.008

#### Сведения об авторах

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

**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>

**Колесников Сергей Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; специалист управления развития науки, ФГАУ ВО «Государственный университет просвещения», e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

**Шолохов Леонид Фёдорович** – 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>

**Данусевич Ирина Николаевна** – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: danusevich@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

**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>

**Надеяева 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>

**Колесникова Любовь Ильинична** – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

#### Information about the authors

**Marina A. Darenskaya** – Dr. Sc. (Biol.), Professor of the RAS, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Pathophysiology “Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems”, e-mail: marina\_darenskaya@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

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

**Sergey I. Kolesnikov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Leading Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Specialist at the Department of the Advancement of Science, Federal State University of Education, e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

**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>

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

**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>

**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>

**Lubov I. Kolesnikova** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Academic Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИОПРОТЕКТОРОВ В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Омельчук Н.Н.<sup>1</sup>,  
Симаков Ю.Г.<sup>2</sup>,  
Волкова Л.В.<sup>3</sup>,  
Попадюк В.И.<sup>1</sup>,  
Анисимова О.В.<sup>1</sup>,  
Хилько Т.Н.<sup>1</sup>,  
Чернова О.Э.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, Россия)

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского» (109004, г. Москва, ул. Земляной Вал, 73, Россия)

<sup>3</sup> НОЧУ ВО «Московский финансово-промышленный университет «Синергия» (125190, г. Москва, Ленинградский просп., 80Г, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
**Омельчук Надежда Николаевна**,  
e-mail: kklid-fpkmr-nom@mail.ru

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Радиобиологические исследования, посвящённые химическим радиопротекторам, являются актуальными при исследовании радиационных поражений и в практической медицине при лучевой терапии онкологических пациентов. Подбор оптимальной экспериментальной модели необходим для оценки влияния радиопротекторов на гемопоэз и является важной задачей.

**Цель исследования.** Анализ возможности применения рыб *Danio rerio* как тест-объекта для оценки эффективности защитного действия радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью проведения эритроцитарного микроядерного теста.

**Материал и методы.** Работа проведена на аквариумных рыбах *Danio rerio*. Семь групп двухмесячной молоди рыб *Danio* ( $n = 35$ ), а также взрослые рыбы подвергались воздействию рентгеновского излучения в дозах 0 Гр (контроль), 1,0 Гр, 2,0 Гр, 3,0 Гр, 4,0 Гр, 6,0 Гр и 8,0 Гр для определения частоты встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови через 72 часа после облучения.

**Результаты.** Значения частоты встречаемости микроядер в эритроцитах *Danio rerio* носили дозозависимый характер. У молоди, как и у взрослых рыб, увеличение дозы ионизирующего облучения до 4 Гр приводило к резкому увеличению частоты встречаемости микроядер в эритроцитах. Взрослые *Danio rerio* были более радиорезистентными: количество образующихся в эритроцитах микроядер у двухмесячной молоди превосходило частоту встречаемости микроядер у взрослых рыб.

**Заключение.** Модель с использованием молоди рыб *Danio rerio* как лабораторного тест-объекта для оценки эффективности защитного действия радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью проведения эритроцитарного микроядерного теста может быть рекомендована для апробации действия медицинских препаратов при поражениях радиацией, а также при оценке возможности их применения при лучевой терапии у онкологических больных.

**Ключевые слова:** радиобиология, биоиндикация радиопротекторов, ионизирующая радиация, *in vivo* модели, рыбы *Danio rerio*, микроядерный тест в эритроцитах

Статья поступила: 03.04.2024

Статья принята: 12.09.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Омельчук Н.Н., Симаков Ю.Г., Волкова Л.В., Попадюк В.И., Анисимова О.В., Хилько Т.Н., Чернова О.Э. Экспериментальная модель для оценки эффективности радиопротекторов в биомедицинских исследованиях. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 159-167. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.17

## EXPERIMENTAL MODEL FOR ASSESSING THE EFFECTIVENESS OF RADIOPROTECTORS IN BIOMEDICAL RESEARCH

Omelchuk N.N.<sup>1</sup>,  
Simakov Yu.G.<sup>2</sup>,  
Volkova L.V.<sup>3</sup>,  
Popadyuk V.I.<sup>1</sup>,  
Anisimova O.V.<sup>1</sup>,  
Khilko T.N.<sup>1</sup>,  
Chernova O.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia  
(Miklukho-Maklaya str. 6, Moscow 117198,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> K.G. Razumovsky Moscow State University  
of Technologies and Management  
(the First Cossack University)  
(Zemlyanoy Val str. 73, Moscow 109004,  
Russian Federation)

<sup>3</sup> Synergy University  
(Leningradsky Ave. 80G, Moscow 125190,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
**Nadezhda N. Omelchuk**,  
e-mail: kklld-fpkmr-nom@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** Radiobiological research on chemical radioprotectors is relevant in the study of radiation injuries and in practical medicine during radiation therapy of cancer patients. Selection of the optimal experimental model is necessary to assess the effect of radioprotectors on hematopoiesis and is an important task.

**The aim.** Analysis of the possibility of using *Danio rerio* fish as a test object for assessing the effectiveness of the protective effect of radioprotectors against ionizing radiation using an erythrocyte micronucleus test.

**Material and methods.** The work was carried out on *Danio rerio* aquarium fish. Seven groups of two-month-old zebrafish juveniles ( $n = 35$ ), as well as adult fish, were exposed to X-ray radiation at doses of 0 Gy (control), 1.0 Gy, 2.0 Gy, 3.0 Gy, 4.0 Gy, 6.0 Gy, 8.0 Gy to determine the frequency of occurrence of micronuclei in peripheral blood erythrocytes 72 hours after irradiation.

**Results.** The frequency of occurrence of micronuclei in *Danio rerio* erythrocytes was dose-dependent. In juveniles, as in adult fish, the dose of ionizing radiation increased to 4 Gy led to a sharp increase in the frequency of occurrence of micronuclei in erythrocytes. Adult *Danio rerio* were more radioresistant; the number of micronuclei formed in erythrocytes in two-month-old juveniles exceeded the frequency of occurrence of micronuclei in adult fish.

**Conclusion.** A model using juvenile fish *Danio rerio* as a laboratory test object for assessing the effectiveness of the protective effect of radioprotectors against ionizing radiation using the erythrocyte micronucleus test can be recommended for testing the effect of medications in case of radiation injuries, as well as for assessing the possibility of their use in radiation therapy in cancer patients.

**Key words:** radiobiology, bioindication of radioprotectors, ionizing radiation, in vivo models, *Danio rerio* fish, micronucleus test in erythrocytes

Received: 03.04.2024

Accepted: 12.09.2024

Published: 22.11.2024

**For citation:** Omelchuk N.N., Simakov Yu.G., Volkova L.V., Popadyuk V.I., Anisimova O.V., Khilko T.N., Chernova O.E. Experimental model for assessing the effectiveness of radioprotectors in biomedical research. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 159-167. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.17

## ВВЕДЕНИЕ

Медицинские радиобиологические исследования, посвящённые радиорезистентным свойствам противолучевых средств – химических радиопротекторов, являются актуальными как при исследовании радиационных поражений, так и в практической медицине при лучевой терапии онкологических пациентов.

Первым этапом тестирования химических радиопротекторов для оценки их эффективности у человека является изучение влияния этих препаратов на экспериментальных моделях – облучённых животных. Ранее нами проводился цикл экспериментов по определению эффекта химического радиопротектора РС-10 (хитозана битартрата) на животных [1, 2].

Тем не менее, подбор оптимальной экспериментальной модели для медицинского радиобиологического эксперимента по определению влияния радиопротекторов остаётся крайне актуальным, а методика оценки увеличения частоты встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови, которое указывает на повышение хромосомных aberrаций при эритропоэзе, представляется надёжной и перспективной. Ранее в радиобиологии в качестве экспериментальных животных наиболее часто использовали млекопитающих, однако в последнее время для создания и изучения лекарственных средств всё больше исследований выполняется на аквариумной рыбе *Danio rerio* [3]. Данио обладает следующими преимуществами по сравнению с другими модельными организмами в радиобиологии: 1) у данио отмечается высокая степень функциональной гомологии генома с геномом млекопитающих, в том числе и с геномом человека [4, 5]; 2) приёмы содержания рыб доросло полностью отработаны, а стоимость одной особи во много раз ниже стоимости мыши или крысы [6–8]; 3) зародыши, мальки рыб и молодые особи *Danio rerio* полностью прозрачны, что позволяет исследовать многие функции, в том числе и с помощью фото- и киносъёмки [9, 10]; 4) большим преимуществом для радиобиологов, работающих в области гидробиологии, является то, что у данио развитие зародышей происходит в икре и отсутствует живорождение, характерное для многих видов аквариумных рыб, при этом у них короткий период раннего онтогенеза, все предшественники основных органов появляются через 24 ч после оплодотворения, и рыбы обычно достигают репродуктивной зрелости в течение 3–6 месяцев после оплодотворения [10, 11]; 5) у данного вида рыб отмечается высокая чувствительность к химическим и физическим мутагенным факторам, к действию ионизирующей радиации [6, 11, 12], что учитывается при скрининге антимикробных соединений, других лекарственных соединений, изучении радиационных воздействий; 6) *Danio rerio* наделены высокой способностью к регенерации органов и тканей – у них возможна регенерация даже значительной части удалённой ткани сердца [13]. Это только часть преимуществ *Danio rerio*, однако для исследований в области радиобиологии самым важным является такое свойство молодёжи данного вида рыб, как высокая чувствительность процессов клеточной пролифе-

рации к ионизирующему облучению во время эритропоэза, возрастание хромосомных aberrаций в эритроцитах, выявляемых микроядерным тестом.

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Анализ возможности применения рыб *Danio rerio* как тест-объекта для оценки эффективности защитного действия радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью проведения эритроцитарного микроядерного теста.

Согласно этой цели была поставлена задача – выбрать наиболее оптимальный режим облучения с учётом возрастных особенностей *Danio rerio* при испытании защитных свойств радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью оценки частоты встречаемости микроядер в эритроцитах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для определения эффективности защитных свойств радиопротекторов различной химической природы на хромосомном уровне проведено исследование с использованием микроядерного теста (МЯТ) на эритроцитах крови лабораторной рыбы (*Danio rerio*), которая широко используется как классический тест-объект при определении генотоксичности веществ и при действии ионизирующего облучения [14]. Применение МЯТ можно считать обоснованным, так как это позволяет выявить интегральное действие радиации на клеточном и хромосомном уровнях и определить степень защиты генома исследуемым протектором. Тест МЯТ на эритроцитах рыб включён в методические указания по установлению эколого-рыбохозяйственных нормативов, утверждённые приказом Росрыболовства от 04.08.2009 № 695 и Министерством сельского хозяйства РФ (с дополнениями от 2016 г.) [15], и может обоснованно применяться как при определении генотоксичности веществ, загрязняющих водоёмы, так и для оценки степени защиты от радиационного поражения клеточного и хромосомного аппарата радиопротекторами. Микроядерный тест широко используется и в биомедицинских исследованиях [16, 17]. В работе использовались пресноводные аквариумные рыбы *Danio rerio* мужского и женского пола. Для исследования одной дозы облучения брали 5 особей двухмесячной молодёжи без дифференцировки по половому признаку и 7 групп взрослых рыб по 5 особей в каждой, совместно самцов и самок (два самца и три самки). Объём воды в каждом аквариуме составлял 3 литра. Кормление рыб осуществлялось французским кормом «Esturgeon» с размером гранул 200–300 микрон. Для определения встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови молодёжь данио ( $n = 35$ ) и взрослых рыб подвергали воздействию рентгеновского излучения. Облучение проводили с использованием рентгеновского аппарата «РУМ-17» (Россия) с мощностью 0,33 Гр/мин. В контроле особи не об-

лучались, но с ними проводились все те же манипуляции, кроме облучения. Взрослые и молодёжь данио получили следующие дозы облучения: 0 Гр (контроль); 1,0 Гр; 2,0 Гр; 3,0 Гр; 4,0 Гр; 6,0 Гр; 8,0 Гр. Группы рыб под номерами 5 и 6 были облучены дозами 6 Гр и 8 Гр соответственно. Рыбы облучались в чашках Петри в тонком слое воды и возвращались обратно в свои аквариумы. Кровь брали через 72 часа после облучения путём отрезания хвостового стебля, что давало возможность получить небольшую каплю крови; готовили мазок на предметном стекле, который фиксировали смесью Никифорова (этанол – эфир 1:1) в течение 30 мин, а затем окрашивали азур II-эозином по Романовскому [18]. Для соблюдения биоэтики перед отрезанием хвостового плавника рыбам ножницами мгновенно отрезалась голова до уровня жаберного аппарата. Указанная методика позволяла избежать кровопотери и без того малого количества крови в организме молодёжь рыб. Из крови рыб, получивших одинаковую дозу облучения, изготавливали препараты, которые исследовали на частоту встречаемости микроядер в эритроцитах (на одном препарате подсчитывали частоту образования микроядер в 600 клетках), а в препаратах крови при одной дозе облучения определяли частоту встречаемости микроядер при обчёте 3000 клеток. Спектр доз облучения подобран так, что в него входили как недействующие дозы, применённые в группе взрослых рыб, так и дозы облучения, дающие статистически значимую разницу с контролем. Вычисляли среднее значение частоты встречаемости микроядер при каждой дозе облучения.

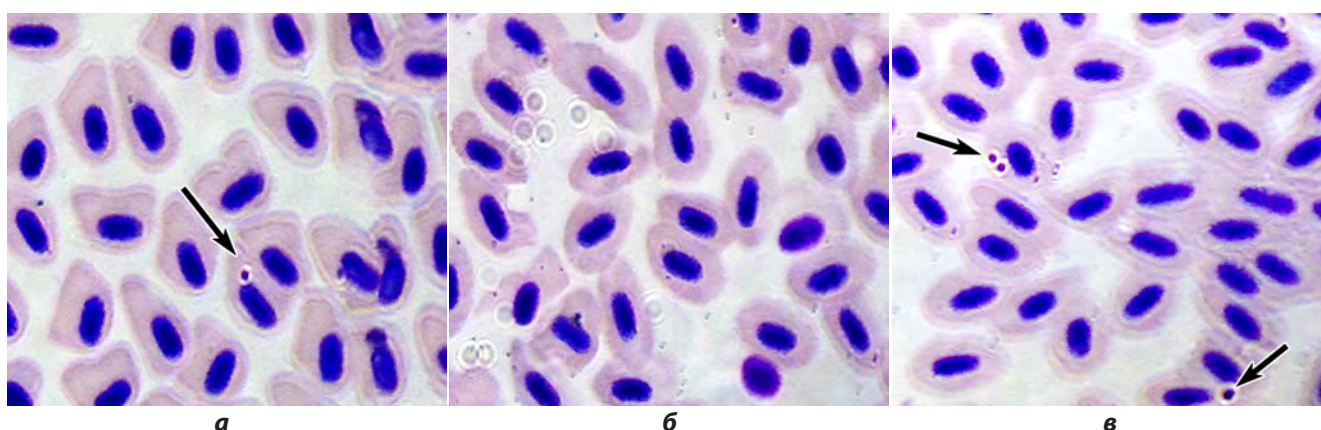
Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы MS Excel 2010 (Microsoft Corp., США). Данные по оценке микроядер включали по 3000 клеток на каждую дозу облучения во всех трёх группах: 1) контроль; 2) группа, состоящая из взрослых

рыб *Danio rerio*; 3) группа, включающая молодёжь *Danio rerio*. Результаты МЯТ носят дозозависимый характер, выборки являются репрезентативными [19]. С учётом нормальности распределения результатов МЯТ, чему соответствует большинство морфологических показателей [20], и объёма исследованных выборок, вычисляли значения среднего арифметического (М) и стандартной ошибки среднего (SEM, standard error of the mean). Статистическую значимость различий между сравниваемыми группами определяли с помощью параметрического критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава России № 266 от 19.06.2003. Исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (выписка из протокола № 27 от 18.04.2024).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Препараты, на которых проводился обсчёт клеток с микроядрами у молодёжь рыб в контроле при облучении дозами 3 и 4 Гр, представлены на рисунке 1. На контрольных препаратах в поле зрения микроскопа можно выявить 1–2 эритроцита, содержащих микроядра. Частота встречаемости микроядер у взрослых данио (0,45‰) и молодёжь рыб (0,48‰) была достаточно низкой (рис. 1а). В группах молодёжь рыб при воздействии рентгеновскими лучами в дозе 3 Гр имело место резкое снижение частоты



**РИС. 1.** Эритроциты в периферической крови молодёжь рыб *Danio rerio* в контроле (а) и через 72 часа после облучения в дозах 3 Гр (б) и 4 Гр (в): а – контроль; б – ингибирование образования микроядер после воздействия рентгеновскими лучами в дозе 3 Гр; в – повышение частоты встречаемости микроядер после облучения в дозе 4 Гр; микроядра обозначены стрелками. Окраска азур II-эозином по Романовскому, ув.  $\times 1500$

**FIG. 1.** Erythrocytes in the peripheral blood of juvenile fish *Danio rerio* in the control (а) and 72 hours after irradiation in doses of 3 Gy (б) and 4 Gy (в): а – control; б – inhibition of the formation of micronuclei after exposure to X-rays at a dose of 3 Gy; в – increase in the frequency of occurrence of micronuclei after irradiation at a dose of 4 Gy; micronuclei are indicated by arrows. Staining with Azure II-eosin by Romanovsky, magnification  $\times 1500$

ты встречаемости микроядер в эритроцитах – до 0,25 ‰, поэтому на препарате редко можно было встретить эритроцит с микроядром (рис. 1б); при дозе 4 Гр микроядер было больше, чем в контроле, и их частота доходила до 1,33 ‰ (рис. 1в).

Частота встречаемости микроядер в эритроцитах периферической крови разных групп рыб *Danio rerio* – в контроле (0 Гр) и при облучении 2,0 Гр, 3,0 Гр, 4,0 Гр, 6,0 Гр и 8,0 Гр представлена в таблице 1. Статистически значимые различия частоты встречаемости микроядер по сравнению с контролем найдены в группах рыб, облучённых дозами 4,0 Гр, 6,0 Гр и 8,0 Гр.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при дозе рентгеновского излучения 2 Гр как у взрослых рыб, так и у молоди отмечается падение частоты встречаемости в крови эритроцитов с микроядрами по сравнению с контролем. Увеличение дозы облучения до 3 Гр по-разному сказывается на образовании микроядер при эритропоэзе у взрослых рыб и у молоди. У половозрелых самцов и самок начинает возрастать количество эритроцитов с микроядрами, в то время как у молоди рыб частота встречаемости микроядер в эритроцитах продолжает падать и при 3 Гр достигает минимума (0,25 ‰). Увеличение дозы ионизирующего облучения до 4 Гр приводит к резкому подъёму частоты встречаемости микроядер в эритроцитах как у взрослых рыб, так и у молоди, причём частота встречаемости образующихся в эритроцитах микроядер у двухмесячной молоди рыб превосходит таковую у взрослых рыб. Начиная с дозы облучения 4 Гр частота встречаемости микроядер в эритроцитах у молоди

и у взрослых рыб начинает выходить на плато. Кривые, отражающие зависимость частоты встречаемости микроядер от дозы ионизирующего излучения, представлены на рисунке 2.

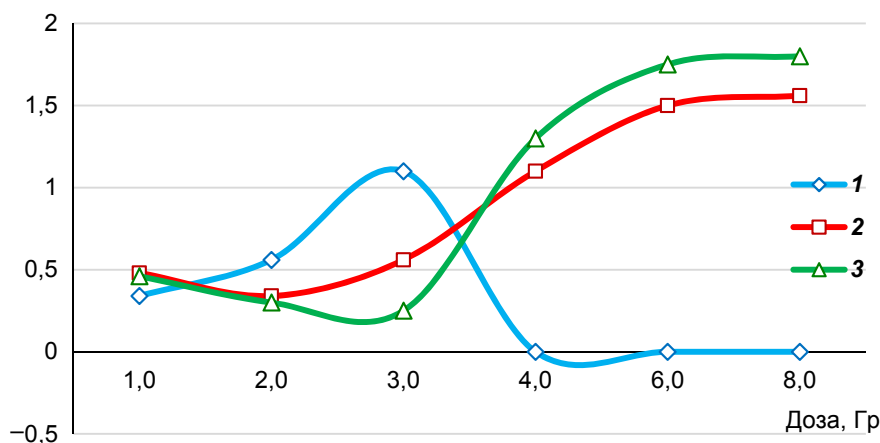
Микроядерный тест представляет собой тест-систему для определения мутагенности, используемую для обнаружения химических веществ и ионизирующего излучения, которые индуцируют образование мелких цитоплазматических фрагментов ДНК, затем они формируются в микроядра, расположенные в цитоплазме клетки. Микроядра в сущности позволяют выявлять мутации на хромосомном уровне и являются маркерами воздействия мутагенных факторов, связанных с разрывом хромосом [4]. В последние годы появляется всё больше работ, связанных с воздействием ионизирующего излучения и оценкой в МЯТ, в которых в качестве модельной тест-системы для оценки мутагенного воздействия рентгеновского излучения и  $\gamma$ -лучей, а также для изучения радиопротекторов предлагается использовать аквариумную рыбу *Danio rerio*. Чаще всего подобные работы проводятся на половозрелых взрослых рыбах, однако появились исследования и на данию, находящихся на эмбриональных стадиях развития [22]. Методика, предлагаемая в настоящей статье, является моделью для испытания радиопротекторов на молоди рыб, занимающей промежуточное положение в онтогенезе. Дозировку радиопротекторов на эмбриональных стадиях развития рыб можно осуществлять только путём внесения требуемых концентраций в воду. Однако точную дозу протектора можно ввести только путём инъекции или через пищеварительную систему. Инъекции

ТАБЛИЦА 1  
ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ МИКРОЯДЕР  
В ЭРИТРОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ РЫБ  
*DANIO RERIO* ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ  
РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

TABLE 1  
FREQUENCY OF OCCURRENCE OF MICRONUCLEI  
IN PERIPHERAL BLOOD ERYTHROCYTES OF *DANIO RERIO*  
FISH AFTER EXPOSURE TO VARIOUS DOSES OF X-RAY  
IRRADIATION

№ группы	Доза, Гр	Частота микроядер у взрослых особей (‰), M ± SEM	Критерий достоверности разницы, $t_d$	Частота микроядер у молоди (‰), M ± SEM	Критерий достоверности разницы, $t_d$
0	0,0	0,45 ± 0,08	–	0,48 ± 0,06	–
1	1,0	0,48 ± 0,07	2,01	0,46 ± 0,06	0,96
2	2,0	<b>0,34 ± 0,05</b>	<b>4,25</b>	<b>0,30 ± 0,09</b>	<b>5,71</b>
3	3,0	0,56 ± 0,07	1,47	<b>0,25 ± 0,07</b>	<b>3,82</b>
4	4,0	<b>1,10 ± 0,09</b>	стимуляция > 20 %	<b>1,33 ± 0,12</b>	стимуляция > 20 %
5	6,0	<b>1,50 ± 0,16</b>	стимуляция > 20 %	<b>1,75 ± 0,14</b>	стимуляция > 20 %
6	8,0	<b>1,56 ± 0,13</b>	стимуляция > 20 %	<b>1,80 ± 0,10</b>	стимуляция > 20 %

**Примечание.** Жирным шрифтом выделены результаты воздействия излучения, при которых различия с контролем статистически значимы (при  $p \leq 0,05$ ). Установлено, что при стимуляции биологического показателя  $\approx 20\%$  разницы с контролем статистически значима [15].

**РИС. 2.**

Частоты встречаемости микроядер в эритроцитах при различных дозах ионизирующего излучения в группах молоди и взрослых рыб *Danio rerio*: **1** – интенсивность образования микроядер в эритроцитах рыб в контрольной группе рыб, не подвергавшихся облучению; **2** – частота встречаемости микроядер в шести группах взрослых рыб, получающих дозы рентгеновских лучей от 1 до 8 Гр; **3** – частота встречаемости микроядер в шести группах молоди рыб, получающих дозы рентгеновских лучей от 1 до 8 Гр. Кривые построены соответственно линейно-квадратичному уравнению:  $y = K_1 \times x^2 - K_2 \times x + K_3$  где  $y$  – значение частоты встречаемости микроядер (промилле);  $x$  – доза (Гр);  $K_1$ ,  $K_2$  и  $K_3$  – числовые коэффициенты, рассчитанные для построения плавных кривых с помощью компьютерной графики (кривых Безье) для молоди и взрослых данлио [21]

**FIG. 2.**

Frequencies of occurrence of micronuclei in erythrocytes at different doses of ionizing radiation in groups of juvenile and adult fish *Danio rerio*: **1** – intensity of micronuclei formation in erythrocytes in the control group of fish that were not exposed to irradiation; **2** – frequency of occurrence of micronuclei in six groups of adult fish receiving various doses of X-rays from 1 to 8 Gray; **3** – frequency of occurrence of micronuclei in six groups of juvenile fish receiving different doses of X-rays from 1 to 8 Gray. The curves are plotted according to the linear-quadratic equation:  $y = K_1 \times x^2 - K_2 \times x + K_3$ , where  $y$  is the frequency of occurrence of micronuclei (ppm);  $x$  is the dose (Gy),  $K_1$ ,  $K_2$  and  $K_3$  – numerical coefficients calculated for constructing smooth curves using computer graphics (Bézier curves) for juvenile and adult zebrafish [21]

и введение эмбрионам рыб необходимых доз протекторов пока не осуществимы из-за малых размеров икринок, а используемые для испытания радиопротекторов взрослые рыбы, которым можно ввести необходимую дозу путём инъекции, менее чувствительны к облучению, чем особи на ранних стадиях онтогенеза. В связи с этим мы предлагаем биологическую модель для испытания радиопротекторов на молоди рыб, занимающей промежуточное положение в онтогенезе, когда интенсивность образования микроядер под влиянием ионизирующего излучения ещё высока, но уже появляется возможность инъектировать с помощью микрошприца необходимую дозу протектора. Помимо этого, применяемый в настоящем исследовании микроядерный тест является очень востребованным, так как учёные заинтересованы в оценке способности радиопротекторов предохранять от хромосомных повреждений. Индукция анеуплоидии или хромосомных перестроек в геноме является одной из причин врождённых дефектов, гибели особи и бесплодия животных. Микроядерный тест прост в проведении, а полученные биологические материалы могут храниться длительное время. МЯТ выполняется за короткое время, а при обработке полученных результатов возможно применение автоматических анализирующих систем для подсчёта клеток с микроядрами, что даёт возможность анализировать большие выборки [23].

При проведении экспериментальных работ, описанных в данной статье, выявлена ещё одна особенность, характерная для испытания радиопротекторов на такой модели, как микроядерный тест в эритроцитах *Danio rerio*. Несмотря на то, что МЯТ не позволяет непосредственно оценивать митотическую активность дифференцирующихся эритроцитов, тест даёт возможность косвенно судить об активности деления клеток во время кроветворения. На взрослых рыбах ранее было показано, что рентгеновское облучение в дозе 2 Гр приводит к статистически значимому снижению частоты встречаемости микроядер в эритроцитах. Повышение дозы облучения до 3 Гр приводит к увеличению частоты встречаемости микроядер по сравнению с контролем [4]. Однако в настоящей работе у взрослых рыб *Danio rerio* подобный эффект не выявлен. В нашей работе при рентгеновском облучении молоди рыб отмечено дальнейшее снижение встречаемости микроядер в эритроцитах, которое достигает минимума при дозе 3 Гр. Это может косвенно указывать на снижение митотической активности под влиянием указанной дозы рентгеновского облучения, при этом можно предположить, что в организме снижена митотическая активность клеток и, следовательно, образуется меньше микроядер во время митоза – наиболее чувствительного к ионизирующему излучению периода. Явление снижения митотическо-

го индекса и даже полное подавление пролиферации клеток происходят под влиянием рентгеновского излучения во многих тканях у рыб, амфибий и млекопитающих [24]. Таким образом, предлагаемая нами биологическая модель с использованием молоди *Danio rerio* может быть применена в радиобиологии для испытания защитных свойств радиопротекторов, оказаться перспективной для оценки уменьшения количества хромосомных aberrаций, а также для определения снижения уровня клеточной пролиферации в процессе эритропоэза. Подобные исследования по тестированию радиопротекторов ранее не проводились.

Установили, что низкие значения частот встречаемости микроядер, даже при облучении в дозах более 6 Гр, указывают на высокую радиорезистентность рыб *Danio rerio*. Помимо этого, отмечается стабильность появления микроядер при дозах более 6 Гр; при этом кривая частоты встречаемости микроядер в эритроцитах у взрослых особей и у молоди рыб выходит на плато. Настоящее исследование пока не даёт возможности раскрыть механизм этой закономерности. Однако полученные результаты сопоставимы с показателями, выявленными у других представителей семейства карповых: большого индийского карпа *Catla catla* и золотой рыбки *Carassius auratus* [25]. Форма дозозависимой кривой встречаемости микроядер в эритроцитах облучённых рыб продемонстрировала, что статистически значимые различия частот встречаемости микроядер наблюдаются только при воздействии облучения в дозах 4,0 Гр и более, и это также указывает на высокую радиорезистентность половозрелых рыб.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящей работе установили, что у молоди рыб *Danio rerio* радиочувствительность выше, она отличается от аналогичных показателей у взрослых рыб вследствие различного влияния ионизирующего излучения на клеточную пролиферацию в процессе эритропоэза. Вследствие этого двухмесячная молодь *Danio rerio* более перспективна как биологическая модель для определения эффективности защитных свойств радиопротекторов по сравнению со взрослыми особями. Модель с использованием молоди рыб *Danio rerio* как лабораторного тест-объекта для оценки эффективности защитного действия радиопротекторов от ионизирующего излучения с помощью проведения эритроцитарного микроядерного теста может быть рекомендована как начальный этап для апробации действия медицинских препаратов при поражениях радиацией, оценки возможности их применения при лучевой терапии у онкологических больных.

### Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Omelchuk N. Effect of the Rs-10 radioprotector on protein-steroid interaction in irradiated animals with biphasic adrenocortical response to irradiation. *Qubahan Academic Journal (QAJ)*. 2023; 3(4): 70-76. doi: 10.48161/qaj.v3n4a163
2. Omelchuk NN. Significance of corticosteroids binding to blood plasma proteins in the mechanism of the RS-10 radioprotector affecting the function of the adrenal cortex. *Gac Méd Caracas*. 2023; 131(3): 603-611. doi: 10.47307/GMC.2023.131.3.12
3. Hernández-Silva D, Alcaraz-Pérez F, Pérez-Sánchez H, Cayuela ML. Virtual screening and zebrafish models in tandem, for drug discovery and development. *Expert Opin Drug Discov*. 2023; 18(8): 903-915. doi: 10.1080/17460441.2022.2147503
4. Ливанова А.А., Завирский А.В., Кравцов В.Ю. *Danio rerio* как экспериментальная модель в радиобиологии. *Радиационная биология, радиоэкология*. 2020; 60(2): 163-174. [Livanova AA, Zavrisky AV, Kravtsov VYu. *Danio rerio* as an experimental model in radiobiology. *Radiation Biology, Radioecology*. 2020; 60(2): 163-174. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S0869803120020095
5. Dash SN, Patnaik L. Flight for fish in drug discovery: A review of zebrafish-based screening of molecules. *Biol Lett*. 2023; 19(8): 20220541. doi: 10.1098/rsbl.2022.0541
6. Cahill T, da Silveira WA, Renaud L, Williamson T, Wang H, Chung D, et al. Induced torpor as a countermeasure for low dose radiation exposure in a zebrafish model. *Cells*. 2021; 10(4): 906. doi: 10.3390/cells10040906
7. Есин Т.А. Определение некоторых характеристик *Danio rerio* как *in vivo* модели для радиобиологических исследований. *FORCIPE*. 2020; (2): 544-545. [Esin TA. Determining some characteristics of *Danio rerio* as an *in vivo* model for radiobiological research. *FORCIPE*. 2020; (2): 544-545. (In Russ.)].
8. Valcarce DG, Sellés-Egea A, Riesco MF, De Garnica MG, Martínez-Fernández B, Herráez MP, et al. Early stress exposure on zebrafish development: Effects on survival, malformations and molecular alterations. *Fish Physiol Biochem*. 2024; 50(4): 1545-1562. doi: 10.1007/s10695-024-01355-0
9. Choi TY, Choi TI, Lee YR, Choe SK, Kim CH. Zebrafish as an animal model for biomedical research. *Exp Mol Med*. 2021; 53(3): 310-317. doi: 10.1038/s12276-021-00571-5
10. Hoo JY, Kumari Y, Shaikh MF, Hue SM, Goh BH. Zebrafish: A versatile animal model for fertility research. *BioMed Res Int*. 2016; 2016: 9732780. doi: 10.1155/2016/9732780
11. Habjan E, Schouten GK, Speer A, van Ulsen P, Bitter W. Diving into drug-screening: Zebrafish embryos as an *in vivo* platform for antimicrobial drug discovery and assessment. *FEMS Microbiol Rev*. 2024; 48(3): fuae011. doi: 10.1093/femsre/fuae011
12. Lubin A, Otterstrom J, Hoade Y, Bjedov I, Stead E, Whelan M, et al. A versatile, automated and high-throughput drug screening platform for zebrafish embryos. *Biol Open*. 2021; 10(9): bio058513. doi: 10.1242/bio.058513
13. Качанов Д.А., Лакеенков Н.М. *Danio rerio* (zebrafish) как универсальный модельный объект в доклинических исследованиях. *FORCIPE*. 2018; 1(1): 49-54. [Kachanov DA, La-

keenkov NM. *Danio rerio* (zebrafish) – an universal model object in preclinical studies. *FORCIPE*. 2018; 1(1): 49-54. (In Russ.).

14. Смородинская С.В., Симаков Ю.Г. Изменение структуры ДНК и морфологии ядер эритроцитов *Danio rerio* при загрязнении водной среды бихромата калия. *Питание 2035. Физиология, биофизика и биотехнология: Сборник материалов научно-практической конференции*. Тамбов; 2019: 110-115. [Smorodinskaya SV, Simakov YuG. Changes in the DNA structure and morphology of the nuclei of *Danio rerio* erythrocytes when the aquatic environment is polluted with potassium dichromate. *Nutrition 2035. Physiology, Biophysics and Biotechnology: Proceedings of the Research and Practical Conference*. Tambov; 2019: 110-115. (In Russ.).]

15. Методические указания по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. М.; 2009. [Methodological guidelines for the development of water quality standards for fishery waters, including standards for maximum permissible concentrations of harmful substances in the fishery waters. Moscow; 2009. (In Russ.).]

16. Булгакова Я.В., Дорохов Е.В., Косолапова И.В., Мануковская О.В. Микроядерный тест буккального эпителия как метод скрининга в онкологии. *Вестник Авиценны*. 2018; 20(1): 47-51. [Bulgakova YaV, Dorokhov EV, Kosolapova IV, Manukovskaya OV. Micronuclear test of the buccal epithelium as the screening method in oncology. *Avicenna Bulletin*. 2018; 20(1): 47-51. (In Russ.).] doi: 10.25005/2074-0581-2018-20-1-47-51

17. Зверева Д.Е. Использование микроядерного теста при оценке генотоксических свойств лекарственных веществ. *Вестник молодых ученых и специалистов Челябинской области*. 2019; 2(25): 10-20. [Zvereva DE. Application of micronucleus test for evaluation of genotoxic properties of drugs. *Vestnik molo-dykh uchenykh i spetsialistov Chelyabinskoy oblasti*. 2019; 2(25): 10-20. (In Russ.).]

18. Мавликеев М.О., Киясов А.П., Деев Р.В., Чернова О.М., Емелин А.М. *Гистологическая техника в патоморфологической лаборатории*. М.: Практическая медицина; 2023. [Mavlikeev MO, Kiyasov AP, Deev RV, Chernova OM, Emelin AM. *Histological technique in the pathology laboratory*. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2023. (In Russ.).]

19. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Микроядерный тест на клетках

*млекопитающих in vitro: Межгосударственный стандарт ГОСТ 32635*. М.: Стандартинформ; 2020. [Test methods for the effects of chemical products on the human body. *Micronucleus test on mammalian cells in vitro: Interstate standard GOST 32635*. Moscow: Standartiiform; 2020. (In Russ.).]

20. Автандилов Г.Г. Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистопатологии. М.: РМАПО; 1996. [Avtandilov GG. *Computer microtelephotometry in diagnostic histocytology*. Moscow: Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 1996. (In Russ.).]

21. Утемисова А.А., Романов П.Ю. Некоторые методы построения кривых Безье. Математическое и программное обеспечение систем в промышленности и социальных сферах. 2018; 6(1): 20-24. [Utemisova AA, Romanov PYu. Some methods for constructing Bézier curves. *Software of Systems in the Industrial and Social Fields*. 2018; 6(1): 20-24. (In Russ.).] doi: 10.18503/2306-2053-2018-6-1-20-24

22. Исаев Д.А., Гурьев Д.В., Блохина Т.М., Яшкина Т.И., Осипов А.Н. Эмбриологические и тератологические эффекты излучения у рыб (*Danio rerio*). *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2020; 65(6): 11-16. [Isaev DA, Guryev DV, Blokhina TM, Yashkina TI, Osipov AN. Embryotoxic and teratogenic effects of gamma radiation on zebrafish (*Danio rerio*). *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2020; 65(6): 11-16. (In Russ.).] doi: 10.12737/1024-6177-2020-65-6-11-16

23. Ting Goh VS, Fujishima Y, Nakayama R, Takebayashi K, Yoshida MA, Kasai K, et al. Manual scoring with shortened 48 h cytokinesis-block micronucleus assay feasible for triage in the event of a mass-casualty radiation accident. *Radiat Res*. 2023; 199(4): 385-395. doi: 10.1667/RADE-22-00191.1

24. Маркина Т.Н., Аклеев А.В., Веремеева Г.А. Пролиферационная активность и клеточный цикл лимфоцитов периферической крови (ЛПК) человека и отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия. *Радиация и риск*. 2011; 20(1): 40-57. [Markina TN, Akleyev AV, Veremeyeva GA. Proliferative activity and cell cycle of peripheral blood lymphocytes (PBL) at late time after chronic radiation exposure in man. *Radiation and Risk*. 2011; 20(1): 40-57. (In Russ.).]

25. Anbumani S, Mohankumar MN. Gamma radiation induced micronuclei and erythrocyte cellular abnormalities in the fish *Catla catla*. *Aquat Toxicol*. 2012; 122-123: 125-132. doi: 10.1016/j.aquatox.2012.06.001

#### Сведения об авторах

**Омельчук Надежда Николаевна** – заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики медицинского института, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: kkl-d-fpkmr-nom@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9184-0237>

**Симаков Юрий Георгиевич** – доктор биологических наук, профессор кафедры биологии, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского», e-mail: usimakov@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-1664-9426>

**Волкова Лариса Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор кафедры медико-биологических дисциплин медицинского факультета, НОЧУ ВО «Московский финансово-промышленный университет «Синергия», e-mail: volkova16@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0938-8577>

**Попадюк Валентин Иванович** – доктор медицинских наук, декан факультета непрерывного медицинского образования медицинского института, профессор, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: popadyuk-vi@rudn.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3309-4683>

**Анисимова Ольга Викторовна** – преподаватель кафедры клинической лабораторной диагностики медицинского института, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: olga-210986@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-4948-5130>

**Хилько Татьяна Николаевна** – преподаватель кафедры клинической лабораторной диагностики медицинского института, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: tanuakhilko@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-0004-9096>

**Чернова Ольга Эдгаровна** – преподаватель кафедры клинической лабораторной диагностики медицинского института, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», e-mail: ochernova2007@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-8160-6486>

**Information about the authors**

**Nadezhda N. Omelchuk** – Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: kklld-fpkmr-nom@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9184-0237>

**Yuri G. Simakov** – Dr. Sc. (Biol.), Professor at the Department of Biology, K.G. Razumovsky Moscow State University of Technologies and Management (the First Cossack University), e-mail: usimakov@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-1664-9426>

**Larisa V. Volkova** – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Biomedicine, Faculty of Medicine, Synergy University, e-mail: volkova16@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0938-8577>

**Valentin I. Popadyuk** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Dean of the Faculty of Continuing Medical Education, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: popadyuk-vi@rudn.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3309-4683>

**Olga V. Anisimova** – Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: olga-210986@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0004-4948-5130>

**Tatyana N. Khilko** – Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: tanuakhilko@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0001-0004-9096>

**Olga E. Chernova** – Lecturer at the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, e-mail: ochernova2007@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-8160-6486>

## НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

### КЛИНИКО-НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ COVID-19 И ДРУГИХ КОРОНАВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Белобородов В.А.<sup>1</sup>,  
Степанов И.А.<sup>1</sup>,  
Кельчевская Е.А.<sup>1</sup>,  
Воробьев В.А.<sup>1</sup>,  
Фролов А.П.<sup>1</sup>,  
Кожевников М.А.<sup>1</sup>,  
Тухиев А.Р.<sup>1</sup>,  
Борисов В.Э.<sup>2</sup>,  
Саакян З.С.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет»

Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» (670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а, Россия)

<sup>3</sup> ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова» (677000, г. Якутск, ул. Белинского, 58, Россия)

<sup>4</sup> ГБУЗ РС(Я) «Республиканская больница № 2 – Центр экстренной медицинской помощи» (677005, г. Якутск, ул. Петра Алексеева, 83а, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
**Степанов Иван Андреевич**,  
e-mail: stepanovivanneuro@gmail.com

#### РЕЗЮМЕ

Как известно, вопросы патогенеза, диагностики и лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 представляют собой наиболее приоритетные направления научного поиска в современной клинике внутренних болезней. Скорость появления новых научных данных в ведущих библиотеках PubMed, Medline, Cochrane Library и eLibrary, которые потенциально могут иметь значение в коррекции проводимой терапии инфекции и её осложнений, является предельно высокой. В свою очередь это диктует необходимость всестороннего обсуждения результатов вновь опубликованных исследований. К числу таких вопросов необходимо отнести клинико-неврологические проявления COVID-19 и других коронавирусных инфекций. Точный механизм проникновения вируса SARS-CoV-2 в структуры центральной нервной системы неизвестен. Так, наиболее активно обсуждаются два пути проникновения возбудителя COVID-19 – гематогенный (через системный кровоток в сосуды головного мозга с низким значением линейной скорости кровотока, что позволяет вирусу адгезироваться на поверхности эндотелия и через повреждение последнего проникать в нервную ткань) и контактный (через решетчатую пластинку и обонятельную луковицу). Также необходимо отметить, что в ряде экспериментальных работ наглядно показано патогенное действие других представителей семейства Coronaviridae на нейроны дыхательного и сосудодвигательного центров. В обзоре представлен анализ современных литературных данных, посвящённых изучению клинико-неврологических проявлений COVID-19 и других коронавирусных инфекций. Важно подчеркнуть, что особого внимания заслуживают пациенты с тяжёлым течением COVID-19, требующие наблюдения в палате реанимации и интенсивной терапии с целью предупреждения развития фатальных неврологических осложнений.

**Ключевые слова:** COVID-19, SARS-CoV-2, центральная нервная система, клинико-неврологические проявления, патогенез, инсульт, поражение периферической нервной системы

Статья поступила: 22.02.2023

Статья принята: 04.06.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Белобородов В.А., Степанов И.А., Кельчевская Е.А., Воробьев В.А., Фролов А.П., Кожевников М.А., Тухиев А.Р., Борисов В.Э., Саакян З.С. Клинико-неврологические проявления COVID-19 и других коронавирусных инфекций: обзор литературы. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 168-177. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.18

## CLINICAL AND NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS OF COVID-19 AND OTHER CORONAVIRUS INFECTIONS: A LITERATURE REVIEW

Beloborodov V.A.<sup>1</sup>,  
Stepanov I.A.<sup>1</sup>,  
Kelchevskaya E.A.<sup>1</sup>,  
Vorobiev V.A.<sup>1</sup>,  
Frolov A.P.<sup>1</sup>,  
Kozhevnikov M.A.<sup>1</sup>,  
Tukhiev A.R.<sup>1</sup>,  
Borisov V.E.<sup>2</sup>,  
Saakyan Z.S.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk State Medical University  
(Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> Banzarov Buryat State University  
(Smolina str. 24A, Ulan-Ude 670000,  
Russian Federation)

<sup>3</sup> M.K. Ammosov North-Eastern  
Federal University (Belinskogo str. 58,  
Yakutsk 677000, Russian Federation)

<sup>4</sup> Republican Hospital No. 2 –  
Center for Emergency Medicine  
(Petra Alekseeva str. 83A, Yakutsk 677005,  
Russian Federation)

Corresponding author:

Ivan A. Stepanov,

e-mail: stepanovivanneuro@gmail.com

### ABSTRACT

*As is known, the issues of pathogenesis, diagnosis and treatment of the new coronavirus infection COVID-19 are the most priority areas of scientific research in the modern clinic of internal diseases. The rate of emergence of new scientific data in the leading libraries PubMed, Medline, Cochrane Library and eLibrary, which can potentially be important in the correction of ongoing therapy for infection and its complications, is extremely high. In turn, this dictates the need for a comprehensive discussion of the results of newly published studies. These issues include clinical and neurological manifestations of COVID-19 and other coronavirus infections. The exact mechanism by which the SARS-CoV-2 virus enters the structures of the central nervous system is unknown. Thus, two pathways for the penetration of the COVID-19 pathogen are most actively discussed: the hematogenous pathway (through the systemic circulation into the vessels of the brain with a low linear blood flow velocity, which allows the virus to adhere to the surface of the endothelium and penetrate into the nervous tissue through damage to the latter) and the contact pathway (through the cribriform plate and the olfactory bulb). It should also be noted that a number of experimental works clearly demonstrate the pathogenic effect of other members of the Coronaviridae family on the neurons of the respiratory and vasomotor centers. The review presents an analysis of current literature data on the study of clinical and neurological manifestations of COVID-19 and other coronavirus infections. It is important to emphasize that patients with a severe course of COVID-19 deserve special attention, requiring observation in the intensive care unit in order to prevent the development of fatal neurological complications.*

**Key words:** COVID-19, SARS-CoV-2, central nervous system, clinical and neurological manifestations, pathogenesis, stroke, peripheral neuropathy

Received: 22.02.2023

Accepted: 04.06.2024

Published: 22.11.2024

**For citation:** Beloborodov V.A., Stepanov I.A., Kelchevskaya E.A., Vorobiev V.A., Frolov A.P., Kozhevnikov M.A., Tukhiev A.R., Borisov V.E., Saakyan Z.S. Clinical and neurological manifestations of COVID-19 and other coronavirus infections: A literature review. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 168-177. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.18

## ВВЕДЕНИЕ

Как известно, вопросы патогенеза, диагностики и лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19 представляют собой наиболее приоритетные направления научного поиска в современной клинике внутренних болезней. Скорость появления новых научных данных в ведущих библиотеках PubMed, Medline, Cochrane Library и eLibrary, которые потенциально могут иметь значение в коррекции проводимой терапии инфекции и её осложнений, является предельно высокой. В свою очередь это диктует необходимость всестороннего обсуждения результатов вновь опубликованных исследований. К числу таких вопросов необходимо отнести клинико-неврологические проявления COVID-19 и других коронавирусных инфекций [1].

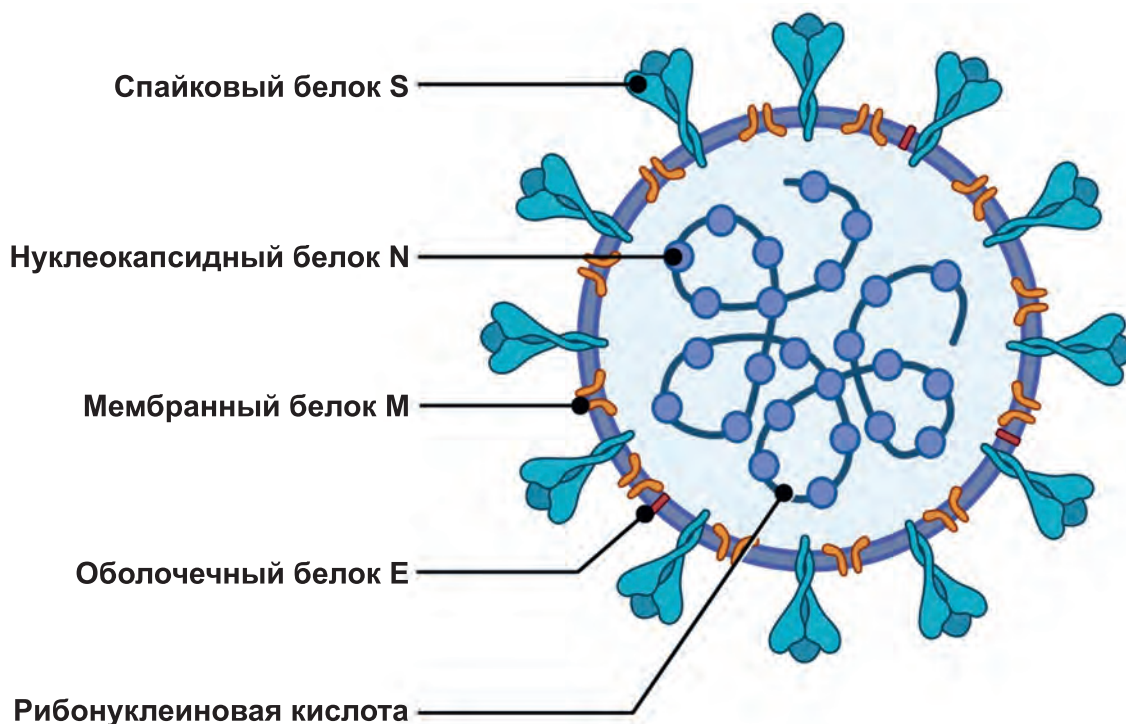
Точный механизм проникновения вируса SARS-CoV-2 в структуры центральной нервной системы неизвестен. Так, наиболее активно обсуждаются два пути проникновения возбудителя COVID-19: 1) гематогенный путь – через системный кровоток в сосуды головного мозга с низким значением линейной скорости кровотока, что позволяет вирусу адгезироваться на поверхности эндотелия и через повреждение последнего проникать в нервную ткань; 2) контактный аксональный путь – через решетчатую пластинку и обонятельную луковицу [2, 3]. Также необходимо отметить, что в ряде экспериментальных работ наглядно показано патогенное действие других представителей семейства Coronaviridae на нейроны дыхательного и сосудодвигательного центров [4, 5].

## ЦЕЛЬ ЛИТЕРАТУРНОГО ОБЗОРА

Анализ современных литературных данных, посвящённых изучению клинико-неврологических проявлений COVID-19 и других коронавирусных инфекций.

## ПАТОГЕНЕЗ

Частица SARS-CoV-2 на своей поверхности имеет так называемый спайковый гликопротеин 1 (S1), для которого характерна высокая степень аффинности с рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ 2) (рис. 1) [6]. В ряде исследований доказано, что высокая концентрация рецепторов АПФ 2 на поверхности эпителиоцитов нижних дыхательных путей способствует проникновению вируса путём слияния белка S1 и цитоплазматической клеточной мембраны [7, 8]. Высокая концентрация рецепторов АПФ 2 в нейронах дыхательного и сосудодвигательного центров продолговатого мозга также может объяснять механизм проникновения вируса. Однако небольшое количество указанных рецепторов на поверхности нейронов структур лимбической системы не позволяет однозначно высказаться в отношении известного пути проникновения SARS-CoV-2 в нервную ткань [8]. В работах M.F. Doobay и соавт. [9] и O. Palasca и соавт. [10] показано, что наибольшая концентрация рецепторов АПФ 2 характерна для нейроцитов вентролатеральных отделов продолговатого мозга и ядра одиночного пути, участвующих в регуляции деятельности дыхательного центра. Тем не менее, средство возбудителя



**РИС. 1.**

Строение вирусной частицы SARS-CoV-2 (объяснение в тексте)

**FIG. 1.**

The structure of the SARS-CoV-2 virus particle (explanation in the text)

COVID-19 к обонятельной луковице, вероятно, обусловлено другими молекулярными механизмами. Так, интраназальное введение вируса грызунам приводит к быстрому появлению последнего в нейронах инфраламбической коры больших полушарий головного мозга, базальных ганглиев и среднего мозга, которые имеют прямые связи с клетками обонятельной луковицы [11].

Также имеет место распространение вируса через нейротрансмиттерные серотонинергические пути дорзального шва и гематогенным путём, через пространства Вирхова – Робина [12]. Известно, что SARS-CoV-2, как и MERS (Middle East respiratory syndrome), оказывает прямое цитотоксическое действие на нервные клетки дыхательного центра продолговатого мозга за счёт активации воспалительного процесса (интерлейкин (IL) 1, IL-6, фактор некроза опухоли  $\alpha$ ) и явлений аутофагии [13]. При этом точные механизмы цитотоксического действия SARS-CoV-2 по-прежнему неизвестны.

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСА В НЕРВНОЙ ТКАНИ

В исследовании А.М. Vaig и соавт. [14] показано, что распространение вирусной частицы осуществляется ретроградным путём строго аксонально по направлению из синаптической щели к телу нейрона. Указанный путь распространения вирусных частиц также подтверждается в эксперименте Y.C. Li и соавт. [15] на примере штамма 67 N вируса гемагглютинирующего энцефаломиелита свиней (HEV-67 N).

Ретроспективный анализ данных результатов лечения пациентов, страдающих COVID-19, продемонстрировал наличие клинико-неврологических проявлений в 36,4 % случаев [16]. К основным неврологическим симптомам заболевания относились головная боль, головокружение, различные уровни нарушения сознания, атаксия, гипосмия, гипогевзия, судорожная готовность, а также некоторые типы прозопагий [16]. По мнению авторов указанного исследования, тяжёлая форма течения COVID-19 зачастую сопровождается клинико-неврологическими проявлениями, в отличие от среднетяжёлой и лёгкой форм заболевания [16].

Необходимо отметить, что вирус SARS-CoV-2 способен вызывать так называемые «общие» неврологические симптомы, которые характерны для многих других возбудителей. Так, в работе С. Huang и соавт. [17] анализировались неврологические проявления COVID-19 у 41 пациента. Авторы пришли к заключению, что головная боль обнаружена у 8 % респондентов и у 12 % отмечены признаки миалгии и/или артралгии. Как правило, головная боль в данном случае имеет неспецифический характер и не связана с раздражением мозговых оболочек. Более того, присутствие изолированного цефалгического синдрома без прочих клинико-неврологических проявлений свидетельствует об интоксикационном генезе последнего без прямого повреждения вирусом структур головного мозга [17]. Схожие результаты в отношении распространённости неврологиче-

ских симптомов у пациентов с COVID-19 получены в исследованиях N. Chen и соавт. [18] и X.W. Xu и соавт. [19].

## ГОЛОВНАЯ БОЛЬ

Как уже указывалось выше, головная боль представляет собой самый распространённый неспецифический клинико-неврологический симптом любого инфекционного процесса, в том числе и COVID-19 [20]. Нередко головная боль у пациентов с COVID-19 совпадает с эпизодами лихорадки [21]. По данным различных авторов, частота встречаемости цефалгического синдрома при инфекции, вызванной SARS-CoV-2, варьирует от 6,5 до 14,1 % [22, 23]. По мнению R. Belvis [24], головная боль при COVID-19 зачастую совпадает с цитокиновым штормом, но это предположение требует проведения дальнейших исследований. В исследованиях L. Fang и соавт. [25] и A. Maassen Van Den Brink и соавт. [26] отмечено, что использование некоторых нестероидных противовоспалительных препаратов способствует усилению экспрессии АПФ 2 и тем самым может значительно ухудшать прогноз исхода больных с COVID-19. С другой стороны, в сообщении E. Rinott и соавт. [27] негативное влияние указанной группы лекарственных средств не нашло подтверждения.

## НАРУШЕНИЯ СОЗНАНИЯ

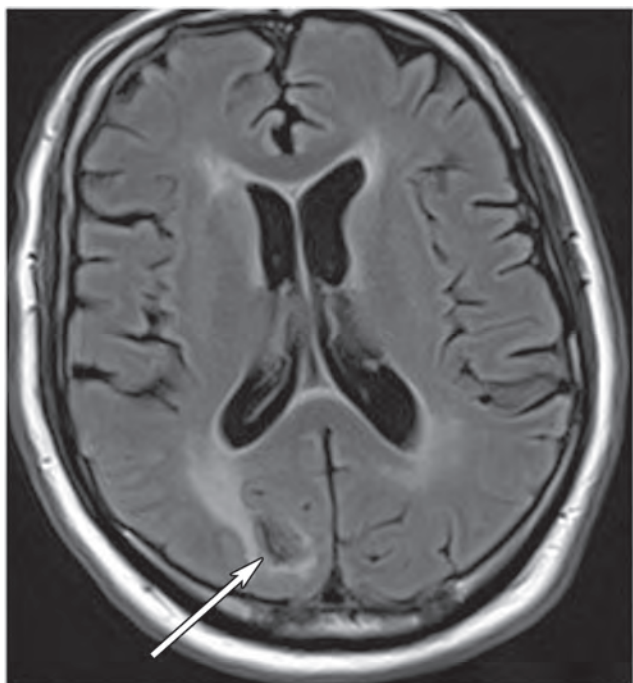
Пациенты с COVID-19 могут иметь различные уровни нарушения сознания, что может отражать степень тяжести заболевания. L. Мао и соавт. [16] в своей клинической серии, включающей 214 респондентов, в 6 (7,5 %) случаях верифицировали различные уровни нарушения сознания. Также исследователями наглядно показано, что при тяжёлом течении COVID-19 у пациентов статистически значимо чаще встречаются нарушения сознания в сравнении с группой пациентов с нетяжёлой формой течения заболевания (14,8 и 2,4 % соответственно) [16]. В исследовании T. Chen и соавт. [28] показано, что из 113 пациентов с подтверждёнными признаками COVID-19 в 25 (22 %) случаях отмечено угнетение сознания до уровня глубокой комы с летальным исходом и лишь у 1 выздоровевшего респондента выявлены признаки нарушения сознания в виде синкопальных состояний. W.A. Alkeridy и соавт. [29] в своём исследовании высказывают предположение о том, что нарушения сознания при COVID-19 связаны с токсико-септическим поражением вещества головного мозга на фоне системной воспалительной реакции организма, формированием очагов ишемии и геморрагий в подкорковых структурах (рис. 2), а также с прогрессирующей гипоксией, которая в свою очередь обусловлена поражением лёгочной ткани.

## ВОЗБУЖДЕНИЕ И ДЕЛИРИЙ

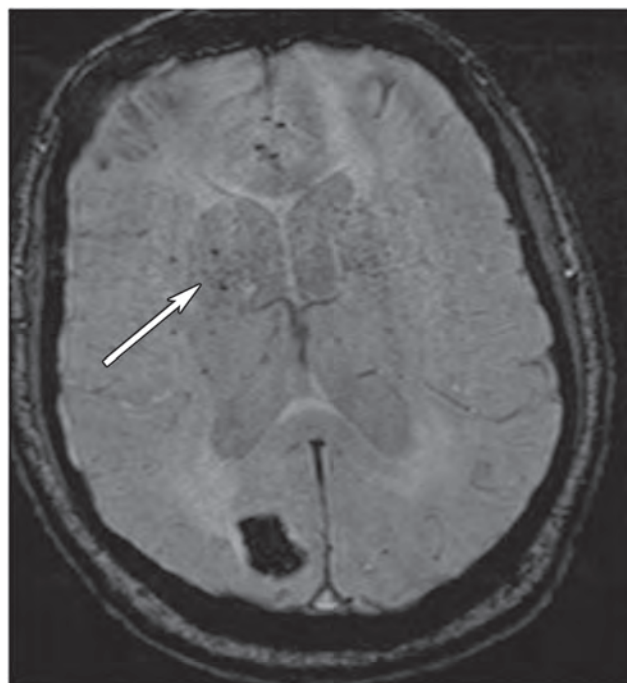
Имеют место многочисленные данные о развитии возбуждения и делирия у пациентов, инфицированных

SARS-CoV-2. В наблюдении J. Helms и соавт. [30] показано, что из 58 респондентов, страдающих COVID-19, признаки возбуждения отмечены в 40 (69 %) случаях. При этом из 40 указанных пациентов у 26 (65 %) клинически подтверждены признаки делирия. В клинической серии N. Chen и соавт. [18] представлены данные о распростра-

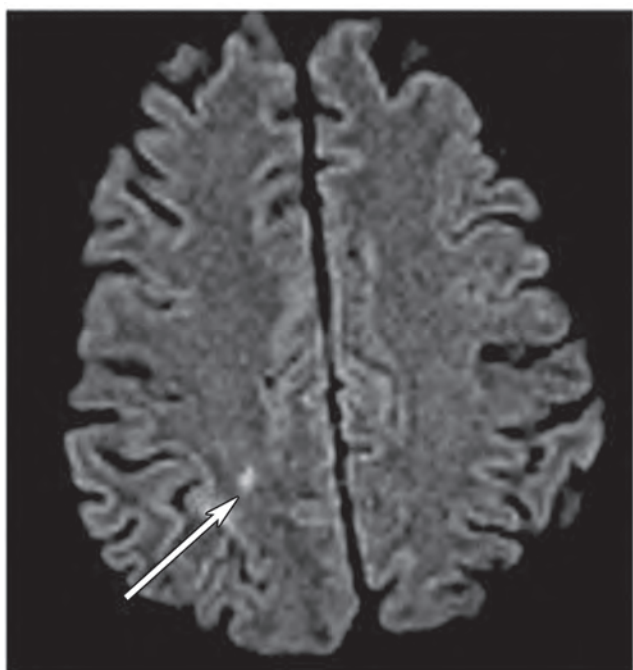
нённости спутанности сознания у пациентов с COVID-19. Из 99 респондентов у 10 % отмечена спутанность сознания. Высокая распространённость возбуждения и делирия у пациентов с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, диктует острую необходимость внедрения в клиническую практику протоколированных методов профилактики и лечения



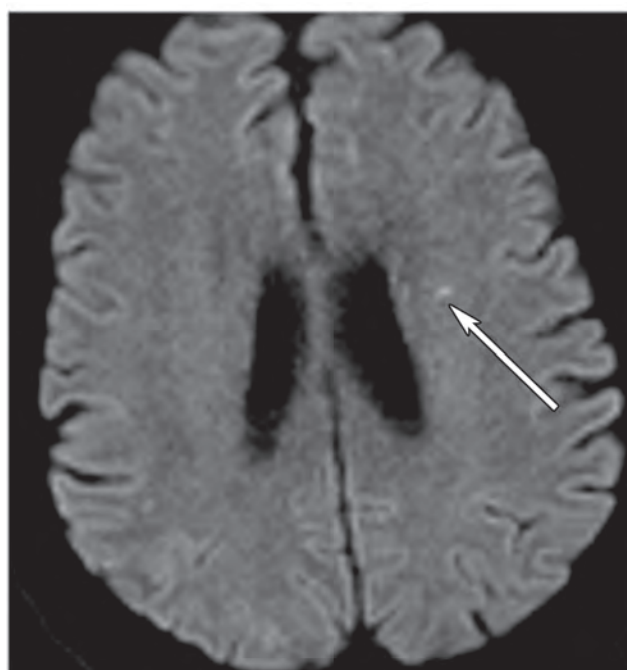
**а**



**б**



**в**



**г**

**РИС. 2.**  
МРТ-изображения головного мозга в аксиальном срезе пациента 39 лет с подтверждённым клиническим диагнозом COVID-19 и наличием геморрагических очагов с микроинфарктами (указаны стрелками): **а** – в режиме FLAIR; **б** – в режиме SWI; **в, г** – в режиме DWI (собственное клиническое наблюдение)

**FIG. 2.**  
Axial MRI images of the brain of a 39-years-old patient with a confirmed clinical diagnosis of COVID-19 and the presence of hemorrhagic foci with microinfarcts (indicated by arrows): **а** – FLAIR mode; **б** – SWI mode; **в, г** – DWI mode (own clinical case)

спутанности сознания. В настоящее время к основным лекарственным препаратам, используемых в качестве профилактики и лечения спутанности сознания при COVID-19, относятся галоперидол, рисперидон, оланзапин, кветиапин, палипиредон и зипразидон. Безусловно, не теряют своего значения и лекарственные средства, относящиеся к бензодиазепиновому ряду. Важно подчеркнуть, что перечисленные препараты должны применяться с учётом минимальных доз с целью предупреждения развития нежелательных лекарственных реакций [31].

## ГИПОГЕВЗИЯ/ДИСГЕВЗИЯ И ГИПОСМИЯ/АНОСМИЯ

Общеизвестно, что гипогевзия/дисгевзия и/или гипосмия/аносмия являются наиболее распространёнными неврологическими симптомами COVID-19. Одной из наиболее вероятных теорий потери и/или снижения обонятельной функции выступает распространение вирусных частиц SARS-CoV-2 по аксонам, соединяющим нейроны обонятельного эпителия с обонятельной луковицей [32]. В инструментальном исследовании M.K. Galougahi и соавт. [33] наглядно продемонстрировано изменение интенсивности сигнала в области обонятельной луковицы, а также в области задней части правой прямой извилины по данным магнитно-резонансной томографии.

Онлайн-опрос 4039 пациентов, перенёвших COVID-19, показал наличие признаков нарушения обонятельной и вкусовой функций у 97 % респондентов [34]. В сообщении R. Кауе и соавт. [35] отмечено, что в 73 % случаев anosmia выявлялась у пациентов до постановки клинического диагноза COVID-19. С другой стороны, в 26,6 % случаев anosmia относилась к наиболее ранним признакам заболевания. Необходимо отметить, что у 27 % пациентов некоторое улучшение отмечено в среднем через 7,2 суток от момента постановки диагноза [35]. В клинической серии A. Giacomelli и соавт. [36] выявлено, что вкусовые и обонятельные расстройства встречаются в 33,9 и 18,6 % случаев соответственно. В испанском государственном реестре пациентов, перенёвших COVID-19 (ALBACOVID), показано, что anosmia встречалась у 4,9 % пациентов, а дисгевзия – у 6,2 % [23]. В крупном британском исследовании, включавшем результаты лечения 7178 пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, достоверно верифицировано нарушение функций вкуса и обоняния в 65 % случаев [37]. В другом крупном ретроспективном наблюдении J.R. Lechien и соавт. [38] подтверждены anosmia и гипогевзия у 85 и 88 % респондентов соответственно.

К сожалению, к настоящему моменту отсутствуют эффективные и доказанные методы лечения нарушений обонятельной и вкусовой функций. J. Song и соавт. [39] утверждают, что гипогевзия/дисгевзия и/или гипосмия/аносмия не требуют специфического лечения, так как перечисленные симптомы практически полностью регрессируют к моменту выздоровления пациентов. Так, исследователи демонстрируют восстановление функций обоняния и вкуса в 80 % случаев спустя 14 суток от момента постановки клинического диагноза COVID-19 [39].

## СУДОРОЖНЫЕ ПРИСТУПЫ

К ведущим причинам развития судорожных приступов у пациентов с COVID-19 принято относить нарушение водно-электролитного баланса, гипоксию, полиорганную недостаточность, а также развитие острого нарушения мозгового кровообращения [40]. В клиническом случае, представленном N. Karimi и соавт. [41], описано развитие генерализованных тонико-клонических судорог у пациента молодого возраста, инфицированного SARS-CoV-2, без сопутствующих патологических состояний. В другом наблюдении, также у молодого пациента, страдающего COVID-19 без сопутствующих заболеваний, по данным электроэнцефалографического исследования описано развитие генерализованных судорожных приступов, что в последующем нашло своё отражение в виде медиального височного склероза по данным нейровизуализационных методов исследований [42]. С другой стороны, в работе L. Lu и соавт. [43] показано, что у 304 респондентов с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, судорожных приступов выявлено не было ни в одном случае. Однако авторы отметили, что в исследовании в изучаемой группе пациентов не применялось электроэнцефалографическое исследование, позволяющее диагностировать субклиническую судорожную готовность коры больших полушарий головного мозга [43]. В других исследованиях, описывающих течение COVID-19, судорожные приступы обнаружены лишь в единичных случаях [44, 45].

Стоит отметить, что рутинное применение электроэнцефалографии у пациентов с COVID-19 ограничено по причине высокого риска заражения медицинского персонала и прежде всего врачей-рентгенологов и врачей функциональной диагностики. Однако многие исследователи считают, что широкое применение методики электроэнцефалографии позволит определять у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, субклинические признаки судорожной активности коры головного мозга и тем самым предупреждать развитие эпилептических приступов [46]. Бесспорно, особое значение это приобретает при лечении пациентов с тяжёлым течением COVID-19 и наблюдении последних в палате реанимации и интенсивной терапии. Так, в исследовании S. Louis и соавт. [47] 19 из 22 пациентов, поступивших в палату реанимации и интенсивной терапии, непрерывно выполнялось электроэнцефалографическое исследование, которое продемонстрировало формирование судорожной активности коры больших полушарий головного мозга в 2 случаях. A.S. Galanopoulou и соавт. [48] представили данные о субклинической судорожной активности по данным электроэнцефалографии у 8 из 22 пациентов.

## МЕНИНГОЭНЦЕФАЛИТ

Распространение вирусных частиц SARS-CoV-2 из обонятельного эпителия к структурам головного мозга описано в эксперименте с коронавирусом OC 43 (HCoV-OC 43). В указанном экспериментальном исследовании введение HCoV-OC 43 привело к дегенерации

нейроцитов и апоптозу последних [42]. Введение вируса HCoV-OC 43 в эксперименте у мышей привело к развитию острого менингоэнцефалита, подтверждённого данными патоморфологического исследования [42].

В сообщении S. Morforoulou и соавт. [49] описано развитие острого вирусного менингоэнцефалита, вызванного HCoV-OC 43, у 11-месячного мальчика с тяжёлым комбинированным иммунодефицитом после трансфузии пуповинной крови. Пациент погиб через 1,5 месяца от момента выполнения гемотрансфузии. Определение вирусной (HCoV-OC 43) природы менингоэнцефалита выполнено с помощью полимеразной цепной реакции и иммуногистохимического исследования [49].

N. Rojadji и соавт. [50] описали клинический случай развития острого геморрагического энцефалита у женщины среднего возраста с подтверждённым клиническим диагнозом COVID-19. По данным мультисрезовой компьютерной томографии головного мозга верифицированы геморрагические очаги в области таламуса с обеих сторон, в височных и субиндуриальных областях. В аналогичном клиническом случае у пациента 24 лет с головной болью и лихорадкой отмечено возбуждение с последующим угнетением сознания [50]. Клинико-лабораторные методы (полимеразная цепная реакция, иммунные методы анализа) подтвердили вирусную природу (SARS-CoV-2) инфекционного процесса в головном мозге. Магнитно-резонансная томография головного мозга в различных режимах подтвердила наличие патологических очагов в области латеральной стенки правого бокового желудочка, а также в правых височной и гиппокампальной областях [50].

## НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), возникающее на фоне COVID-19, как правило, характеризуется более тяжёлым течением, а наиболее частой причиной развития последнего выступают окклюзия крупных церебральных сосудов и кардиоэмболия [51, 52]. В крупном многонациональном регистре наглядно продемонстрировано, что в 42,6% случаев ОНМК причины его развития не выявлены [51]. В данном исследовании у пациентов с криптогенным ОНМК отмечались более высокие уровни лейкоцитоза и более высокие показатели по шкале NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) к моменту госпитализации. Используя многофакторную регрессионную модель, авторы пришли к выводу, что ОНМК без выявленных объективных причин статистически значимо сопряжено с высокой внутрибольничной смертностью по сравнению с ОНМК, обусловленным иными факторами [51].

Важно отметить, что у подавляющего большинства пациентов с цереброваскулярными осложнениями, как правило, идентифицированы основные причины их развития. Однако при COVID-19 явные предрасполагающие факторы риска развития ОНМК обнаруживают-

ся крайне редко, что ещё раз подтверждает ключевую роль вирус-опосредованного гиперкоагуляционного состояния, цитокинового шторма, сердечных причин и/или цереброваскулярной артериопатии в развитии данного патологического состояния [52].

Продолжительность наличия высокого риска развития ОНМК после заражения SARS-CoV-2 не определена. Так, в систематическом обзоре и метаанализе показано, что коэффициент заболеваемости ОНМК при COVID-19 составил 6,18 (4,06–9,42) в течение 1-й недели после заражения и снизился до 2,14 (1,36–3,38) к 3–4-й неделе после заражения. Более того, повышенный риск инсульта наблюдался и в последующие 6 месяцев после заражения вирусом SARS-CoV-2, причём у тех пациентов, которые страдали дисциркуляторной энцефалопатией во время госпитализации, риск развития ОНМК был самым высоким [52].

## ПОРАЖЕНИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Синдром Гийена – Барре – острая полирадикулопатия, характеризующаяся быстро прогрессирующей симметричной слабостью конечностей, арефлексией, сенсорными симптомами и в некоторых случаях слабостью мышц лица. Описано 19 случаев (13 мужчин, 6 женщин) синдрома Гийена – Барре или его вариантов и COVID-19; медиана возраста пациентов составила 63 года (возраст варьировал от 23 до 77 лет). Учитывая количество случаев заражения SARS-CoV-2 во всём мире, заболеваемость синдромом Гийена – Барре не превысила ожидаемых показателей. Неврологические симптомы при синдроме Гийена – Барре на фоне COVID-19 развиваются в среднем через 7 суток (от 7 до 24 суток) после респираторных или системных признаков, хотя у ряда больных лихорадка появилась через 7 дней после развития синдрома Гийена – Барре. Как правило, при поступлении пациентов с признаками синдрома Гийена – Барре в стационар определяются положительный мазок на SARS-CoV-2, лимфоцитопения с тромбоцитопенией и кишечные расстройства (диарея) [53].

Нередко при инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, у пациентов с синдромом Гийена – Барре развивается редкий вариант его течения с офтальмоплегией, атаксией и арефлексией (так называемый вариант Миллера – Фишера). Также имеют место потеря обоняния и/или вкуса и положительный лабораторный показатель на анти-GD1b-IgG. Описаны случаи одно- или двустороннего паралича отводящего нерва, а также развития острого вестибулярного синдрома с горизонтальным нистагмом и осциллопсией [54].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, клинико-неврологические проявления у пациентов с COVID-19 имеют различные характеристики и степени выраженности. Имеет место ряд исследо-

ваний, подтверждающих тропность вируса SARS-CoV-2 к структурам центральной нервной системы. Важно подчеркнуть, что особого внимания заслуживают пациенты с тяжёлым течением COVID-19, требующие наблюдения в палате реанимации и интенсивной терапии с целью предупреждения развития фатальных осложнений. Беспорно, для улучшения клинических исходов у пациентов, страдающих COVID-19, необходимо проведение крупных рандомизированных контролируемых клинических исследований с оценкой эффективности и безопасности применяемых методов диагностики и лечения. Детальное изучение результатов данных исследований позволит объединить их в систематические обзоры и метаанализы, которые послужат основой для разработки клинических рекомендаций и протоколов с позиций доказательной медицины.

#### Финансирование

Исследование не имело финансовой поддержки.

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Арутюнов Г.П., Козиолова Н.А., Тарловская Е.И., Арутюнов А.Г., Григорьева Н.Ю., Джунусбекова Г.А., и др. Согласованная позиция экспертов Евразийской ассоциации терапевтов по некоторым новым механизмам патогенеза COVID-19: фокус на гемостаз, вопросы гемотрансфузии и систему транспорта газов крови. *Кардиология*. 2020; 60(5): 9-19. [Arutyunov GP, Koziołova NA, Tarlovskaya EI, Arutyunov AG, Grigorjeva NYu, Dzhusnusbekova GA, et al. The agreed experts' position of the Eurasian Association of Therapists on some new mechanisms of COVID-19 pathways: Focus on hemostasis, hemotransfusion issues and blood gas exchange. *Kardiologija*. 2020; 60(5): 9-19. (In Russ.)]. doi: 10.18087/cardio.2020.5.n1132
2. Колобухина Л.В., Бургасова О.А., Краева Л.А., Гущин В.А., Бурцева Е.И., Кружкова И.С., и др. Клинико-лабораторный профиль пациентов с COVID-19, госпитализированных в инфекционный стационар г. Москвы в период с мая по июль 2020 года. *Инфекционные болезни*. 2021; 19(2): 5-15. [Kolobukhina LV, Burgasova OA, Kraeva LA, Gushchin VA, Burtseva EI, Kruzchkova IS, et al. Clinical and laboratory profile of patients with COVID-19 admitted to hospital in Moscow between May and July 2020. *Infectious Diseases*. 2021; 19(2): 5-15. (In Russ.)]. doi: 10.20953/1729-9225-2021-2-5-15
3. Asadi-Pooya AA, Simani L. Central nervous system manifestations of COVID-19: A systematic review. *J Neurol Sci*. 2020; 413: 116832. doi: 10.1016/j.jns.2020.116832
4. Satarker S, Nampoothiri M. Involvement of the nervous system in COVID-19: The bell should toll in the brain. *Life Sci*. 2020; 262: 118568. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118568
5. Bobker SM, Robbins MS. COVID-19 and headache: A primer for trainees. *Headache*. 2020; 60(8): 1806-1811. doi: 10.1111/head.13884
6. Walls AC, Fiala B, Schäfer A, Wrenn S, Pham MN, Murphy M, et al. Elicitation of potent neutralizing antibody responses by designed protein nanoparticle vaccines for SARS-CoV-2. *Cell*. 2020; 183(5): 1367-1382.e17. doi: 10.1016/j.cell.2020.10.043
7. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun*. 2020; 109: 102433. doi: 10.1016/j.jaut.2020.102433
8. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *J Virol*. 2020; 94(7): e00127-20. doi: 10.1128/JVI.00127-20
9. Doobay MF, Talman LS, Obr TD, Tian X, Davisson RL, Lazar-tigues E. Differential expression of neuronal ACE2 in transgenic mice with overexpression of the brain renin-angiotensin system. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007; 292(1): R373-R381. doi: 10.1152/ajpregu.00292.2006
10. Palasca O, Santos A, Stolte C, Gorodkin J, Jensen LJ. TISSUES 2.0: An integrative web resource on mammalian tissue expression. *Database (Oxford)*. 2018; 2018: bay028. doi: 10.1093/database/bay028
11. McCray PB Jr, Pewe L, Wohlford-Lenane C, Hickey M, Manzel L, Shi L, et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol*. 2007; 81(2): 813-821. doi: 10.1128/JVI.02012-06
12. Montalvan V, Lee J, Bueso T, De Toledo J, Rivas K. Neurological manifestations of COVID-19 and other coronavirus infections: A systematic review. *Clin Neurol Neurosurg*. 2020; 194: 105921. doi: 10.1016/j.clineuro.2020.105921
13. Divani AA, Andalib S, Biller J, Di Napoli M, Moghimi N, Rubinos CA, et al. Central nervous system manifestations associated with COVID-19. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2020; 20(12): 60. doi: 10.1007/s11910-020-01079-7
14. Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the COVID-19 virus targeting the CNS: Tissue distribution, host-virus interaction, and proposed neurotropic mechanisms. *ACS Chem Neurosci*. 2020; 11(7): 995-998. doi: 10.1021/acscchemneuro.0c00122
15. Li YC, Bai WZ, Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *J Med Virol*. 2020; 92(6): 552-555. doi: 10.1002/jmv.25728
16. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol*. 2020; 77(6): 683-690. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1127
17. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020; 395(10223): 497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5
18. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: A descriptive study. *Lancet*. 2020; 395(10223): 507-513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
19. Xu XW, Wu XX, Jiang XG, Xu KJ, Ying LJ, Ma CL, et al. Clinical findings in a group of patients infected with the 2019 novel coronavirus (SARS-Cov-2) outside of Wuhan, China: Retrospective case series. *BMJ*. 2020; 368: m606. doi: 10.1136/bmj.m606
20. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020; 323(11): 1061-1069. doi: 10.1001/jama.2020.1585
21. Tian S, Hu N, Lou J, Chen K, Kang X, Xiang Z, et al. Characteristics of COVID-19 infection in Beijing. *J Infect*. 2020; 80(4): 401-406. doi: 10.1016/j.jinf.2020.02.018

22. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al.; China Medical Treatment Expert Group for Covid-19. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020; 382(18): 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032
23. Romero-Sánchez CM, Díaz-Maroto I, Fernández-Díaz E, Sánchez-Larsen Á, Layos-Romero A, García-García J, et al. Neurologic manifestations in hospitalized patients with COVID-19: The ALBA COVID registry. *Neurology*. 2020; 95(8): e1060-e1070. doi: 10.1212/WNL.00000000000009937
24. Belvis R. Headaches during COVID-19: My clinical case and review of the literature. *Headache*. 2020; 60(7): 1422-1426. doi: 10.1111/head.13841
25. Fang L, Karakiulakis G, Roth M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *Lancet Respir Med*. 2020; 8(4): e21. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30116-8
26. Maassen Van Den Brink A, de Vries T, Danser AHJ. Headache medication and the COVID-19 pandemic. *J Headache Pain*. 2020; 21(1): 38. doi: 10.1186/s10194-020-01106-5
27. Rinott E, Kozer E, Shapira Y, Bar-Haim A, Youngster I. Ibuprofen use and clinical outcomes in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect*. 2020; 26(9): 1259.e5-1259.e7. doi: 10.1016/j.cmi.2020.06.003
28. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: Retrospective study. *BMJ*. 2020; 368: m1091. doi: 10.1136/bmj.m1091
29. Alkeridy WA, Almaghlouth I, Alrashed R, Alayed K, Binkhamis K, Alsharidi A, et al. A unique presentation of delirium in a patient with otherwise asymptomatic COVID-19. *J Am Geriatr Soc*. 2020; 68(7): 1382-1384. doi: 10.1111/jgs.16536
30. Helms J, Kremer S, Merdji H, Clere-Jehl R, Schenck M, Kummerlen C, et al. Neurologic features in severe SARS-CoV-2 infection. *N Engl J Med*. 2020; 382: 2268-2270. doi: 10.1056/NEJMc2008597
31. Kotfis K, Williams Roberson S, Wilson JE, Dabrowski W, Pun BT, Ely EW. COVID-19: ICU delirium management during SARS-CoV-2 pandemic. *Crit Care*. 2020; 24(1): 176. doi: 10.1186/s13054-020-02882-x
32. Cooper KW, Brann DH, Farruggia MC, Bhutani S, Pellegrino R, Tsukahara T, et al. COVID-19 and the chemical senses: Supporting players take center stage. *Neuron*. 2020; 107(2): 219-233. doi: 10.1016/j.neuron.2020.06.032
33. Galougahi MK, Ghorbani J, Bakhshayeshkaram M, Naeini AS, Haseli S. Olfactory bulb magnetic resonance imaging in SARS-CoV-2-induced anosmia: The first report. *Acad Radiol*. 2020; 27(6): 892-893. doi: 10.1016/j.acra.2020.04.002
34. Parma V, Ohla K, Veldhuizen MG, Niv MY, Kelly CE, Bakke AJ, et al. More than smell – COVID-19 is associated with severe impairment of smell, taste, and chemesthesis. *Chem Senses*. 2020; 45(7): 609-622. doi: 10.1093/chemse/bjaa041
35. Kaye R, Chang CWD, Kazahaya K, Brereton J, Denney JC 3rd. COVID-19 anosmia reporting tool: Initial findings. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020; 163(1): 132-134. doi: 10.1177/0194599820922992
36. Giacomelli A, Pezzati L, Conti F, Bernacchia D, Siano M, Oreni L, et al. Self-reported olfactory and taste disorders in SARS-CoV-2 patients: A cross-sectional study. *Clin Infect Dis*. 2020; 71(15): 889-890. doi: 10.1093/cid/ciaa330
37. Menni C, Valdes A, Freydin MB, Ganesh S, El-Sayed Moustafa J, Visconti A, et al. Loss of smell and taste in combination with other symptoms is a strong predictor of COVID-19 infection. *medRxiv*. 2020; 2020.04.05.20048421. doi: 10.1101/2020.04.05.20048421
38. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): A multicenter European study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2020; 277(8): 2251-2261. doi: 10.1007/s00405-020-05965-1
39. Song J, Deng Y-K, Wang H, Wang Z-C, Liao B, Ma J, et al. Self-reported taste and smell disorders in patients with COVID-19: Distinct features in China. *medRxiv*. 2020; 41(1): 14-23. doi: 10.1007/s11596-021-2312-7
40. Avula A, Nalleballe K, Narula N, Sapozhnikov S, Dandu V, Toom S, et al. COVID-19 presenting as stroke. *Brain Behav Immun*. 2020; 87: 115-119. doi: 10.1016/j.bbi.2020.04.077
41. Karimi N, Sharifi Razavi A, Rouhani N. Frequent convulsive seizures in an adult patient with COVID-19: A case report. *Iran Red Crescent Med J*. 2020; 22(3): e102828. doi: 10.5812/ircmj.102828
42. Moriguchi T, Harii N, Goto J, Harada D, Sugawara H, Takamino J, et al. A first case of meningitis/encephalitis associated with SARS-Coronavirus-2. *Int J Infect Dis*. 2020; 94: 55-58. doi: 10.1016/j.ijid.2020.03.062
43. Lu L, Xiong W, Liu D, Liu J, Yang D, Li N, et al. New onset acute symptomatic seizure and risk factors in coronavirus disease 2019: A retrospective multicenter study. *Epilepsia*. 2020; 61(6): 49-53. doi: 10.1111/epi.16524
44. Yazbeck M, Sra P, Parvizi J. Rapid response electroencephalography for urgent evaluation of patients in community hospital intensive care practice. *J Neurosci Nurs*. 2019; 51(6): 308-312. doi: 10.1097/jnn.0000000000000476
45. Hepburn M, Mullaguri N, George P, Hantus S, Punia V, Bhimraj A, et al. Acute symptomatic seizures in critically ill patients with COVID-19: Is there an association? *Neurocrit Care*. 2021; 34(1): 139-143. doi: 10.1007/s12028-020-01006-1
46. Vollono C, Rollo E, Romozzi M, Frisullo G, Servidei S, Borghetti A, et al. Focal status epilepticus as unique clinical feature of COVID-19: A case report. *Seizure*. 2020; 78: 109-112. doi: 10.1016/j.seizure.2020.04.009
47. Louis S, Dhawan A, Newey C, Nair D, Jehi L, Hantus S, et al. Continuous electroencephalography (cEEG) characteristics and acute symptomatic seizures in COVID-19 patients. *medRxiv*. 2020; 131(11): 2651-2656. doi: 10.1101/2020.05.26.20114033
48. Galanopoulou AS, Ferastraoar V, Correa DJ, Cherian K, Duberstein S, Gursky J, et al. EEG findings in acutely ill patients investigated for SARS-CoV-2/COVID-19: A small case series preliminary report. *Epilepsia Open*. 2020; 5(2): 314-324. doi: 10.1002/epi4.12399
49. Morfopoulou S, Brown JR, Davies EG, Anderson G, Virasami A, Qasim W, et al. Human coronavirus OC43 associated with fatal encephalitis. *N Engl J Med*. 2016; 375(5): 497-498. doi: 10.1056/NEJMc1509458
50. Poyiadji N, Shahin G, Noujaim D, Stone M, Patel S, Griffith B. COVID-19-associated acute hemorrhagic necrotizing encephalopathy: CT and MRI features. *Radiology*. 2020; 201187: 119-120. doi: 10.1148/radiol.2020201187
51. Щербак С.Г., Вологжанин Д.А., Камилова Т.А., Голота А.С. Острые нарушения мозгового кровообращения при COVID-19.

Университетский терапевтический вестник. 2023; 5(1): 5-35. [Shcherbak SG, Vologzhanin DA, Kamilova TA, Golota AS. Acute cerebrovascular accident in COVID-19. *University Therapeutic Journal*. 2023; 5(1): 5-35. (In Russ.)].

52. Quintanilla-Sánchez C, Salcido-Montenegro A, González-González JG, Rodríguez-Gutiérrez R. Acute cerebrovascular events in severe and nonsevere COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Rev Neurosci*. 2022; 33(6): 631-639. doi: 10.1515/revneuro-2021-0130

53. Чухловина М.Л. Полинейропатии в условиях пандемии COVID-19. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2021; 121(5): 138-143. [Chukhlovina ML. Polyneuropathies during COVID-19 epidemics. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2021; 121(5): 138-143. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro2021121051138

54. Leonhard SE. Diagnosis and management of Guillain – Barré syndrome in ten steps. *Nat Rev Neurol*. 2019; 15(11): 671-683. doi: 10.1038/s41582-019-0250-9

#### Сведения об авторах

**Белобородов Владимир Анатольевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: BVA555@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3299-1924>

**Степанов Иван Андреевич** – ассистент кафедры общей хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: stepanovivanneuro@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9039-9147>

**Кельчевская Елена Арнольдовна** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: kelch@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9956-242X>

**Воробьев Владимир Анатольевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: terdenecer@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3285-5559>

**Фролов Александр Петрович** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: frolovphd@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8775-016X>

**Кожевников Михаил Александрович** – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: mihail.kozhevnikov.1975@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2412-5831>

**Тухиев Артур Русланович** – аспирант кафедры общей хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: atukhiev@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1525-3425>

**Борисов Владислав Эдуардович** – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова», e-mail: nevrotom@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5389-929X>

**Саакян Зораб Симонович** – аспирант кафедры нормальной и патологической физиологии, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова»; врач-нейрохирург отделения нейрохирургии, ГБУЗ РС(Я) «Республиканская больница № 2 – Центр экстренной медицинской помощи», e-mail: doctor-zorab87@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7871-1206>

#### Information about the authors

**Vladimir A. Beloborodov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of General Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: BVA555@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3299-1924>

**Ivan A. Stepanov** – Teaching Assistant at the Department of General Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: stepanovivanneuro@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-9039-9147>

**Elena A. Kelchetskaya** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of General Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: kelch@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9956-242X>

**Vladimir A. Vorobiev** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of General Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: terdenecer@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3285-5559>

**Alexander P. Frolov** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of General Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: frolovphd@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8775-016X>

**Mikhail A. Kozhevnikov** – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of General Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: mihail.kozhevnikov.1975@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2412-5831>

**Artur R. Tukhiev** – Postgraduate at the Department of General Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: atukhiev@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1525-3425>

**Vladislav E. Borisov** – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Advanced-Level Surgery, Banzarov Buryat State University, e-mail: nevrotom@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5389-929X>

**Zorab S. Saakyan** – Postgraduate at the Department of Normal and Pathological Physiology, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University; Neurosurgeon at the Department of Neurosurgery, Republican Hospital No. 2 – Center for Emergency Medicine, e-mail: doctor-zorab87@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7871-1206>

#### Вклад авторов

Белобородов В.А. – научное редактирование; утверждение рукописи для публикации.

Степанов И.А. – обзор литературы; поиск литературных источников; написание текста.

Кельчевская Е.А. – обзор литературы; поиск литературных источников; написание текста.

Воробьев В.А. – обзор литературы; поиск литературных источников; написание текста.

Фролов А.П. – обзор литературы; поиск литературных источников; написание текста.

Кожевников М.А. – обзор литературы; поиск литературных источников; написание текста.

Тухиев А.Р. – обзор литературы; поиск литературных источников; написание текста.

Борисов В.Э. – обзор литературы; поиск литературных источников; написание текста.

Саакян З.С. – обзор литературы; поиск литературных источников; написание текста

## КЛИНИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ НИЗКОГО УРОВНЯ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

Копылова Л.И.,  
Таппахов А.А.,  
Николаева Т.Я.

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный  
федеральный университет  
им. М.К. Аммосова» (677000, г. Якутск,  
ул. Белинского, 58, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Копылова Лилия Ивановна,  
e-mail: kopylovalily@mail.ru

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Несмотря на всестороннее изучение болезни Паркинсона (БП), исследование качества жизни (КЖ) пациентов, в особенности прогнозирование низкого уровня КЖ, остаётся не до конца решённым вопросом.

**Цель исследования.** Посредством изучения тяжести клинических признаков создать прогностическую модель низкого уровня качества жизни пациентов с болезнью Паркинсона.

**Материалы и методы.** В одномоментное поперечное исследование включены 104 пациента с диагнозом БП (мужчин – 56 %, женщин – 48 %), медиана возраста – 67,0 [60,0; 71,0] лет, медиана стажа болезни – 5,0 [2,0; 8,0] лет. Всем пациентам проведена оценка моторных и немоторных симптомов БП. Для оценки КЖ пациентов применялась шкала PDQ-39 (The Parkinson's Disease Questionnaire). Под низким уровнем КЖ пациента нами условно принята сумма баллов по шкале PDQ-39, равная 50 и более. Для создания прогностической модели низкого уровня КЖ пациента с БП применялась бинарная логистическая регрессия методом пошагового исключения.

**Результаты.** Для прогнозирования вероятности низкого уровня КЖ у пациентов с БП в зависимости от изученных клинических проявлений нами предложена функция, согласно которой наибольшее влияние на низкий уровень КЖ оказывает женский пол (отношение шансов – 20,0; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 1,82–222,26). Увеличение стадии БП по шкале Хен – Яра на 1 единицу повышает вероятность низкого уровня КЖ в 8,77 раза (95% ДИ: 2,11–36,49), повышение на 1 балл по шкале сонливости Эпворта – в 2,33 раза (95% ДИ: 1,24–4,38), увеличение уровня депрессии по шкале HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale) на 1 балл – в 1,93 раза (95% ДИ: 1,13–3,32). Чувствительность и специфичность полученной функции составили 95,9 и 80 % соответственно.

**Заключение.** Предложенная прогностическая формула может быть применена на приёмах врачей-неврологов для определения вероятности низкого уровня качества жизни пациентов с болезнью Паркинсона.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, депрессия, дневная сонливость, прогностическая модель, качество жизни

Статья поступила: 16.04.2024  
Статья принята: 26.09.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Копылова Л.И., Таппахов А.А., Николаева Т.Я. Клинические предикторы низкого уровня качества жизни пациентов с болезнью Паркинсона. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 178–183. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.19

## CLINICAL PREDICTORS OF LOW QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

Kopylova L.I.,  
Tappakhov A.A.,  
Nikolaeva T.Ya.

M.K. Ammosov North-Eastern  
Federal University (Belinskogo str. 58,  
Yakutsk 677000, Russian Federation)

Corresponding author:  
Liliya I. Kopylova,  
e-mail: kopylovalily@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** Despite the comprehensive study of Parkinson's disease (PD), studying the quality of life (QoL) of patients, especially the prediction of low QoL, remains an unresolved issue.

**The aim.** To create a prognostic model for low quality of life in patients with Parkinson's disease by studying the severity of clinical features.

**Materials and methods.** The cross-sectional study included 104 patients diagnosed with PD (56 % of men, 48 % of women); the median age was 67.0 [60.0; 71.0] years; the median duration of the disease was 5.0 [2.0; 8.0] years. We assessed motor and non-motor symptoms of PD in all patients. The PDQ-39 (Parkinson's Disease Questionnaire) scale was used to assess the patients' QoL. We conventionally accepted a PDQ-39 score of 50 or more as a low QoL level in a patient. Binary logistic regression using the stepwise exclusion method was used to create a prognostic model for a low QoL level in a patient with PD.

**Results.** To predict the probability of low QoL in patients with PD depending on the studied clinical manifestations, we proposed a function according to which female gender has the greatest impact on low QoL (odds ratio – 20.0; 95% confidence interval (95% CI): 1.82–222.26). An increase in the PD stage according to the Hoehn – Yahr scale by 1 unit causes 8.77 times increase (95% CI: 2.11–36.49) in the probability of low QoL, an increase on the Epworth sleepiness scale by 1 point – 2.33 times increase (95% CI: 1.24–4.38), an increase in the level of depression according to the HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale) by 1 point – 1.93 times increase (95% CI: 1.13–3.32). The sensitivity and specificity of the obtained function were 95.9 and 80%, respectively.

**Conclusion.** The proposed prognostic formula can be used in neurologists' appointments to determine the probability of low quality of life in patients with Parkinson's disease.

**Key words:** Parkinson's disease, depression, daytime sleepiness, prognostic model, quality of life

Received: 16.04.2024  
Accepted: 26.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Kopylova L.I., Tappakhov A.A., Nikolaeva T.Ya. Clinical predictors of low quality of life in patients with Parkinson's disease. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 178-183. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.19

## ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – тяжёлое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, преимущественно поражающее лиц пожилого и старческого возраста [1, 2]. В патогенезе БП играют роль множество механизмов, включая окислительный стресс, дисфункцию митохондрий и нарушения в системе нейротрансмиттеров [3]. БП характеризуется в первую очередь двигательными нарушениями, но также важно отметить, что заболевание включает в себя и различные немоторные симптомы, например, когнитивные, аффективные и сенсорные нарушения, нарушения сна. Эти симптомы не менее значимы в снижении качества жизни (КЖ) пациентов с данным заболеванием [4, 5].

В настоящее время исследованию КЖ при различных заболеваниях, в т. ч. неврологических расстройствах, придаётся исключительно важное значение, поскольку оно не только определяется физическим бременем болезни, но и включает психологические, когнитивные и, наконец, социальные отношения, а также играет немаловажную роль в выборе тактики ведения пациента [2, 6].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Создать прогностическую модель низкого качества жизни пациентов с болезнью Паркинсона путём изучения тяжести клинических признаков.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленной цели проведено одномоментное проспективное исследование амбулаторных и стационарных пациентов с диагнозом «Болезнь Паркинсона» (шифр G20 по МКБ-10) в период с 01.09.2022 по 29.02.2024.

Критерии включения: 1) возраст – 18 лет и старше; 2) клинически достоверный диагноз БП согласно критериям MDS (Movement Disorder Society) 2013 г.

Критерии невключения: 1) вторичный паркинсонизм или паркинсонизм при мультисистемных дегенерациях; 2) тяжёлые когнитивные нарушения; 3) некомплаентность пациента; 4) нежелание пациента участвовать в исследовании; 5) тяжёлые декомпенсированные соматические заболевания.

Двигательные нарушения оценивались по модифицированной шкале Хен – Яра и 3-й части шкалы UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale). Для оценки когнитивных функций применялась шкала MoCA (Montreal Cognitive Assessment), для оценки уровня тревоги и депрессии – Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS, Hospital Anxiety and Depression Scale). Для скрининга немоторных симптомов использовалась шкала NMSQuest (Non-Motor Symptoms Questionnaire), для определения уровня дневной сонливости – шкала сонливости Эпворта.

Уровень КЖ оценен с помощью шкалы PDQ-39 (Parkinson's Disease Questionnaire), которая содержит 39 вопросов и состоит из 8 подразделов: мобильность, повседневная активность, эмоциональное благополу-

чие, стигматизация, социальная поддержка, когнитивные функции, общение и телесный дискомфорт. Чем выше общий балл по шкале, тем ниже уровень КЖ пациента [7].

Обработка статистических данных проводилась в программе SPSS Statistica 22.0 (IBM Corp., США). Описательная статистика количественных данных проводилась с применением непараметрических методов: переменные были представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q1; Q3]); исследование взаимосвязи между двумя парами количественных переменных проводилось с помощью критерия корреляции Спирмена. Теснота связи оценивалась по шкале Чеддока, где 0 означал полное отсутствие связи, 0–0,3 – очень слабую связь, 0,3–0,5 – слабую связь, 0,5–0,7 – среднюю связь, 0,7–0,9 – высокую связь, 0,9–1 – очень высокую связь. Качественные признаки представлены в виде частот, различия между частотами двух групп определялись с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. Различия считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

Для создания прогностической модели низкого уровня КЖ пациента с БП мы применяли бинарную логистическую регрессию методом пошагового исключения. Под низким уровнем КЖ пациента нами условно принята сумма баллов по шкале PDQ-39, равная 50 и более. Доля независимых факторов, оказывающих влияние на исход (а именно на низкий уровень КЖ пациента с БП), определялась согласно значению R-квадрата Нэйджелкера. Для определения влияния отдельных факторов, вошедших в прогностическую модель, на КЖ пациентов рассчитывались скорректированные отношения шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ).

Протокол исследования был одобрен на заседании локального биоэтического комитета при Медицинском институте ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова» (протокол № 34 от 30.03.2022). Все обследуемые включались в исследование после подписания информированного согласия.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование включены 104 пациента с диагнозом БП, в т. ч. мужчин – 56 %, женщин – 48 %; медиана возраста составила 67,0 [60,0; 71,0] лет, медиана стажа болезни – 5,0 [2,0; 8,0] лет. В выборке превалировала смешанная форма БП – 72,1 %; акинетико-ригидная форма выявлена в 22,1 % случаев, дрожательная форма – в 5,8 %.

В таблице 1 представлена взаимосвязь различных клинических признаков БП с подразделами шкалы PDQ-39. Проведённый корреляционный анализ показал, что депрессия имеет положительную взаимосвязь с 7 из 8 подразделов шкалы PDQ-39. Так, средней тесноты связь выявлена для уровня депрессии с эмоциональностью ( $r = 0,655$ ;  $p < 0,001$ ), повседневной активностью ( $r = 0,545$ ;  $p < 0,001$ ) и мобильностью ( $r = 0,507$ ;  $p < 0,001$ ). Уровень тревоги показал среднюю связь только с эмоциональностью ( $r = 0,644$ ;  $p < 0,001$ ).

Как видно из таблицы 1, стадия БП по шкале Хен – Яра имела высокую взаимосвязь с мобильностью ( $r = 0,761$ ;

$p < 0,001$ ) и умеренную – с повседневной активностью ( $r = 0,648; p < 0,001$ ). Несколько низкие показатели корреляции обнаружены между двигательным дефицитом по 3-й части шкалы UPDRS и мобильностью ( $r = 0,639; p < 0,001$ ) и повседневной активностью ( $r = 0,619; p < 0,001$ ).

Возраст практически не коррелировал с подразделами шкалы PDQ-39: обнаружена лишь очень слабая связь с мобильностью ( $r = 0,205; p = 0,039$ ). Дневная сонливость, оцененная по шкале сонливости Эпворта, также имела слабую взаимосвязь только с эмоциональностью ( $r = 0,269; p = 0,007$ ), когнитивными функциями ( $r = 0,322; p = 0,001$ ) и телесными нарушениями ( $r = 0,205; p = 0,042$ ).

С другой стороны, наиболее уязвимым подразделом шкалы PDQ-39 явились «когнитивные функции», на которые отрицательно влияли все 9 отобранных клинических признаков БП, в особенности общее число немоторных симптомов ( $r = 0,588; p < 0,001$ ). Вторым по уязвимости подразделом оказалась «мобильность», на которую отрицательно влияли 8 из 9 клинических признаков (за исключением дневной сонливости).

По результатам нашего исследования, подразделы шкалы PDQ-39 «социальная поддержка» и «телесные нарушения» оказались наиболее сохранными. В отношении социальной поддержки слабое влияние оказывали депрессия ( $r = 0,22; p = 0,027$ ) и тревога ( $r = 0,334; p = 0,001$ ), в отношении телесных нарушений – когнитивные функции ( $r = -0,226; p = 0,023$ ).

Для прогнозирования вероятности низкого уровня КЖ у пациентов с БП в зависимости от изученных клинических проявлений методом бинарной логистической регрессии получена следующая функция (1):

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100 \%;$$

$$z = -11,13 + 0,66 \times X_{\text{ДЕПР}} + 0,85 \times X_{\text{СОНЛ}} + 3,0 \times X_{\text{ПОЛ}} + 2,17 \times X_{\text{СТАДИЯ}} \quad (1),$$

где  $P$  – вероятность низкого уровня КЖ (в %);  $X_{\text{ДЕПР}}$  – уровень депрессии по шкале HADS (в баллах);  $X_{\text{СОНЛ}}$  – уровень дневной сонливости по шкале Эпворта (в баллах);  $X_{\text{ПОЛ}}$  – пол пациента (0 – мужчина, 1 – женщина);  $X_{\text{СТАДИЯ}}$  – стадия БП по шкале Хен – Яра.

Полученная функция была статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Согласно значению R-квадрата Нэйджелкера, в функции учтены 80,6 % факторов, оказывающих влияние на низкий уровень КЖ пациентов с БП. Чувствительность и специфичность полученной функции (1) составили 95,9 и 80 % соответственно, а диагностическая ценность – 92,5 %.

Согласно полученной функции (1), наибольшее влияние на низкий уровень КЖ пациентов с БП оказывал пол, а именно принадлежность к женскому полу (ОШ = 20,0; 95% ДИ: 1,82–222,26). Увеличение стадии БП по шкале Хен – Яра на 1 единицу повышало вероятность низкого уровня КЖ в 8,77 раза (95% ДИ: 2,11–36,49). Интересные данные получены в отношении дневной сонливости и уровня депрессии. Так, дневная сонливость практически не корр-

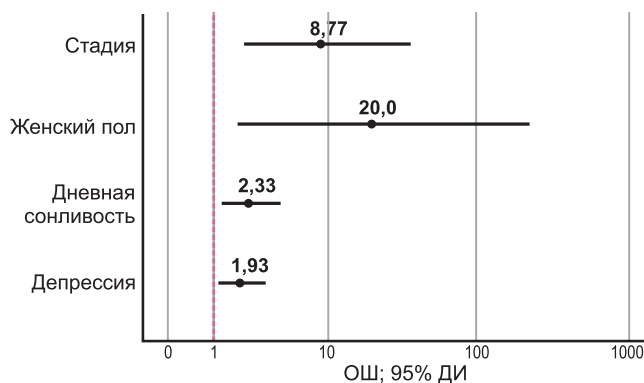
ТАБЛИЦА 1  
ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОЯВЛЕНИЙ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА С ПОДРАЗДЕЛАМИ ШКАЛЫ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ PDQ-39

TABLE 1  
CORRELATION OF CLINICAL MANIFESTATIONS OF PARKINSON'S DISEASE WITH QUALITY OF LIFE DOMAINS ACCORDING TO PDQ-39

Подразделы PDQ-39		Возраст	Стадия по Хен – Яру	Стаж болезни	3-я часть UPDRS	Депрессия по HADS	Тревога по HADS	NMSQuest	Шкала сонливости Эпворта	MoCA
Мобильность	<i>r</i>	<b>0,205</b>	<b>0,761</b>	<b>0,505</b>	<b>0,639</b>	<b>0,507</b>	<b>0,386</b>	<b>0,53</b>	0,191	<b>-0,29</b>
	<i>p</i>	<b>0,039</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,058	<b>0,003</b>
Повседневная активность	<i>r</i>	0,101	<b>0,648</b>	<b>0,45</b>	<b>0,619</b>	<b>0,545</b>	<b>0,336</b>	<b>0,4</b>	0,164	<b>-0,322</b>
	<i>p</i>	0,312	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,11	<b>&lt;0,001</b>
Эмоциональность	<i>r</i>	0,064	<b>0,35</b>	0,122	<b>0,372</b>	<b>0,655</b>	<b>0,644</b>	<b>0,529</b>	<b>0,269</b>	-0,178
	<i>p</i>	0,528	<b>&lt;0,001</b>	0,228	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,007</b>	0,075
Стигматизация	<i>r</i>	0,035	<b>0,356</b>	<b>0,243</b>	<b>0,294</b>	<b>0,318</b>	<b>0,337</b>	<b>0,293</b>	0,177	-0,081
	<i>p</i>	0,726	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,016</b>	<b>0,004</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,003</b>	0,079	0,418
Социальная поддержка	<i>r</i>	0,138	0,057	0,125	-0,047	<b>0,22</b>	<b>0,334</b>	0,072	0,059	-0,096
	<i>p</i>	0,168	0,576	0,216	0,649	<b>0,027</b>	<b>0,001</b>	0,48	0,562	0,342
Когнитивные функции	<i>r</i>	<b>0,268</b>	<b>0,416</b>	<b>0,239</b>	<b>0,417</b>	<b>0,478</b>	<b>0,318</b>	<b>0,588</b>	<b>0,322</b>	<b>-0,33</b>
	<i>p</i>	<b>0,007</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,017</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
Общение	<i>r</i>	0,139	<b>0,465</b>	<b>0,289</b>	<b>0,519</b>	<b>0,392</b>	0,136	<b>0,211</b>	-0,022	<b>-0,293</b>
	<i>p</i>	0,166	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,004</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,174	<b>0,035</b>	0,831	<b>0,003</b>
Телесные нарушения	<i>r</i>	0,028	0,202	0,154	0,124	0,199	0,201	0,159	<b>0,205</b>	<b>-0,226</b>
	<i>p</i>	0,781	0,043	0,128	0,231	0,046	0,044	0,114	<b>0,042</b>	<b>0,023</b>

Примечание. *r* – уровень корреляции; *p* – уровень статистической значимости.

лировала с подразделами шкалы PDQ-39 (табл. 1), однако повышение на 1 балл по шкале сонливости Эпворта увеличивало вероятность низкого уровня КЖ в 2,33 раза (95% ДИ: 1,24–4,38), тогда как увеличение уровня депрессии по шкале HADS на 1 балл – в 1,93 раза (95% ДИ: 1,13–3,32) (рис. 1).



**РИС. 1.**

Скорректированное отношение шансов с 95%-м доверительным интервалом независимых факторов риска низкого уровня качества жизни пациентов с болезнью Паркинсона

**FIG. 1.**

Adjusted odds ratio with 95% confidence interval for independent risk factors of low quality of life in patients with Parkinson's disease

## ОБСУЖДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона – тяжёлое прогрессирующее неврологическое расстройство, имеющее широкий клинический спектр и индивидуальные вариации [8]. Проведённое исследование детализировало влияние отдельных клинических признаков на вероятность низкого уровня КЖ у пациентов с БП. Наше исследование показало, что существует корреляция между двигательными нарушениями и стадией болезни Паркинсона по шкале Хен – Яра с одной стороны и нарушениями в таких подразделах шкалы PDQ-39, как мобильность и повседневная активность, – с другой. Это сходится с общим представлением о БП как преимущественно о двигательном расстройстве [9].

В ряде работ отмечается отрицательное влияние депрессии и тревоги на уровень КЖ пациентов [10–13]. В нашем исследовании депрессия имела средней силы корреляцию с эмоциональностью, дневной активностью и мобильностью, в то время как уровень тревоги – только с эмоциональностью.

Нарушения в когнитивной сфере различной степени тяжести встречаются на всех стадиях БП [14]. Умеренные когнитивные нарушения являются предвестниками деменции на поздних стадиях БП [15]. Однако мы не выявили сильной или средней взаимосвязи между когнитивными нарушениями и КЖ пациентов. Вероятно, это связано с тем, что у пациентов с когнитивными нарушениями сужается круг интересов и нет стремления к социальной активности.

Нарушения сна часто встречаются при БП и проявляются повышенной дневной сонливостью, синдромом беспокойных ног, расстройством поведения во сне с бы-

стрым движением глаз и нарушением циркадных ритмов [16, 17]. По нашим оценкам, дневная сонливость умеренно влияет на эмоциональную и когнитивную сферы.

Наше исследование отличается от проведённых ранее исследований тем, что нами предложена прогностическая формула оценки низкого уровня КЖ пациентов с БП на основании бинарной логистической регрессии. Интересно, что в конечную формулу не вошёл двигательный дефицит по 3-й части шкалы UPDRS, а включена стадия болезни по шкале Хен – Яра. Это связано с тем, что оба параметра оценивают одно и то же проявление БП – двигательный дефицит, имеют высокой силы корреляцию между собой ( $r = 0,76$ ;  $p < 0,001$ ) и при двойном включении могут ложно увеличить прогноз низкого уровня КЖ пациентов.

Нами доказано, что женский пол значительно увеличивает баллы PDQ-39 и, соответственно, наводит худший прогноз. В 2023 г. R. Patel и K. Kompoliti провели исследование гендерных особенностей БП и выявили, что у женщин раньше начинаются моторные осложнения и более тяжёлые немоторные проявления [18]. Наши результаты дополняют эти данные в части прогнозирования низкого КЖ пациентов.

Неожиданной находкой после построения прогностической модели явилось влияние депрессии и дневной сонливости на КЖ. Так, уровень депрессии, хотя и коррелировал с несколькими подразделами шкалы PDQ-39, в «чистом» виде оказывал меньшее влияние на снижение КЖ в целом. Так, увеличение на 1 балл по шкале HADS повышало риск худшего прогноза только в 1,93 раза (95% ДИ: 1,13–3,32). Напротив, нами выявлено большее влияние на худший прогноз дневной сонливости, а именно – увеличение риска в 2,33 раза (95% ДИ: 1,24–4,38) с каждым дополнительным баллом по шкале сонливости Эпворта.

Главным ограничением исследования является оценка большинства немоторных симптомов БП только путём использования шкалы NMSQuest. Безусловно, такие немоторные симптомы, как вегетативная недостаточность, существенно снижают КЖ пациентов. В то же время эти нарушения при БП встречаются на поздних стадиях, когда достоверная оценка КЖ невозможна в силу тяжёлых когнитивных нарушений. В ходе настоящего исследования мы пренебрегли социальными факторами, которые, несомненно, могут играть немаловажную роль в снижении уровня КЖ. Однако это является задачей следующего этапа наших исследований по БП.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами выявлено, что женский пол, стадия болезни по шкале Хен – Яра, уровень депрессии и дневной сонливости являются теми факторами, которые предрасполагают к худшему КЖ пациентов. Выведенная нами прогностическая формула может быть применена на приёмах врачей-неврологов для определения вероятности низкого уровня КЖ пациентов с БП.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Катунина Е.А., Бездольный Ю.Н. Эпидемиология болезни Паркинсона. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2013; 113(12): 81-88. [Katunina EA, Bezdol'nyi IuN. Epidemiology of Parkinson's disease. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2013; 113(12): 81-88. (In Russ.)].
2. Zhao N, Yang Y, Zhang L, Zhang Q, Balbuena L, Ungvari G, et al. Quality of life in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of comparative studies. *CNS Neurosci Ther*. 2021; 27(3): 270-279. doi: 10.1111/cns.13549
3. Aarsland D, Batzu L, Halliday GM, Geurtsen G, Ballard C, Chaudhuri KR, et al. Parkinson disease-associated cognitive impairment. *Nat Rev Dis Primers*. 2021; 7(1): 1-21. doi: 10.1038/s41572-021-00280-3
4. Левин О.С., Артемьев Д.В., Бриль Е.В., Кулуа ТК. Болезнь Паркинсона: современные подходы к диагностике и лечению. *Практическая медицина*. 2017; 1(102): 45-51. [Levin OS, Artemev DV, Bril EV, Kulua TK. Parkinson's disease: Modern approaches to diagnosis and treatment. *Practical Medicine*. 2017; 1(102): 45-51. (In Russ.)].
5. Иллариошкин С.Н. Современные представления об этиологии болезни Паркинсона. *Неврологический журнал*. 2015; 20(4): 4-13. [Illarioshkin SN. Modern view on etiology of Parkinson's disease. *Neurological Journal*. 2015; 20(4): 4-13. (In Russ.)].
6. Engels G, Douw L, Kerst Y, Weinstein H, Schreder E, Vlaar A. Non-motor symptoms in Parkinson's disease: An explorative network study. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019; 66: 237-240. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.08.002
7. Титова Н.В., Катунина Е.А. Современные возможности улучшения качества жизни пациентов на поздних стадиях болезни Паркинсона. *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2015; 3: 94-100. [Titova NV, Katunina EA. The concept of continuous dopaminergic stimulation in the treatment of late stages of Parkinson's disease. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2015; 3: 94-100. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro20151153194-100
8. Kuhlman GD, Flanigan JL, Sperling SA, Barrett MJ. Predictors of health-related quality of life in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019; 65: 86-90. doi: 10.1016/j.parkreldis.2019.05.009
9. Cao LX, Jiang Y, Piao YS, Huang Y. Rapid motor progression of Parkinson's disease associates with clinical and genetic variants. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2021; 26(12): 1503-1512. doi: 10.52586/5044
10. Kaiserova M, Grambalova Z, Kurcova S, Otruba P, Vranova H, Mensikova K, et al. Premotor Parkinson's disease: Overview of clinical symptoms and current diagnostic methods. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2021; 165(2): 103-112. doi: 10.5507/bp.2021.002
11. Нодель М.Р., Махмудова Г.Ж., Нийноя И.Н.В., Романов Д.В. Особенности пациентов с депрессией на ранних стадиях болезни Паркинсона: поперечное наблюдательное исследование. *Consilium Medicum*. 2022; 24(2): 118-122. [Nodel MR, Mahmudova GZh, Niinoja INV, Romanov DV. Patients with depression in the early stages of Parkinson's disease: A cross-sectional observational study. *Consilium Medicum*. 2022; 24(2): 118-122. (In Russ.)]. doi: 10.26442/20751753.2022.2.201507
12. Федорова Н.В., Никитина А.В. Депрессия, апатия и ангедония при болезни Паркинсона: механизмы развития немоторных проявлений и подходы к коррекции. *Нервные болезни*. 2012; 3: 31-36. [Fedorova NV, Nikitina AV. Depression, apathy and anhedonia in Parkinson's disease: Mechanisms of development of non-motor manifestations and approaches to correction. *Nervous Diseases*. 2012; 3: 31-36. (In Russ.)].
13. Ferreira RM, Alves WMGDC, de Lima TA, Alves T, Filho P, Pimentel C, et al. The effect of resistance training on the anxiety symptoms and quality of life in elderly people with Parkinson's disease: A randomized controlled trial. *Arq Neuropsiquiatr*. 2018; 76(8): 499-506. doi: 10.1590/0004-282X20180071
14. Aarsland D, Creese B, Politis M, Chaudhuri KR, Ffytche D, Weintraub D, et al. Cognitive decline in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol*. 2017; 13(4): 217-231. doi: 10.1038/nrneuro.2017.27
15. Severiano E, Fabbri M, Godinho C, Simoes R, Chendo I, Coelho M, et al. Profile of cognitive impairment in late-stage Parkinson's disease. *Brain Behav*. 2022; 12(4): 1-11. doi: 10.1002/brb3.2537
16. Zuzuárregui J, During E. Sleep issues in Parkinson's disease and their management. *Neurotherapeutics*. 2020; 17(4): 1480-1494. doi: 10.1007/s13311-020-00938-y
17. Stefani A, Högl B. Sleep in Parkinson's disease. *Neuropsychopharmacology*. 2020; 45(1): 121-128. doi: 10.1038/s41386-019-0448-y
18. Patel R, Kompoliti K. Sex and gender differences in Parkinson's disease. *Neurol Clin*. 2023; 41(2): 371-379. doi: 10.1016/j.ncl.2022.12.001

### Сведения об авторах

**Копылова Лилия Ивановна** – аспирант, ассистент кафедры неврологии и психиатрии Медицинского института, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», e-mail: kopylovalily@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3570-3403>

**Тарпахов Алексей Алексеевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры неврологии и психиатрии Медицинского института, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», e-mail: tappakhov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4159-500X>.

**Николаева Татьяна Яковлевна** – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой неврологии и психиатрии Медицинского института, ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова», e-mail: tyanic@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4201-8570>

### Information about the authors

**Liliya I. Kopylova** – Postgraduate, Teaching Assistant at the Department of Neurology and Psychiatry of the Medical Institute, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, e-mail: kopylovalily@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3570-3403>

**Alexey A. Tappakhov** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Neurology and Psychiatry of the Medical Institute, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, e-mail: tappakhov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4159-500X>

**Tatiana Ya. Nikolaeva** – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Neurology and Psychiatry of the Medical Institute, M.K. Ammosov North-Eastern Federal University, e-mail: tyanic@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4201-8570>

## ОСОБЕННОСТИ ПОРАЖЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И ПСИХИЧЕСКОЙ СФЕРЫ У ПАЦИЕНТОВ ПРИ КОМОРБИДНОМ ТЕЧЕНИИ ПОСТКОВИДНОГО СИНДРОМА

Бейгель Е.А.<sup>1,2</sup>,  
Катаманова Е.В.<sup>1,2</sup>,  
Лахман О.Л.<sup>1,2</sup>,  
Казакова П.В.<sup>1</sup>,  
Шевченко О.И.<sup>1</sup>,  
Павленко Н.А.<sup>1</sup>,  
Мараев М.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (665827, г. Ангарск, 12а микрорайон, 3, Россия)

<sup>2</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Катаманова Елена Владимировна,  
e-mail: katamanova\_e\_v@mail.ru

### РЕЗЮМЕ

Распространённость постковидного синдрома у пациентов, получавших лечение амбулаторно, составляет от 10 до 35 %, а у пациентов с тяжёлой степенью коронавирусной инфекции она может достигать 80 %. В настоящее время предполагается, что постковидный синдром может быть обусловлен как непосредственным воздействием вируса SARS-CoV-2, так и биопсихосоциальными эффектами COVID-19.

**Цель работы.** Изучить особенности поражения центральной нервной системы и психической сферы у пациентов с коморбидной патологией.

**Методы.** Для изучения клинических особенностей течения постковидного синдрома обследовано 98 пациентов, перенёсших COVID-19, из них 18 (18,4 %) мужчин и 80 (81,6 %) женщин. Средний возраст в группе составил  $56,05 \pm 1,27$  года. Программа обследования включала анкетирование, клиническое исследование, пульсоксиметрию, оценку переносимости физической нагрузки с использованием шкалы Борга. Статистическая обработка проводилась при помощи программного пакета Statistica, version 6 (StatSoft Inc., США). Результаты исследования представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. После анализа соответствия изучаемых показателей закону о нормальном распределении (тест Шапиро – Уилка) сравнение групп осуществляли с помощью теста Уилкоксона для попарного сравнения связанных выборок. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Проведённые нами исследования коморбидности и осложнений после перенесённой COVID-19 инфекции выявили наиболее частое вовлечение в патологический процесс трёх систем: сердечно-сосудистой, нервной и эндокринной. Метаболический синдром выявлен у 67 %, вовлечение сердечно-сосудистой системы – у 48,8 % обследованных. Одним из основных проявлений постковидного синдрома является поражение центральной нервной системы и психической сферы в виде лёгких когнитивных и эмоционально-волевых нарушений с астено-депрессивными и тревожно-депрессивными расстройствами.

**Заключение.** Состояние здоровья пациентов после COVID-19 значительно хуже, чем у населения в целом. Результаты исследования указывают на настоятельную необходимость изучения патогенеза тяжёлого COVID-19 и разработки эффективных вмешательств для снижения риска его развития.

**Ключевые слова:** постковидный синдром, коморбидность, когнитивные нарушения, полинейропатия конечностей

**Для цитирования:** Бейгель Е.А., Катаманова Е.В., Лахман О.Л., Казакова П.В., Шевченко О.И., Павленко Н.А., Мараев М.Д. Особенности поражения центральной нервной системы и психической сферы у пациентов при коморбидном течении постковидного синдрома. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 184–193. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.20

Статья поступила: 26.03.2024

Статья принята: 11.09.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

## FEATURES OF DAMAGE TO THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM AND MENTAL SPHERE IN PATIENTS WITH COMORBID POST-COVID SYNDROME

Beygel E.A.<sup>1,2</sup>,  
 Katamanova E.V.<sup>1,2</sup>,  
 Lakhman O.L.<sup>1,2</sup>,  
 Kazakova P.V.<sup>1</sup>,  
 Shevchenko O.I.<sup>1</sup>,  
 Pavlenko N.A.<sup>1</sup>,  
 Maraev M.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research (12a mikrorayon 3, Angarsk 665827, Russian Federation)

<sup>2</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyny 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author:

Elena V. Katamanova,  
 e-mail: katamanova\_e\_v@mail.ru

### ABSTRACT

*The prevalence of post-COVID syndrome in patients treated on an outpatient basis ranges from 10 to 35 %; it can reach 80 % in patients with severe coronavirus infection. It is currently hypothesized that long-COVID may be due to both the direct effects of the SARS-CoV-2 virus and the biopsychosocial effects of COVID-19.*

**The aim.** To study the characteristics of damage to the central nervous system and mental sphere in patients with comorbid post-COVID syndrome.

**Materials and methods.** To study the clinical features of the course of post-COVID syndrome, 98 patients who had suffered COVID-19 were examined. Of these, 18 (18.4 %) were men, 80 (81.6 %) were women. The mean age in the group was  $56.05 \pm 1.27$  years. The examination program included a questionnaire, clinical examination, pulse oximetry, and assessment of exercise tolerance using the Borg scale. Statistical processing was carried out using the Statistica software package, version 6 (StatSoft Inc., USA). The results of the study are presented as a median, upper and lower quartiles. After analyzing the compliance of the studied indicators with the law of normal distribution (Shapiro – Wilk test), the groups were compared using the Wilcoxon test for pairwise comparison of related samples. Differences were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

**Results.** Our studies of comorbidity and complications after COVID-19 infection revealed the most frequent involvement of three systems in the pathological process: cardiovascular, nervous and endocrine. Metabolic syndrome was detected in 67 % and involvement of the cardiovascular system was detected in 48.8 % of those examined. One of the main manifestations of post-COVID syndrome is damage to the central nervous system and mental sphere in the form of mild cognitive and emotional-volitional disorders with asthenodepressive and anxiety-depressive disorders.

**Conclusion.** The health status of patients after COVID-19 is significantly lower than that of the general population. The study results indicate an urgent need to study the pathogenesis of long COVID and develop effective interventions to reduce the risk of its development.

**Key words:** post-COVID syndrome, comorbidity, cognitive impairment, polyneuropathy of the extremities

Received: 26.03.2024  
 Accepted: 11.09.2024  
 Published: 22.11.2024

**For citation:** Beygel E.A., Katamanova E.V., Lakhman O.L., Kazakova P.V., Shevchenko O.I., Pavlenko N.A., Maraev M.D. Features of damage to the central nervous system and mental sphere in patients with comorbid post-COVID syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 184-193. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.20

## ОБОСНОВАНИЕ

С декабря 2019 г. в мире стали регистрироваться случаи острой вирусной пневмонии, определённой как коронавирусная болезнь 2019 года (COVID-19, coronavirus disease 2019). По данным статистики, на июнь 2023 г. в мире установлено свыше 690 млн подтверждённых случаев COVID-19, в том числе более 6 млн пациентов умерли. Особую проблему вызывает наличие у переболевших коронавирусной инфекцией лиц разных негативных последствий в организме в виде астении, одышки и других проявлений, даже через несколько месяцев после выздоровления. По определению Всемирной организации здравоохранения, это постковидный синдром, который развивается у лиц с анамнезом вероятной или подтверждённой инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, как правило, в течение 3 месяцев от момента её дебюта и характеризуется наличием симптомов на протяжении не менее 2 месяцев, а также невозможностью их объяснения альтернативным диагнозом [1, 2].

Распространённость постковидного синдрома у пациентов, получавших лечение амбулаторно, составляет от 10 до 35 %; у пациентов с тяжёлой степенью коронавирусной инфекции может достигать 80 %. В настоящее время предполагается, что постковидный синдром может быть обусловлен как непосредственным воздействием вируса SARS-CoV-2, так и биопсихосоциальными эффектами COVID-19 [3].

Имеются сведения о том, что у лиц, перенёвших COVID-19, при развитии постковидного синдрома, кроме метаболических изменений, возникают осложнения в виде нарушений углеводного обмена и развития сахарного диабета. Немаловажную роль в этом может играть наличие у пациента эндотелиальной дисфункции и изменение реологического профиля. С метаболическими нарушениями связывают, в том числе, ускоренные темпы старения. Известно, что метаболические нарушения ведут к когнитивным расстройствам. Характерной чертой стареющего организма является снижение уровня пластического обмена на фоне общего уменьшения интенсивности обмена веществ. Снижение интенсивности обмена веществ начинается уже с 30–35 лет, что является основой постепенного перерождения тканей и развития процессов инволюции. При этом происходит внутриклеточная дегидратация, которая сопровождается потерей не только воды, но и азота и минеральных солей [4]. Распад белков, особенно в мышечной ткани, стимулирует недостаток инсулина. Нарушение углеводного обмена часто приводит к ожирению, избыточной массе тела за счёт увеличения содержания резервного жира [5].

В комплекс неврологических симптомов чаще всего входят утомляемость, дефицит памяти/внимания, нарушения сна, миалгии и нарушения обонятельной функции [6]. По данным Л.В. Чичановской, в 75,9 % случаев из 104 обследованных лиц была выявлена дисфункция вегетативной нервной системы [7].

При оценке качества жизни, связанного со здоровьем (СКЖЗ), треть пациентов с клинически подтверж-

дённым постковидным синдромом демонстрируют снижение всех показателей психического компонента здоровья. Наиболее часто у пациентов с постковидным синдромом страдает ролевое функционирование, связанное с физическим и эмоциональным состоянием [8]. Астеническое состояние – одно из наиболее частых проявлений перенесённой COVID-инфекции разной степени тяжести. У пациентов с неврологической патологией астения может усугублять течение основного заболевания [9]. Неспецифические симптомы постковидного синдрома включают в себя усталость, одышку, когнитивные нарушения и другие состояния, влияющие на повседневную жизнь. Симптомы могут возникать в период заболевания COVID-19 и сохраняться после или появляться только после выздоровления. Также симптомам свойственно меняться или рецидивировать с течением времени [10].

Болезнь может сопровождаться одышкой, лихорадкой, кашлем и потерей обоняния. Но инфекция влияет и на психическое состояние. Помимо нарушений центральной нервной системы, у выздоровевших могут возникать долгосрочные осложнения в виде депрессии, тревоги, появления бессонницы, ухудшения памяти, нарушения внимания и его концентрации, снижения способности к длительному умственному и физическому напряжению, появления отрицательных негативных эмоций, ухудшая СКЖЗ, в связи с чем актуально выявление данных симптомов в постковидном периоде для своевременной терапии [11].

Согласно данным литературы, установлена разнонаправленность изменений после перенесённой COVID-инфекции со стороны практически всех органов и систем. Медицинское сообщество разделилось во мнении о наличии или отсутствии «постковидного синдрома» [12, 13]. В связи с этим нами проведена объективизация жалоб пациентов с постковидным синдромом с проведением углублённого обследования. Полученные результаты в дальнейшем помогут в разработке персонализированных схем реабилитации.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение особенностей поражения центральной нервной системы и психической сферы у пациентов с коморбидной патологией.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения клинических особенностей течения постковидного синдрома обследовано 98 пациентов, перенёвших COVID-19, из них 18 (18,4 %) мужчин и 80 (81,6 %) женщин. Средний возраст в группе составил  $56,05 \pm 1,27$  года. Для сравнения нейропсихологических показателей группы пациентов, перенёвших COVID-19, подобрана группа сравнения – 30 человек (20 женщин, 10 мужчин), сопоставимых по возрасту (средний возраст –  $53,3 \pm 3,2$  года), которые не болели COVID-19.

Критерии исключения: наличие острых инфекционных заболеваний на момент обследования или обострение хронической патологии; наличие в анамнезе таких заболеваний, как инсульт, инфаркт, ишемическая болезнь сердца, почечная, печёночная недостаточность, туберкулёз любой локализации, аутоиммунные, онкологические заболевания.

Для изучения клинических особенностей течения постковидного синдрома применяли анкетирование. Использовалась анкета «Вопросы по оценке здоровья и признаков отдельных заболеваний», разработанная на базе клиники ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (ФГБНУ ВСИМЭИ), с ответами типа да/нет, с уточнением проявлений перенесённой коронавирусной инфекции, факта госпитализации и вакцинации. Также использовался вопросник для первичной самооценки здоровья пациентов, перенёвших новую коронавирусную инфекцию: рекомендации междисциплинарного совета экспертов по проведению скрининга симптомов постковидного периода при углублённой диспансеризации [14]. С целью упрощения процесса заполнения документа и наибольшего охвата возможных патологических симптомов применяется оценка наличия или отсутствия того или иного признака по типу да/нет. Кроме того, проводилось анкетирование по анкете, созданной рабочей группой по сердечно-сосудистой терапии Европейского общества кардиологов (ESC, European Society of Cardiology) и Российским кардиологическим обществом (РКО) при поддержке компании «Сервье»<sup>1</sup>.

Для оценки переносимости физической нагрузки у пациентов с постковидным синдромом использовалась шкала Борга (Borg scale) [15].

Осуществлялось неинвазивное определение сатурации – для измерения процентного содержания оксигемоглобина артериальной крови выполняли пульсоксиметрию с помощью пульсоксиметра РМ-60 (МОД.36500; Mindray, Китай).

Изучение высших психических процессов проводили по показателям кратковременной оперативной вербальной, отсроченной вербальной памяти с помощью методики заучивания десяти слов А.Р. Лурия [16]. По результатам корректурной пробы Бурдона оценивался уровень умственной работоспособности, её продуктивность и эффективность, а также объём, концентрация внимания и способность к его переключению [17]. Исследование уровня, целенаправленности мышления, умения понимать и оперировать переносным смыслом текста, дифференцированности и целенаправленности суждений, уровня развития речевых процессов проводилось с помощью методики «Толкование словиц». Для выявления симптомов депрессии и тревожности с целью их дальнейшей коррекции использовалась Госпитальная шкала тревоги и депрессии (HADS, Hospital Anxiety and Depression Scale) [18]. Измерение качества жизни, связанного со здоровьем, с определением комплексного показателя, отражающего степень

адаптации человека к болезни, оценку им собственного здоровья и возможность выполнения привычных социально-экономических функций, проводилось по методике European Quality of Life Questionnaire (EQ-5D) [19–21].

Статистическая обработка проводилась при помощи программного пакета Statistica, версия 6 (StatSoft Inc., США). Результаты исследования представлены в виде медианы (Me), верхнего ( $Q_{25}$ ) и нижнего ( $Q_{75}$ ) квартилей. После анализа соответствия изучаемых показателей закону о нормальном распределении (тест Шапиро – Уилка) сравнение групп осуществляли с помощью теста Уилкоксона для попарного сравнения связанных выборок. Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

Обследование пациентов проведено в соответствии с этическими стандартами, приведёнными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г., и «Правилами надлежащей клинической практики» (утверждены приказом Минздрава России № 200н от 01.04.2016). Все обследованные подписали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» (протокол № 2 от 21.02.2023).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные анкетирования по «Вопросам оценки здоровья и признаков отдельных заболеваний» представлены в таблице 1.

Как видно из представленных результатов, перенесённая коронавирусная инфекция не осложнялась пневмонией у 63 человек; перенесли COVID-19-ассоциированную пневмонию 35 человек. Из ведущих симптомов во время острого инфицирования установлено: потеря обоняния – почти у 60 % обследованных; симптомы астении – у 45 %; лихорадка – у 41 %. Лечение на дому получали 74 % лиц, остальные были госпитализированы. Вакцинацию прошёл каждый третий из группы обследованных. 5,2 % перенесли COVID-19 в 2023 г.

Опросник Всемирной организации здравоохранения включает вопросы, направленные на выявление возможных признаков заболевания различных органов и систем, и структурирован на главы, посвящённые скринингу симптомов со стороны органов дыхания, сердечно-сосудистой и эндокринной систем, неврологических и психических нарушений, заболеваний кожных покровов. Результаты анкетирования по данному опроснику представлены в таблице 2.

Согласно данным анкетирования, симптомы со стороны дыхательной системы (насморк, заложенность носа) зарегистрированы у 52,6 % обследованных; симптомы вовлечения сердечно-сосудистой системы (сердцебиение, отёки) – у 55,0–56,0 %; проявления со стороны желудочно-кишечного тракта (изжога, тошнота, рвота) – у 33,0–36,0 %; артралгии – более чем у 80 %; неврологические и психические нарушения – примерно у 70,0 %.

<sup>1</sup> <https://servier.ru>

**ТАБЛИЦА 1**  
**РЕЗУЛЬТАТЫ АНКЕТИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ**  
**С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ ПО ОПРОСНИКУ**  
**«ВОПРОСЫ ОЦЕНКИ ЗДОРОВЬЯ И ПРИЗНАКОВ**  
**ОТДЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ»**

Вопросы	% [95% ДИ]
Болел коронавирусной инфекцией с поражением лёгких	37,9 [28,1–47,7]
Проявлений коронавирусной инфекции: нет (бессимптомно)	33,7 [24,2–43,2]
Проявления коронавирусной инфекции: потеря обоняния	57,9 [48,0–67,8]
Проявления коронавирусной инфекции: лихорадка	41,1 [31,2–50,9]
Проявления коронавирусной инфекции: пневмония	29,5 [20,3–38,6]
Другие проявления коронавирусной инфекции	45,3 [35,3–55,3]
Антитела IgG обнаружены	10,5 [4,3–16,7]
Лечение от коронавирусной инфекции получал дома	74,7 [66,0–83,5]
Госпитализирован по поводу коронавирусной инфекции	25,3 [20,3–38,6]
Вакцинирован от коронавирусной инфекции	32,6 [23,2–42,1]

**Примечание.** 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал.

**TABLE 1**  
**RESULTS OF SURVEY OF PATIENTS WITH POST-COVID**  
**SYNDROME USING QUESTIONNAIRE “ASSESSING HEALTH**  
**AND SIGNS OF CERTAIN DISEASES”**

При поступлении в стационар клиники ФГБНУ ВСИ-МЭИ пациенты жаловались на: одышку при незначительной физической нагрузке – 100 %, общую слабость – 100 %, быструю утомляемость – 96 %, нарушение сна – 92 %, перепады настроения – 80 %, чувство тревоги – 68 %, ночные панические расстройства – 32 %, головные боли – 76 %, головокружение несистемного характера – 56 %.

При определении уровня насыщения гемоглобина кислородом по данным сатурации показатель StPO<sub>2</sub> составил 96,0 (95,0–96,0) %. Учитывая, что данный уровень относится к нижней границе нормы, объяснима одышка у данной категории лиц при незначительной физической нагрузке. Полученные результаты подтверждаются результатами анкетирования по шкале Борга. Количество баллов составило 1,0 (0,0–3,0), что характеризуется от слабой до умеренной степени выраженностью одышки во время физической нагрузки.

Для объективизации данных анкетирования все пациенты прошли углублённое клинико-функциональное обследование с осмотром соответствующих специалистов. Установлена следующая коморбидность: метаболический синдром (67 % обследованных) в виде сахарного диабета – у 16,8 % обследованных; нарушение толерантности к глюкозе – у 16,8 %; ожирение – у 25,1 %; избыточная масса тела – у 8,3 %. Патология щитовидной железы зарегистрирована в виде многоузлового зоба с эутиреозом у 12,9 %, гипотиреоз – у 3,8 %, тиреотоксикоз – у 0,7 % обследованных. Вовлечение сердечно-сосудистой системы установлено у 48,8 % обследованных в виде гипертонической болезни и у 8,3 % – в виде ишемической болезни сердца. Патология опорно-двигательного аппарата зарегистрирована у 67 человек,

что составляет 48,8 %, и представлена в виде постковидной артропатии (19,4 %), остеоартроза (22,6 %) и остеопороза (6,7 %).

По данным фиброэзофагогастродуоденоскопии явления хронического гастрита установлены у 27 человек, что составило 19,4 %, язвенные дефекты желудка и двенадцатиперстной кишки – у 3 человек, что составило 2,1 %.

Неврологические осложнения по результатам неврологического осмотра в виде когнитивных и эмоционально-волевых нарушений зарегистрированы у 35,2 %, наличие полинейропатии конечностей – у 29,4 % обследованных. Вегетативные расстройства проявлялись психовегетативным синдромом у 84 % обследованных; у ряда пациентов имелась психопатологическая симптоматика, которая квалифицировалась как депрессивная, в рамках которой были выделены астено-депрессивный (у 36,0 %) и тревожно-депрессивный (у 28,0 %) синдром.

Результаты медико-психологического исследования были получены на основе наблюдения, опроса и клинического интервью. Данные проявления отсутствовали до COVID-19 и установлены после перенесённого заболевания.

Субъективные характеристики познавательных функций у пациентов были представлены жалобами на ухудшение памяти, рассеянность внимания, утомляемость, снижение работоспособности, возникшими без видимых причин, по сравнению с прошлым, снижение мотивации, а при волнении – на затруднения в формулировании мыслей.

В результате проведения нейропсихологического тестирования у пациентов зарегистрировано повышение значений, характеризующих состояние кратко-

**ТАБЛИЦА 2**  
**РЕЗУЛЬТАТЫ АНКЕТИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ**  
**С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ ПО ОПРОСНИКУ**  
**ВСЕМИРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

**TABLE 2**  
**RESULTS OF SURVEY OF PATIENTS WITH POST-COVID**  
**SYNDROME USING WORLD HEALTH ORGANIZATION**  
**QUESTIONNAIRE**

Жалобы и симптомы	% [95% ДИ]
Отмечается повышение температуры	28,4 [19,4–37,5]
Беспокоит общая слабость	74,7 [66,0–83,5]
Отмечается ухудшение зрения, боль или жжение в глазах	72,6 [63,7–81,6]
Имеется боль в ухе, снижение слуха или шум в ушах	48,4 [38,4–58,5]
Беспокоит насморк или заложенность носа в межпростудный период	52,6 [42,6–62,7]
Имеются аллергические реакции	34,7 [25,2–44,3]
Жалобы на сердцебиение и/или боль в грудной клетке	55,8 [45,8–65,8]
Отмечается появление отёков на ногах	56,8 [46,9–66,8]
Снижен аппетит	15,8 [8,5–23,1]
Похудели за последние 3 месяца на 5 кг и более	9,5 [3,6–15,4]
Беспокоит изжога, затруднение при глотании	33,7 [24,2–43,2]
Беспокоит тошнота или рвота	14,7 [7,6–21,9]
Беспокоят боли в животе	36,8 [27,1–46,5]
Беспокоят нарушения функции кишечника	34,7 [25,2–44,3]
Беспокоят проблемы с мочеиспусканием	27,4 [18,4–36,3]
Беспокоят боли в суставах, мышцах, шее, спине	84,2 [76,9–91,5]
Бывают эпизоды потери сознания или судорожные приступы	21,1 [12,9–29,3]
Отмечается онемение или слабость в конечностях	65,3 [55,7–74,8]
Беспокоит головная боль	77,9 [69,6–86,2]
Отмечается снижение памяти	74,7 [66,0–83,5]
Беспокоит бессонница или сонливость в течение дня	72,6 [63,7–81,6]
Родственники отмечают громкий храп или остановку дыхания	49,5 [39,4–59,5]
Отмечается тревога или пониженное настроение	53,7 [43,7–63,7]
Перенесены травмы, операции	60,0 [50,1–69,9]
Проводится ежегодная диспансеризация	53,7 [43,7–63,7]
Выявлялось повышенное артериальное давление	78,9 [70,7–87,1]
Выявлялся повышенный уровень холестерина	53,7 [43,7–63,7]
Выявлялся повышенный уровень глюкозы	36,8 [27,1–46,5]
Выявлялась избыточная масса тела	61,1 [51,2–70,9]
Контакт с вредными факторами на работе или дома	17,9 [10,2–25,6]
Подвергались воздействию табачного дыма (пассивное курение)	38,9 [29,1–48,8]

**Примечание.** 95% ДИ – 95%-й доверительный интервал.

временной (слухоречевой) и долговременной памяти, конструктивного праксиса (реципрокная координация) (табл. 3). Значения по шкале MoCA (Montreal COgnitive Assessment) у пациентов основной группы при сопоставлении с группой сравнения также свидетельствуют о легко выраженном снижении когнитивных способностей (25,0 (24,0–26,0) и 28,0 (27,0–29,0) баллов соответственно;  $p = 0,003$ ).

Мозговая дефицитарность у пациентов с постковидным синдромом, согласно нейропсихологическому тестированию, может быть обусловлена неполноценностью функционирования нижней височной доли левого полушария, гиппокампа, мозолистого тела.

Полученные количественные данные по методике «Коррективная проба» показали, что неустойчивость внимания у пациентов имеет индивидуальные формы проявления. Так, у 13,0 (6,0–16,9) % обследованных отмечались максимальное напряжение и достаточная работоспособность. Более чем у половины обследованных (87 %) при выполнении задания выявлен малый объём внимания (858,0 (546,00–1131,00) знаков), отмечались жалобы на усталость, большую нагрузку на зрение, трудности при переходе от одной строки к другой, что может указывать на наличие истощаемости, трудности пере-

ключения, распределения и колебания внимания, низкую работоспособность. У 42 % обследованных выявлено большое количество ошибочно отмеченных и пропущенных букв (6,00 (2,00–9,00)), что характеризует низкий уровень концентрации внимания (табл. 4).

У 33,0 % обследованных отмечалась недостаточная способность испытуемых к абстрагированию, возможности образования новых понятий, что может указывать на преобладание конкретно-действенного типа мышления и недостаточно развитое абстрактное мышление, при этом у таких пациентов может страдать целенаправленность мыслительной деятельности и частично – критичность мышления. У остальных (67,0 %) таких особенностей мышления не выявлено. Показатели, влияющие на качество жизни, связанное со здоровьем, представлены в таблице 5.

Эмоционально-личностная сфера деятельности – сложная по структуре составляющая психической деятельности человека, выполняющая ряд важных функций, в том числе регулирующую, придающую пристрастность и осмысленность нашим действиям, которые зависят от наличия ресурсов, для удовлетворения потребностей, вследствие чего возникают или положительные, или отрицательные эмоции. Отрицательные негативные эмо-

**ТАБЛИЦА 3**  
**СТАТИСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМО ОТЛИЧАЮЩИЕСЯ НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ПАЦИЕНТОВ С ПОСТКОВИДНЫМ СИНДРОМОМ И У ЛИЦ ГРУППЫ СРАВНЕНИЯ, МЕ (Q25–Q75)**

Нейропсихологические показатели, баллы	Группа пациентов, перенёвших COVID-19 (n = 98)	Группа сравнения (n = 30)	Уровень статистической значимости отличий (p)
Показатель кратковременной (слухоречевой) памяти (тест «10 слов»)	2,5 (0–3,0)	0,0 (0,0–1,0)	0,001
Показатель долговременной памяти (тест «10 слов»)	2,5 (2,0–3,0)	2,0 (1,0–2,0)	0,041
Показатель конструктивного праксиса (проба Озерецкого)	1,5 (0–2,0)	0,3 (0,0–1,0)	0,003

**TABLE 3**  
**STATISTICALLY SIGNIFICANTLY DIFFERENT NEUROPSYCHOLOGICAL INDICATORS IN PATIENTS WITH POST-COVID SYNDROME AND IN THE COMPARISON GROUP, ME (Q25–Q75)**

**ТАБЛИЦА 4**  
**ВЫРАЖЕННОСТЬ НАРУШЕНИЙ И ПОКАЗАТЕЛИ АТТЕНЦИОННОЙ СФЕРЫ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ, ВКЛЮЧАЮЩИЕ УРОВЕНЬ НАРУШЕНИЙ, ОБЪЁМ И КОНЦЕНТРАЦИЮ ВНИМАНИЯ, В ГРУППЕ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЁШИХ COVID-19 (n = 98)**

Показатели	Размах изменений	Значение
Объём внимания (знаки), Ме (Q25–Q75)	–	858,0 (546,0–1131,0)
Количество ошибок (абс.), Ме (Q25–Q75)	–	6,0 (2,00–9,0)
Внимание, % [95% ДИ]	норма	13,0 [6,0–16,9]
	умеренное снижение	68,7 [60,8–76,6]
	нарушения	18,3 [11,7–24,9]

**TABLE 4**  
**THE SEVERITY OF IMPAIRMENTS AND INDICATORS OF THE ATTENTIONAL SPHERE OF ACTIVITY, INCLUDING THE LEVEL OF IMPAIRMENTS, VOLUME AND ATTENTIVENESS IN PATIENTS WHO HAVE HAD COVID-19 (n = 98)**

**ТАБЛИЦА 5**  
**ПОКАЗАТЕЛИ ШКАЛЫ HADS У ПАЦИЕНТОВ,**  
**ПЕРЕНЁСШИХ COVID-19 (n = 98)**

Показатели	Наличие/отсутствие	Значение
Субклиническая тревога, % [95% ДИ]	Есть	21,4 [14,4–28,4]
Субклиническая депрессия, % [95% ДИ]	Есть	10,4 [5,2–15,6]
Клиническая тревога, % [95% ДИ]	Есть	9,2 [4,2–14,1]
Клиническая депрессия, % [95% ДИ]	Есть	6,9 [2,5–11,2]

**TABLE 5**  
**HADS INDICATORS IN PATIENTS**  
**WHO HAVE HAD COVID-19 (n = 98)**

ции, такие как тревога, страх, гнев, сомнения, раздражительность и другие, могут в значительной степени влиять на состояние здоровья в виде астенизации, влияющей на СКЖЗ. Диагностика астенического состояния выявила у 28,2 [20,5–36,0] % обследованных слабую астению, а у 10,7 [5,4–16,0] % – умеренную астению, свидетельствующую о наличии болезненного состояния, проявляющегося повышенной утомляемостью и истощаемостью с умеренной неустойчивостью настроения, ослаблением самообладания, нетерпеливостью, неусидчивостью, нарушением сна, снижением способности к длительному умственному и физическому напряжению, непереносимостью громких звуков, яркого света, резких запахов.

Анализ ответов о качестве жизни, связанном со здоровьем (пять компонентов EQ-5D), показал, что 35 % обследуемых лиц находятся в «полном здоровье» (профиль здоровья «11111»); 55 % обследуемых лиц сообщили, что у них имеются некоторые проблемы по нескольким из пяти компонентов профиля здоровья, а 10 % имеют как минимум одну выраженную проблему (значение «3» как минимум по одной из компонент). Среднее значение индекса на основе аналоговой шкалы EQ-VAS (визуально-аналоговая шкала) в виде численной характеристики самооценки здоровья от 1 до 100 на момент исследования (наилучшее из возможных в его представлении состояний здоровья) составило 70,00 (50,00–80,00) баллов, что согласуется с популяционным данными в соответствии определённой возрастной категории – ВАШ 64 [22].

## ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённые нами исследования коморбидности и осложнений после перенесённой инфекции COVID-19 выявили наиболее частое вовлечение в патологический процесс трёх систем: сердечно-сосудистой, нервной и эндокринной. Метаболический синдром выявлен у 67 %, вовлечение сердечно-сосудистой системы – у 48,8 % обследованных. Одним из основных проявлений постковидного синдрома является поражение центральной нервной системы и психической сферы в виде лёгких когнитивных и эмоционально-волевых нарушений с астено-депрессивным и тревожно-депрессивным компонентами.

В литературе последствия COVID-19 включают широкий спектр симптомов, которые подпадают под об-

щий термин «состояние или синдром после COVID-19». Авторы отмечают, что усталость, непереносимость физических нагрузок и недомогание после физической нагрузки являются одними из наиболее частых симптомов постковидного синдрома [23]. В другом исследовании было показано, что наиболее распространёнными симптомами у пациентов с перенесённым COVID-19 были: усталость или мышечная слабость – 63 % (1038 из 1655), трудности со сном – 26 % (437 из 1655). Тревога или депрессия были зарегистрированы у 23 % (367 из 1617) пациентов [24].

В нашем исследовании показано, что пациенты жаловались на одышку при незначительной физической нагрузке – 100 %, общую слабость – 100 %, быструю утомляемость – 96 %. Данные жалобы были объективизированы уровнем сатурации, StPO<sub>2</sub> составил 96,0 (95,0–96,0) %, что соответствует нижней границе нормы, и результатами анкетирования по шкале Борга с количеством баллов 1,0 (0,0–3,0), что соответствует одышке от слабой до умеренной.

Субклинический уровень тревоги выявлен у 21,4 [14,4–28,4] % обследованных, а уровень клинической тревоги – у 9,2 % [19], что может в дальнейшем привести к развитию состояния депрессии, так как она развивается как результат вытеснения тревоги, возникающей в ответ на несоответствие требований социальной среды индивидуально-психологическим характеристикам личности [25]. Наличие субклинической и клинически выраженной депрессии установлено у 10,4 [5,2–15,6] % и 6,9 [2,5–11,2] % обследованных соответственно, что может свидетельствовать о наличии и усугублении таких отрицательных эмоций, как беспокойство, озабоченность, пессимизм, скептицизм, неуверенность в своих возможностях, наличие дисгармонии пациентов со средой, влияющих на качество жизни, связанное со здоровьем.

Испанские коллеги в своём исследовании обнаружили, что повышенные уровни апатии, тревоги и исполнительной дисфункции при нейропсихологическом тестировании наряду с трудностями с исполнительностью и вниманием при выполнении когнитивных тестов являются неизменно важными предикторами среди различных типов усталости при состояниях после COVID-19, и подчеркивают важность целостного подхода при оценке и рассмотрении возможного лечения пациентов с COVID-19, испытывающих переутомление [26].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из основных проявлений постковидного синдрома является поражение центральной нервной системы и психической сферы в виде лёгких когнитивных и эмоционально-волевых нарушений с астено-депрессивными и тревожно-депрессивными расстройствами, а также периферической нервной системы в виде полинейропатии конечностей, подтверждённых нейрофизиологическими данными.

Установлена следующая коморбидность постковидного синдрома: метаболический синдром выявлен у 67 %, патология сердечно-сосудистой системы – у 48,8 %, патология опорно-двигательного аппарата – у 48,8 % обследованных.

У пациентов с постковидным синдромом установлено увеличение показателей, характеризующих кратковременную (слухоречевую) и долговременную память, реципрокную координацию, свидетельствующее о снижении функционирования нижней височной доли левого полушария, гиппокампа, мозолистого тела, что согласуется с изменениями биоэлектрической активности головного мозга в виде наличия очагов патологической активности в этих зонах и признаков дисфункции срединных структур мозга.

Результаты исследования указывают на настоятельную необходимость наблюдения за пациентами после перенесённой инфекции COVID-19 и разработки эффективных вмешательств для снижения риска развития осложнений.

### Финансирование

Финансирование осуществлялось в рамках выполнения Государственного задания по поисковым научным исследованиям.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. World Health Organization. *Coronavirus disease 2019 (COVID-19)*. URL: <https://covid19.who.int/> [date of access: 22.06.2023].
2. World Health Organization. *A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus*. 2021. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/345824/WHO-2019-nCoV-Post-COVID-19-condition-Clinical-case-definition-2021.1-rus.pdf> [date of access: 22.06.2023].
3. Sykes DL, Holdsworth L, Jawad N, Gunasekera P, Morice AH, Crooks MG. Post-COVID-19 symptom burden: What is long-COVID and how should we manage it? *Lung*. 2021; 199(2): 113-119. doi: 10.1007/s00408-021-00423-z
4. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin North Am*. 2004; 88(4): 787-835. doi: 10.1016/j.mcna.2004.04.013
5. Gambert SR, Cooppan R, Gupta KL. Diabetes mellitus in the elderly. A practical guide. *The Endocrinologist*. 1991; 1(6): 420-421.

6. Dani M, Dirksen A, Taraborrelli P, Torocastro M, Panagopoulos D, Sutton R, et al. Autonomic dysfunction in 'long COVID': Rationale, physiology and management strategies. *Clin Med J*. 2021; 21(1): 63-67. doi: 10.7861/clinmed.2020-0896

7. Чичановская Л.В., Виноградова А.А., Рауд А.К., Каибова Д.Н., Скачкова А.В. Вегетативная дисфункция у пациентов с диагностированным постковидным синдромом. *Тверской медицинский журнал*. 2023; (1): 82-85. [Chichanovskaya LV, Vinogradova AA, Raud AK, Kaibova DN, Skachkova AV. Vegetative dysfunction in patients with diagnosed post COVID-19 syndrome. *Tver Medical Journal*. 2023; (1): 82-85 (In Russ.)].

8. Филиппченкова С.И., Евстифеева Е.А., Мурашова Л.А., Воробьев П.А., Воробьев А.П. Оценка качества жизни, связанного со здоровьем у пациентов с постковидным синдромом. *International Journal of Medicine and Psychology*. 2022; 5(5): 24-29. [Filipchenkova SI, Evstifeeva EA, Murashova LA, Vorobyev PA, Vorobyev AP. Assessment of health-related quality of life in patients with post-COVID syndrome. *International Journal of Medicine and Psychology*. 2022; 5(5): 24-29. (In Russ.)].

9. Петрова Л.В., Костенко Е.В., Энеева М.А. Астения в структуре постковидного синдрома: патогенез, клиника, диагностика и медицинская реабилитация. *Доктор.Ру*. 2021; 20(9): 36-42. [Petrova LV, Kostenko EV, Eneeva MA. Asthenia and post-COVID syndrome: Pathogenesis, clinical presentations, diagnosis, and medical rehabilitation. *Doktor.Ru*. 2021; 20(9): 36-42. (In Russ.)].

10. Soriano JB, Murthy S, Marshall JC, Relan P, Diaz JV. A clinical case definition of post-COVID-19 condition by a Delphi consensus. *Lancet Infect Dis*. 2022; 22(4): 102-107. doi: 10.1016/S1473-3099(21)00703-9

11. Васильева А.В. Психические нарушения, связанные с пандемией COVID-19 (международный опыт и подходы к терапии). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020; 120(9): 121-129. [Vasileva AV. Pandemic COVID-19 and mental disorders (international experience and therapeutic approaches). *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2020; 120(9): 121-129. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro2020120091121

12. Ghali A, Lacombe V, Ravaiau C, Delattre E, Ghali M, Urbanski G, et al. The relevance of pacing strategies in managing symptoms of post-COVID-19 syndrome. *J Transl Med*. 2023; 21(1): 375. doi: 10.1186/s12967-023-04229-w

13. Scheibenbogen C, Bellmann-Strob JT, Heindrich C, Wittke K, Stein E, Franke C. Fighting post-COVID and ME/CFS – development of curative therapies. *Front Med (Lausanne)*. 2023; 10: 1194754. doi: 10.3389/fmed.2023.1194754

14. Чучалин А.Г., Аметов А.С., Арутюнов Г.П., Драпкина О.М., Мартынов М.Ю., Мишланов В.Ю., и др. Вопросник для первичной самооценки здоровья пациентов, перенесших новую коронавирусную инфекцию: Рекомендации Междисциплинарного совета экспертов по проведению скрининга симптомов постковидного периода при углубленной диспансеризации. *Пульмонология*. 2021; 31(5): 599-612. [Chuchalin AG, Ametov AS, Arutyunov GP, Drapkina OM, Martynov MYu, Mishlanov VYu, et al. Questionnaire for initial self-assessment in post-COVID period: Recommendations of Multidisciplinary Expert Board on Screening of Post-COVID Syndrome during an Expanded Medical Check-Up. *Pulmonologiya*. 2021; 31(5): 599-612. (In Russ.)]. doi: 10.18093/0869-0189-2021-31-5-599-612

15. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*. 1982; 14(5): 377-381. doi: 10.1249/00005768-198205000-00012

16. Карелин А.А. *Энциклопедия психологических тестов. Темперамент, характер, познавательные процессы*. М.: ООО «Издательство АСТ»; 1997. [Karelin AA. *Encyclopedia of psychological tests. Temperament, character, cognitive processes*. Moscow: AST; 1997. (In Russ.)].
17. Бизюк А.П. *Компедиум методов нейропсихологического исследования. Методическое пособие*. СПб.: Речь; 2005. [Bizyuk AP. *Compendium of methods of neuropsychological research: Methodological guide*. Saint-Petersburg: Rech'; 2005. (In Russ.)].
18. Zigmond AS, Snaith RP. The Hospital Anxiety and Depression Scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983; 67(6): 361-370. doi: 10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x
19. Devlin NJ, Brooks R. EQ-5D and the EuroQol Group: Past, present and future. *Appl Health Econ Health Policy*. 2017; 15(2): 127-137. doi: 10.1007/s40258-017-0310-5
20. Rabin R, de Charro F. EQ-5D: A measure of health status from the EuroQol Group. *Ann Med*. 2001; 33(5): 337-343. doi: 10.3109/07853890109002087
21. Brooks R, Boye KS, Slaap B. EQ-5D: A plea for accurate nomenclature. *J Patient Rep Outcomes*. 2020; 4(1): 52. doi: 10.1186/s41687-020-00222-9
22. Khabibullina A, Gerry CJ. Valuing health states in Russia: A first feasibility study. *Value Health Reg Iss*. 2019; 19: 75-80. doi: 10.1016/j.vhri.2019.01.005
23. Hafke M, Freitag H, Rudolf G, Seifert M, Doehner W, Scherbakov N, et al. Endothelial dysfunction and altered endothelial biomarkers in patients with post-COVID-19 syndrome and chronic fatigue syndrome (ME/CFS). *J Transl Med*. 2022; 20(1): 138. doi: 10.1186/s12967-022-03346-2
24. Huang C, Huang L, Wang Y, Li X, Ren L, Gu X, et al. Expression of concern: 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: A cohort study. *Lancet*. 2023; 401(10371): 90. doi: 10.1016/S0140-6736(22)02370-4
25. Березин Ф.Б., Безносюк Е.В., Соколова Е.Д. Психологические механизмы психосоматических заболеваний. *Российский медицинский журнал*. 1998; 2: 43-49. [Berezin FB, Beznoisyuk EV, Sokolova ED. Psychological mechanisms of psychosomatic diseases. *Russian Medicine*. 1998; (2): 43-49. (In Russ.)].
26. Calabria M, García-Sánchez C, Grunden N, Pons C, Arroyo JA, Gómez-Anson B, et al. Post-COVID-19 fatigue: The contribution of cognitive and neuropsychiatric symptoms. *J Neurol*. 2022; 269(8): 3990-3999. doi: 10.1007 / s00415-022-11141-8

#### Сведения об авторах

**Бейгель Елена Александровна** – кандидат медицинских наук, доцент, заместитель главного врача по медицинской части, врач аллерголог-иммунолог клиники, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; доцент кафедры профпатологии и гигиены, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: elena-abramatec@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1434-1853>

**Катаманова Елена Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор, главный врач клиники, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; профессор кафедры геронтологии, гериатрии и клинической фармакологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: katamanova\_e\_v@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9072-2781>

**Лакман Олег Леонидович** – доктор медицинских наук, профессор, профессор РАН, директор, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований»; заведующий кафедрой профпатологии и гигиены, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: lakhman\_o\_l@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0013-8013>

**Казаква Полина Валерьевна** – кандидат биологических наук, медицинский психолог клиники, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», e-mail: Polina25.07@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0367-5399>

**Шевченко Оксана Ивановна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профессиональной и экологически обусловленной патологии, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», e-mail: oich68@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4842-6791>;

**Павленко Наталья Александровна** – заведующая терапевтическим отделением клиники, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», e-mail: ale21277@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7097-5864>;

**Мараев Максим Дмитриевич** – аспирант, ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», e-mail: maraev-98@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-5180-8327>

#### Information about the authors

**Elena A. Beygel** – Cand. Sc. (Med.), Docent, Deputy Chief Physician for Medical Affairs, Allergologist Immunologist, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research; Associate Professor at the Department of Occupational Pathology and Hygiene, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: elena-abramatec@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1434-1853>

**Elena V. Katamanova** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Physician, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research; Professor at the Department of Gerontology, Geriatrics and Clinical Pharmacology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: katamanova\_e\_v@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9072-2781>

**Oleg L. Lakhman** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research; Head of the Department of Occupational Pathology and Hygiene, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: lakhman\_o\_l@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0013-8013>

**Polina V. Kazakova** – Cand. Sc. (Biol.), Medical Psychologist, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, e-mail: Polina25.07@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0367-5399>

**Oxana I. Shevchenko** – Cand. Sc. (Biol.), Medical Psychologist, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, e-mail: oich68@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4842-6791>

**Natalia A. Pavlenko** – Head of Therapeutics Department, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, e-mail: ale21277@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7097-5864>

**Maxim D. Maraev** – Radiologist, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, e-mail: maraev-98@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0006-5180-8327>

# ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

## КЕРАТОМЕТРИЯ: УСТРОЙСТВА И ПРИНЦИПЫ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### РЕЗЮМЕ

Бойко Э.В.<sup>1,2,3</sup>,  
Петросян Ю.М.<sup>1,2</sup>,  
Шухаев С.В.<sup>1</sup>,  
Литвин И.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (192283, г. Санкт-Петербург, ул. Ярослава Гашека, 21а, Россия)

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России (191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41, Россия)

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Петросян Юрий Микаелович,  
e-mail: petrosyan.yurij@yandex.ru

Точное предоперационное определение различных биометрических характеристик глаза является ключевым моментом для успешной хирургии хрусталика, достижения высоких и прогнозируемых функциональных результатов после операции. Роговица является основной преломляющей структурой глаза, на долю которой приходится около 70 % от общей рефракции. На предоперационном этапе рефракционной и катарактальной хирургии особое внимание уделяется изучению свойств и параметров роговицы, в частности формы, центральной толщины, радиуса кривизны передней и задней поверхностей, оптической силы. Определение оптической силы роговицы – кератометрия – является одним из важных параметров при расчёте оптической силы интраокулярной линзы. Кроме того, значение кератометрии может играть определяющую роль при отборе пациентов на операцию, диагностике заболеваний роговицы, мониторинге динамики патологических процессов в роговице, анализе послеоперационных результатов. Кератометр, или офтальмометр, – это устройство, используемое для измерения радиуса кривизны передней поверхности роговицы, определения оси и степени астигматизма. Кератометрия основана на том, что передняя поверхность роговицы имеет зеркальные свойства, а размер изображения, отражающегося от неё, зависит от кривизны роговицы, что говорит о возможности расчёта её преломляющей способности на основе анализа отображённого размера изображения. Однако способы и принципы кератометрии разнообразны. В данном научном обзоре проведён анализ отечественной и зарубежной литературы, посвящённой изучению способов определения оптической силы роговицы, с целью систематизации данных. В обзоре освещены исторические аспекты кератометрии – от первых попыток измерения радиуса передней поверхности роговицы до первого офтальмометра; показана эволюция технологии офтальмометрии – от ручной кератометрии до кератотопографии и кератотомографии; отдельно отражены принципы и формулы расчёта оптической силы роговицы.

**Ключевые слова:** кератометрия, кератометрические показатели, оптическая сила роговицы, кератометр, биометрия, кератотомография, кератотопография

Статья поступила: 16.10.2023  
Статья принята: 08.10.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Бойко Э.В., Петросян Ю.М., Шухаев С.В., Литвин И.Б. Кератометрия: устройства и принципы. Обзор литературы. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 194-203. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.21

## KERATOMETRY: DEVICES AND PRINCIPLES. LITERATURE REVIEW

Boiko E.V.<sup>1,2,3</sup>,  
Petrosyan Y.M.<sup>1,2</sup>,  
Shukhaev S.V.<sup>1</sup>,  
Litvin I.B.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Saint Petersburg Branch  
of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal  
State Institution  
(Yaroslava Gasheka str. 21A,  
Saint Petersburg 192283,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> North-Western State Medical  
University named after I.I. Mechnikov  
(Kirochnaya str. 41,  
Saint Petersburg 191015,  
Russian Federation)

<sup>3</sup> St. Petersburg University  
(Universitetskaya Embankment 7-9,  
Saint Petersburg 199034,  
Russian Federation)

Corresponding author:  
**Yuri M. Petrosyan**,  
e-mail: petrosyan.yurij@yandex.ru

## ABSTRACT

*Accurate preoperative determination of biometric parameters of the eye is the key to successful lens surgery, achieving high and predictable functional results. At the preoperative stage of refractive and cataract surgery, special attention is paid to the study of corneal parameters, in particular, optical power – keratometry. Corneal power is one of the important parameters in calculating intraocular lens power, in the selection of patients for surgery, the diagnosis of corneal diseases, monitoring the dynamics of pathological processes in the cornea, and analyzing postoperative results. Keratometry is based on the fact that the anterior surface of the cornea has mirror properties, and the size of the image reflected from it depends on the curvature of the cornea, which indicates the possibility of calculating its refractive power based on the analysis of the displayed image size. However, the methods and principles of keratometry are diverse. In this review, an analysis of literature devoted to the study of methods for determining the optical power of the cornea is carried out in order to systematize the data. The review highlights the historical aspects of keratometry – from the first attempts to measure the radius of the anterior surface of the cornea to the first ophthalmometer, shows the evolution of ophthalmometry technology – from manual keratometry to keratotomy and keratotomography, separately reflects the principles and formulas for calculating the optical strength of the cornea.*

**Key words:** keratometry, keratometric readings, corneal optical power, keratometer, biometrics, keratotomography, keratotomy

Received: 16.10.2023  
Accepted: 08.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Boiko E.V., Petrosyan Y.M., Shukhaev S.V., Litvin I.B. Keratometry: Devices and principles. Literature review. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 194-203. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.21

## ВВЕДЕНИЕ

Точное определение биометрических параметров глаза необходимо для правильного выбора оптической силы интраокулярной линзы (ИОЛ) перед факэмульсификацией катаракты или ленсэктомией, факичной ИОЛ, метода кераторефракционного вмешательства, уменьшения частоты рефракционных ошибок и достижения ожидаемого как для пациента, так и для хирурга послеоперационного результата [1–7].

Одним из немаловажных аспектов предоперационного этапа в катарактальной и рефракционной хирургии является оценка свойств и различных параметров роговицы, что может иметь решающее значение при отборе пациентов на операцию, диагностике заболеваний роговицы, мониторинге динамики патологических процессов в роговице, анализе послеоперационных результатов и т. д. [1–3, 6, 7].

Роговица является основной преломляющей структурой глаза, на долю которой приходится примерно 43 из 60 диоптрий оптической системы глаза и примерно 70% от общей рефракции. Размеры роговицы у взрослых людей составляют примерно 11 мм по вертикали и 12 мм по горизонтали, а радиус кривизны её передней поверхности в среднем составляет 7,8 мм [8]. Определение оптической силы роговицы – кератометрия – является ключевым параметром при расчёте оптической силы ИОЛ [4, 9, 10].

Кератометр или офтальмометр – это устройство, используемое для измерения радиуса кривизны передней поверхности роговицы, определения оси и степени астигматизма [3]. Кератометрия основана на том принципе, что передняя поверхность роговицы имеет зеркальные свойства, а размер изображения, отражающегося от неё, зависит от кривизны роговицы [3]. Следовательно, радиус кривизны роговицы можно рассчитать на основе размера изображения, отражённого от её поверхности.

Современные диагностические системы в офтальмологии позволяют определить оптическую силу роговицы при помощи различных устройств и принципов их работы [1, 4, 9, 10]. К ним относятся ручная кератометрия, автоматизированная кератометрия, оптическая когерентная томография, кератотопо- и томография с использованием колец Пласидо и/или Scheimpflug-камеры [1, 9].

## ЦЕЛЬ НАУЧНОГО ОБЗОРА

Обобщение данных об устройствах и принципах кератометрии.

## ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

Начальные попытки измерения радиуса кривизны роговицы относятся к XVII веку и были связаны с интересом учёных к механизму зрительной аккомодации, так как долгое время считалось, что данный процесс сопровождается изменениями в роговице [11]. Самыми

первыми измерительными приборами были линейки и циркули, однако с их помощью невозможно было получить точные результаты [11].

Первым важным шагом, который привёл к созданию современного кератометра, стало осознание того, что размеры отражённых от глаза объектов могут быть использованы для измерения кривизны роговицы. Этот принцип был впервые описан в 1619 г. Кристофом Шейнером (Christoph Scheiner), немецким математиком и астрономом, который считал, что можно измерить кривизну передней поверхности роговицы, сравнивая отражение различных выпуклых зеркал (стеклянных шаров известной кривизны), расположенных рядом с глазом испытуемого [12]. В дальнейшем, начав рассматривать роговицу в качестве сферического выпуклого «зеркала», учёные поняли, что определить радиус кривизны этого «зеркала» возможно при использовании законов отражения и геометрии [11].

Джесси Рамсден (Jesse Ramsden) и Эверард Хом (Everard Home) были среди тех, кто считал, что аккомодация происходит в первую очередь из-за изменений в роговице. Для того чтобы доказать свою теорию, учёные начали предпринимать попытки измерить кривизну её передней поверхности. Опробовав несколько конструкций, в 1779 г. они остановились на одной, которая состояла из телескопа, изучавшего удвоенное отражённое изображение в роговице. Не заметив изменений размеров изображений в процессе аккомодации, учёные всё же не отказались от своей теории и пришли к выводу, что существуют три механизма аккомодации, действующих одновременно: изменение радиуса роговицы, изменение расстояния между хрусталиком и сетчаткой и изменение формы хрусталика [11, 12]. Разработанное ими устройство многими офтальмологами признаётся первым настоящим офтальмометром, однако учёные были сосредоточены на оценке изменений радиуса кривизны роговицы, а не на самом его значении, в связи с чем ни о каких цифрах не сообщалось, несмотря на то, что это устройство, скорее всего, могло его измерить [12].

Первой задачей при разработке кератометра было измерение размера отражённого от роговицы изображения объекта. Этот вопрос уже рассматривался астрономами, пытавшимися измерить размеры небесных тел и расстояния между ними с помощью двух нитей паутины, размещённых в плоскости изображения астрономического телескопа. Затем эти нити были совмещены с двумя точками, расстояние между которыми было известно [11]. В середине XIX века Фридрих Кольрауш (Friedrich Kohlrausch) и Карл Эдуард Зенфф (Karl Eduard Senff) применили эту технику для измерения радиуса кривизны роговицы, однако точные измерения по-прежнему были затруднены из-за постоянных движений глаз и головы [12].

Следующим важным этапом в создании кератометра стало понимание необходимости оптического удвоения изображения, чтобы уменьшить неточности, вызванные движениями глаз. Эта идея также была позаимствована офтальмологами из астрономии, а именно она была впервые использована в 1753 г. С. Савари (S. Savary) при разработке гелиометра для измерения видимого диаметра

солнца в апогее и перигее. S. Savary настроил увеличенные, удвоенные изображения солнца в перигее (ближе всего к Земле, увеличенное изображение) таким образом, чтобы они соприкасались, а позже измерил расстояние, необходимое для того, чтобы изображения соприкасались, когда солнце находилось в апогее (дальше всего от Земли, уменьшенное изображение) [11].

В 1853 г. Герман фон Гельмгольц (Hermann von Helmholtz) использовал идеи астронома Томаса Клаузена (Thomas Clausen) для создания кератометра, который дублировал изображения с помощью двух стеклянных пластин. В сконструированном им устройстве два изображения смещаются друг от друга путём наклона двух подвижных стеклянных пластин в противоположных направлениях до тех пор, пока края изображений не коснутся друг друга. Поскольку удвоенные изображения перемещаются вместе, движения головы или глаз оказывают одинаковое влияние на оба изображения и не изменяют результаты измерения. Таким образом, Г. фон Гельмгольц был первым, кто успешно сконструировал прибор, способный надёжно измерять радиус роговицы живого человеческого глаза и основанный на двух фундаментальных принципах [12]:

- роговица является сферической отражающей поверхностью, радиус кривизны которой может быть вычислен путём измерения изображения, отражённого от неё объекта известного размера и расстояния от роговицы;
- более точное измерение размера изображения даже при некотором движении глаза может быть выполнено с помощью концепции удвоения этого изображения.

## РУЧНАЯ КЕРАТОМЕТРИЯ

Ручная кератометрия долгое время была золотым стандартом для определения оптической силы роговицы. В настоящее время её применение на практике ограничено в связи появлением и доступностью более современных методов обследования роговицы. К основным ручным кератометрам относятся кератометры Javal-Schiotz и Bausch and Lomb.

### Кератометр Javal-Schiotz

Работа ручного кератометра Javal-Schiotz основана на принципе переменного размера объекта и постоянного размера изображения. Его оптическая система состоит из окуляра, удвоенных изображений объекта, удваивающей призмы, объектива, двух объектов, роговицы пациента и изображений объекта, сформированных роговицей пациента [13].

Объект в этой системе состоит из двух частей, установленных на дуге, по которой они могут перемещаться, меняя размер объекта. Одна из частей имеет форму ступеньки и содержит зелёный фильтр, другая – форму прямоугольника с красным фильтром. Данные части освещаются маленькими лампочками, и их изображения формируются на роговице пациента. Эти изображения становятся новыми объектами для остальной части оп-

тической системы. В дальнейшем объектив и удваивающая призма удваивают изображения новых объектов (т. е. изображений с роговицы пациента). Исследователь смотрит в окуляр и с помощью регулировки двух частей объекта достигает максимального приближения удвоенных изображений друг к другу. В этот момент с помощью встроенной шкалы определяется радиус кривизны роговицы. Устройство предоставляет достаточно точные данные для регулярных сфероцилиндрических поверхностей, но даёт недостоверные результаты при нерегулярной роговице [13–16].

### Кератометр Bausch and Lomb

Кератометр Bausch and Lomb, в отличие от устройства Javal-Schiotz, работает на принципе постоянного размера объекта и переменного размера изображения. Его оптическая система включает окуляр, удвоенные изображения объекта, две призмы, диск с четырьмя отверстиями, объектив, зеркало, объект в виде диска с отверстием в центре и с двумя знаками «←» и «→», роговицу пациента и изображения объекта, сформированные роговицей пациента [13].

Свет попадает на зеркало и, отражаясь от него, освещает объект, уменьшенное изображение которого тем самым создаётся на роговице пациента. Это изображение становится новым объектом для остальной оптической системы. В дальнейшем объектив фокусирует свет от нового объекта вдоль центральной оси. За объективом расположен диск с четырьмя отверстиями и две призмы, одна основанием вверх, другая – основанием наружу. Свет, проходящий через левое отверстие диска, благодаря призме основанием вверх отклоняется выше центральной оси, а луч света, идущий через правое отверстие и вторую призму, отклоняется правее. Лучи света, проникающие через верхнее и нижнее отверстия, не попадают на призмы и, соответственно, фокусируются в центре. Общая площадь верхнего и нижнего отверстий равна площади каждого из двух боковых отверстий по отдельности. Таким образом, достигается одинаковая яркость полученных изображений. Благодаря площади диска, отверстий и их расположению центральное изображение начинает удваиваться, если прибор не сфокусирован на объекте, т. е. контроль правильности фокусировки непрерывный. Кроме того, ещё одним преимуществом данного устройства является его «однопозиционность», то есть отсутствие необходимости его поворота при определении оптической силы роговицы в двух меридианах, что обусловлено расположением изображений друг к другу под углом 90°. Регулируя размеры изображений, исследователь добивается совмещения в один двух знаков «←» и двух знаков «→» и по специальной шкале определяет радиус кривизны роговицы [13, 17–19].

## АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ КЕРАТОМЕТРИЯ

Автоматизированная кератометрия осуществляется за счёт устройств, которые сами анализируют изображение, отражённое от роговицы, тем самым практиче-

ски полностью исключая субъективную составляющую. В настоящее время такой вид кератометрии в подавляющем большинстве выполняется при помощи оптических биометров [1, 8, 20–23]. Современные оптические биометры компактны, требуют меньших навыков в эксплуатации, за короткий промежуток времени выдают информацию о различных параметрах глаза [1, 20–23]. Трансформация радиуса кривизны роговицы в оптическую силу происходит автоматически, кроме того, данные устройства способны производить расчёт ИОЛ по разным формулам [19–22].

В мировой клинической практике используется большое количество различных оптических биометров. Для систематизации наиболее часто используемые устройства целесообразно разделить на три группы в зависимости от принципа их работы:

1. Оптические биометры, в основе работы которых лежит частичная когерентная интерферометрия (partial coherence interferometer). К ним относится в первую очередь ИОЛ-Мастер 500 (Carl Zeiss Meditec AG, Германия) – первый оптический биометр, появившийся более 20 лет назад, который до сих пор признается многими офтальмологами «золотым стандартом» в исследовании биометрических параметров глаза. Данное устройство определяет радиус кривизны передней поверхности при помощи полупроводникового диодного лазера с длиной волны 780 нм и анализа 6 световых точек, расположенных в виде шестиугольника диаметром 2,5 мм на передней поверхности роговицы. К данной группе можно также отнести оптический биометр AL-Scan (NIDEK, Япония), который способен провести кератометрию в зоне 2,4 мм и зоне 3,3 мм [24–28].

2. Оптические биометры, в основе работы которых лежит оптическая низкокогерентная рефлектометрия (optical low-coherence reflectometry). Главным представителем данной группы является Lenstar LS 900 (Haag-Streit Diagnostics, Швейцария), который рассчитывает кератометрические данные путём анализа передней поверхности роговицы в 32 точках, ориентированных по двум окружностям приблизительно в оптических зонах 2,3 мм и 1,65 мм. К данной группе можно также отнести оптический биометр Aladdin (Topcon Healthcare, США), который анализирует около 1024 точек с передней поверхности роговицы на площади от 2,4 до 3,4 мм [29–33].

3. Оптические биометры, в основе работы которых лежит оптическая когерентная томография (swept source optical coherence tomography). IOLMaster 700 (Carl Zeiss Meditec AG, Германия) определяет кератометрические показатели, анализируя 18 точек, расположенные приблизительно в оптических зонах 1,5, 2,4 и 3,2 мм, а Tomey OA-2000 (Япония) способен считать информацию с 256 точек центральной зоны роговицы [34–38].

## КЕРАТОТОПОГРАФИЯ И ТОМОГРАФИЯ

«Топография» происходит от греческих слов «торо» (место) и «graphien» (писать). Топография роговицы – это метод бесконтактной визуализации, который ото-

бражает форму и особенности поверхности роговицы. Кератотопографы анализируют структуру световых лучей, отражённых от роговицы, границы слёзной плёнки и воздуха и реконструируют форму роговицы. Несмотря на то, что современные кератотопографические устройства способны картировать большую часть переднего сегмента, полный анализ невозможен без информации о задней поверхности роговицы. В отличие от топографии, томография роговицы («tomos» – срез, «graphien» – писать) – это метод исследования, оценивающий всю роговицу, так как он анализирует информацию как с передней, так и с задней её поверхностями. Кроме того, современные кератотомографы способны производить трёхмерные изображения переднего сегмента глаза [39–42].

### Кератоскопия на основе диска Placido

Диск Placido состоит из концентрически чередующихся светлых и тёмных колец и центральной апертуры. Отражённые от передней поверхности кольца дают информацию о форме роговицы. Долгое время результат такой кератоскопии давал качественные данные, однако в настоящее время наличие сложного программного обеспечения позволяет получить и количественные результаты, в т. ч. с цветными картами. К основным недостаткам исследования роговицы на основе диска Placido относятся отсутствие информации о задней поверхности роговицы, ограниченная площадь анализа (60 %) и отсутствие данных о самом центральном и периферических отделах [39–44].

### Щелевая сканирующая топография

В 1995 г. появилась щелевая сканирующая топография, представляющая собой комбинацию проекционного метода (щелевого сканирования – тот же принцип, что и при биомикроскопии с щелевой лампой) и метода отражения (принцип диска Placido). Эта технология визуализации переднего сегмента глаза позволяет получать трёхмерное изображение роговицы и создавать топографическую карту передней и задней её поверхностей [39–41].

Математический анализ щели света, отражённого и преломлённого от двух поверхностей роговицы, реконструирует переднюю и заднюю поверхности роговицы. Так как они измеряются одновременно, то сохранённая их взаимосвязь обеспечивает также пахиметрию всей роговицы бесконтактным способом. С целью повышения надёжности сбора данных даже при мутной роговице, когда качество световых щелей может привести к ошибкам в анализе, в устройство был встроены диск Placido. Высота поверхности роговицы измеряется с помощью эталонной сферы, которая свободно приспосабливается к роговице каждого пациента для достижения наилучшего соответствия диаметру и положению, создавая поверхность «сферы наилучшего прилегания» (СНП). Высота представлена на двумерных картах с цветовой кодировкой, основанных на СНП, где зелёный цвет представляет точки, очень близкие или совпадающие с СНП, более тёплые цвета (жёлтый, оранжевый и красный) – точки над СНП, а более холодные цвета (синий

и фиолетовый) – точки под СНП. Пахиметрические карты роговицы также представлены с цветовой кодировкой и включают числовые значения. С помощью данной технологии также оцениваются оптическая сила роговицы, глубины передней камеры, расстояния от белого до белого и другие данные с передней поверхности радужной оболочки и хрусталика [45–47].

Orbscan II (Bausch and Lomb Inc., США) является единственным коммерчески доступным устройством, использующим технологию щелевой сканирующей топографии. Для получения изображений на роговицу последовательно проецируются 40 разрезов (20 справа и 20 слева) с углом  $45^\circ$ . Конечное изображение представлено в виде трёхмерной топографической карты, которая включает информацию о кривизне передней и задней поверхностей роговицы и пахиметрические карты всей поверхности роговицы. Orbscan II показал высокую точность при оценке состояния роговицы при кератоконусе и других эктазических нарушениях, особенно у пациентов, которые перенесли рефракционную операцию. Данные пахиметрии, измеренные программным обеспечением Orbscan II, значительно отличаются от данных ультразвуковой пахиметрии или оптической когерентной томографии, в связи с чем производитель предлагает коэффициент 0,92 для преобразования показаний [40, 45–47].

### Scheimpflug-камера

Теодор Шаймпflug (Theodor Scheimpflug) был картографом, и он впервые применил принцип Scheimpflug в области фотографирования в 1904 г. В обычной оптической системе плоскости объекта, объектива и изображения параллельны друг другу, что позволяет получить чёткое и сфокусированное изображение. Однако в некоторых условиях эти плоскости не всегда параллельны – эту проблему и решает принцип Scheimpflug, согласно которому между непараллельными плоскостями может быть проведена наклонная касательная, которая и позволяет получить всю необходимую информацию об изображении [39–41].

Неплоская форма роговицы и невозможность исследования её периферических отделов стали основными причинами применения Scheimpflug-камеры для исследования различных её параметров. Вращающаяся камера с разрешением 1,45 мегапикселей анализирует 138 000 точек с поверхности роговицы и за короткий промежуток времени определяет большое количество параметров глаза: оптическая сила роговицы (по данным разных карт, зон, колец и принципов её расчёта), значение пахиметрии, глубина передней камеры, толщина хрусталика, а также 3D-модель переднего сегмента глаза [48–51].

К устройствам, работающим на основе Scheimpflug-камеры, относятся Pentacam (Oculus, Германия), Galilei (Ziemer, Швейцария) и Sirius (CSO, Италия). Pentacam имеет одну вращающуюся (до  $180^\circ$ ) и одну статическую камеру. Устройство делает до 50 срезов переднего сегмента глаза менее чем за 2 секунды, с помощью которых строит трёхмерное изображение. Анализатор переднего сегмента глаза Galilei состоит из диска Placido и двой-

ной вращающейся Scheimpflug-камеры. Использование двух камер имеет преимущество в том, что биометрические данные с каждого снимка можно усреднить, чтобы нивелировать неточности, вызванные движением глаз. Обе камеры оптически идентичны, расположены напротив друг друга и выровнены симметрично оси вращения. Sirius представляет собой устройство, также комбинирующее диск Placido и Scheimpflug-камеру (одну). Интеграция диска Placido повышает точность измерения радиуса кривизны передней поверхности роговицы [17, 22, 52–54].

## КЕРАТОМЕТРИЧЕСКИЙ ИНДЕКС

Кератометр определяет радиус кривизны роговицы по формуле  $r = 2di/O$ , где  $d$  – расстояние от объекта до роговицы,  $O$  – размер объекта,  $i$  – размер изображения объекта после преломления [11]. Эта величина необходима для оценки формы роговицы, и она имеет своё применение, однако офтальмологов чаще всего интересует именно оптическая сила [11]. Для её определения необходимо преобразовать радиус кривизны из миллиметров в диоптрии.

Согласно гауссовой оптике, уравнение ( $P = (n_1 - n_2)/r$ ), описывающее преломляющую силу ( $P$ ) сферической поверхности прозрачной среды, включает в себя показатель преломления среды ( $n_1$ ), показатель преломления оптической среды, прилегающей к сферической поверхности ( $n_2$ ), и радиус кривизны этой поверхности ( $r$ ) в метрах. Для роговицы  $n_1$  – это показатель её преломления,  $n_2$  – показатель преломления воздуха (1,000),  $r$  – радиус кривизны в метрах, измеренный кератометром. Приведённое выше уравнение описывает оптическую силу для одной преломляющей поверхности, но роговица имеет две преломляющие поверхности: переднюю, которая контактирует с воздухом, и заднюю, контактирующую с водянистой влагой [11, 55, 56].

Кератометр измеряет только радиус кривизны передней поверхности роговицы [57]. Таким образом, расчёты, основанные только на показателях преломления роговицы и воздуха, приводят к переоценке оптической силы роговицы, так как не учитывается отрицательная сила преломления её задней поверхности.

Прямое измерение задней поверхности роговицы затруднено и долгое время было невозможно, поэтому значение задней кривизны роговицы определяют на основе кривизны её передней поверхности. Это делается путём предположения, что передняя и задняя поверхности роговицы относятся друг к другу с постоянным коэффициентом. Как только постоянный коэффициент определён, можно легко вычислить значение радиуса кривизны задней поверхности роговицы. Показатель преломления, учитывающий постоянное соотношение между радиусами кривизны двух поверхностей роговицы, называется кератометрическим индексом [57].

Истинный показатель преломления стромы роговицы составляет примерно 1,376 [11]. Для учёта преломляющей силы задней поверхности роговицы исторически

использовались различные варианты кератометрического индекса. Однако в настоящее время наиболее часто применяется значение 1,3375, которое фиксировано и соответствует силе роговицы в 45 диоптрий при радиусе кривизны её передней поверхности 7,5 мм [57].

## ФОРМУЛЫ РАСЧЁТА ОПТИЧЕСКОЙ СИЛЫ РОГОВИЦЫ

Как было указано выше, кератометры определяют радиус кривизны роговицы для того, чтобы трансформировать его в оптическую силу. Существуют разные подходы к расчёту значения кератометрии, основные из которых представлены ниже в порядке их усложнения.

### Формула стандартной кератометрии

В рутинной клинической практике оптическая сила роговицы определяется при помощи стандартной кератометрии, подразумевающей преобразование радиуса кривизны передней поверхности роговицы в оптическую силу, выраженную в диоптриях, с помощью кератометрического индекса [57, 58].

Формула расчёта выглядит следующим образом: сила =  $(n - 1)/R$ , где  $n$  – это кератометрический индекс,  $R$  – радиус кривизны передней поверхности роговицы [57, 58].

Несмотря на то, что полученные данные адаптированы к использованию во всех существующих формулах расчёта ИОЛ, стандартная кератометрия имеет свои недостатки, в частности, отсутствие учёта задней поверхности роговицы.

### Формула истинной кератометрии

Истинная кератометрия (TNP, true net power) – это значение оптической силы роговицы, рассчитанное с использованием гауссовой оптики. TNP учитывает как переднюю, так и заднюю поверхности роговицы и использует значения показателя преломления воздуха, роговицы и водянистой влаги [56, 59].

Формула расчёта выглядит следующим образом:  $TNP = n_1 - n_2/r_1 \times 1000 + n_0 - n_1/r_2 \times 1000$ , где  $n_1$  – показатель преломления роговицы,  $n_2$  – показатель преломления воздуха (1,000),  $n_0$  – показатель преломления водной среды (1,336),  $r_1$  – радиус кривизны передней поверхности,  $r_2$  – радиус кривизны задней поверхности [56, 59].

Данная формула гауссовой оптики является упрощённой, так как использует параксиальное приближение и предполагает, что лучи, проходящие через заднюю поверхность роговицы, всегда параллельны. Кроме того, не учитывается или неточно измеряется эффект преломления периферических отделов роговицы [56, 59].

### Гауссова эквивалентная сила

Формула Гауссовой эквивалентной силы (GEP, Gaussian equivalent power) усложняет расчёт кератометрии, добавляя значение центральной толщины роговицы. Формула расчёта выглядит следующим образом:  $GEP = P_1 + P_2 - T/1,367 \times (P_1 \times P_2)$ , где  $P_1$  – оптическая сила

передней поверхности роговицы,  $P_2$  – оптическая сила задней поверхности роговицы,  $T$  – центральная толщина роговицы. Часть формулы, включающая « $P_1 + P_2$ », по своей сути является значением TNP [60].

### Эквивалентные кератометрические показатели

Эквивалентные кератометрические показатели (EKR, equivalent keratometry readings) были разработаны J. Holladay и его коллегами для расчёта ИОЛ у пациентов, перенёвших рефракционные операции на роговице. EKR также рассчитываются в соответствии со стандартным кератометрическим индексом (1,3375), однако, помимо передней поверхности роговицы, производится поправка на оптическую силу задней [61].

Формула расчёта выглядит следующим образом:  $EKR = nc - 1/ram + ((nk - 1)RATbf/rpm) \times (1 - 1/RATkc)$ , где  $nc$  – показатель преломления стромы роговицы (1,3760),  $nk$  – стандартный кератометрический индекс (1,3375),  $ram$  – радиус кривизны передней поверхности роговицы (m),  $rpm$  – радиус кривизны задней поверхности роговицы (m),  $RATbf$  – нормальное соотношение радиуса кривизны задней поверхности к передней (0,822),  $RATkc$  – истинное соотношение радиуса кривизны задней поверхности к передней [55, 62, 63].

### Общая оптическая сила роговицы

Общая оптическая сила роговицы (TCRP, total corneal refractive power) рассчитывается с использованием показателей преломления воздуха, роговицы и водянистой влаги, а также с учётом обеих поверхностей роговицы без стандартизации кератометрическим индексом [60, 63].

TCRP определяется при помощи трассировки лучей, т. е. моделирования прохождения лучей света через переднюю и заднюю поверхности, а также строму роговицы в соответствии с законом Снеллиуса, согласно которому угол преломления луча при прохождении границы между двумя средами зависит от соотношения коэффициентов преломления этих сред:  $n_1 \times \sin\theta_1 = n_2 \times \sin\theta_2$ , где  $\theta_1$  – угол падения,  $\theta_2$  – угол преломления,  $n_1$  и  $n_2$  – коэффициенты преломления этих сред [56, 64].

Проходя через переднюю и заднюю поверхности роговицы, согласно закону Снеллиуса, лучи света сходятся, образуя заднюю фокусную точку. Оптическая сила роговицы определяется на основе фокусного расстояния, представляющего собой отрезок между передней поверхностью роговицы и задней фокусной точкой [56, 64].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, эволюция развития способов определения кератометрических показателей роговицы привела к возможности получения многообразных и высокоточных параметров её оптической силы. Это в значительной степени улучшает возможности более точного расчёта оптической силы ИОЛ, факичной ИОЛ, планирования кераторефракционных вмешательств, однако, с другой стороны, появилась проблема выбора именно

тех показателей, которые определяют наиболее точное и надёжное попадание в рефракцию цели.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Киселева Т.Н., Оганесян О.Г., Романова Л.И., Милаш С.В., Пенкина А.В. Оптическая биометрия глаза: принцип и диагностические возможности метода. *Российская педиатрическая офтальмология*. 2017; 12(1): 35-42. [Kiseleva TN, Oganesyanyan OG, Romanova LI, Milash SV, Penkina AV. Optical biometry of the eye: The principle and the diagnostic potential of the method. *Russian Pediatric Ophthalmology*. 2017; 12(1): 35-42. (In Russ.)]. doi: 10.18821/1993-1859-2017-12-1-35-42
2. Першин К.Б., Пашинова Н.Ф., Лих И.А., Цыганков А.Ю., Легких С.Л. Особенности расчета оптической силы интраокулярных линз на экстремально коротких глазах. *Офтальмология*. 2022; 19(1): 91-97. [Pershin KB, Pashinova NF, Likh IA, Tsygankov AY, Legkikh SL. Intraocular lenses optic power calculation in extremely short eyes. *Ophthalmology in Russia*. 2022; 19(1): 91-97. (In Russ.)]. doi: 10.18008/1816-5095-2022-1-91-97
3. Трубилин В.Н., Ильинская И.А. Определение оптической силы роговицы с помощью различных методов исследования. Обзор литературы. *Катарактальная и рефракционная хирургия*. 2014; 14(2): 4-9. [Trubilin VN, Ilinskaya IA. Corneal refractive power measurement using different methods. *Cataract and Refractive Surgery*. 2014; 14(2): 4-9. (In Russ.)].
4. Куликов А.Н., Даниленко Е.В., Кожевников Е.Ю. Сравнение различных вариантов кератометрии у пациентов с роговичным астигматизмом. *Российский офтальмологический журнал*. 2022; 15(2 Прил): 84-92. [Kulikov AN, Danilenko EV, Kozhevnikov EYu. Comparison of keratometry versions in patients with corneal astigmatism. *Russian Ophthalmological Journal*. 2022; 15(2 Прил): 84-92. (In Russ.)]. doi: 10.21516/2072-0076-2022-15-2-supplement-84-92
5. Дога А.В., Майчук Н.В., Мушкова И.А., Шамсетдинова Л.Т. Причины, профилактика и коррекция рефракционных нарушений после факоэмульсификации с имплантацией интраокулярных линз. *Вестник офтальмологии*. 2019; 135(6): 83-90. [Doga AV, Maychuk NV, Mushkova IA, Shamsetdinova LT. Causes, prevention and correction of refractive errors after phacoemulsification with intraocular lens implantation. *Russian Annals of Ophthalmology*. 2019; 135(6): 83-90. (In Russ.)]. doi: 10.17116/oftalma201913506183
6. Дога А.В., Кечин Е.В., Головин А.В., Каримова А.Н., Цикаришвили Н.Р., Джабер А.Н. Интраокулярная коррекция пресбиопии после лазерной кераторефракционной хирургии. *Офтальмохирургия*. 2022; 3: 98-104. [Doga AV, Kechin EV, Golovin AV, Karimova AN, Tsikarishvili NR, Dzhabber AN. Intraocular correction of presbyopia after laser keratorefractive surgery. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2022; 1: 98-104. (In Russ.)]. doi: 10.25276/0235-4160-2022-3-98-104
7. Эскина Э.Н., Белогурова А.В., Паршина В.А., Мовсесян М.Х. Предсказуемость рефракционного эффекта при выполнении лазерной коррекции зрения. Определяющие факторы. Обзор литературы. *Офтальмология*. 2023; 20(1): 41-52. [Eskina EN, Belogurova AV, Parshina VA, Movsesian MKh. Predictability of the refractive effect after laser correction. Determining factors. Review. *Ophthalmology in Russia*. 2023; 20(1): 41-52. (In Russ.)]. doi: 10.18008/1816-5095-2023-1-41-52
8. Сомов Е.Е. *Клиническая анатомия органа зрения человека*. М.: МЕДпресс-информ; 2016. [Somov EE. *Clinical anatomy of the human visual organ*. М.: MEDpress-inform; 2016. (In Russ.)].
9. Куликов А.Н., Кокарева Е.В., Котова Н.А. Сравнение результатов биометрии глаза при использовании различных приборов. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2017; 2: 53-54. [Kulikov AN, Kokareva EV, Kotova NA. Comparison of the results of the eye biometrics using different instruments. *Pacific Medical Journal*. 2017; (2): 53-54. (In Russ.)]. doi: 10.17238/Pmj1609-1175.2017.2.53-55
10. Куликов А.Н., Кокарева Е.В., Котова Н.А. Сравнение результатов измерений параметров глаза с помощью «Lenstar 900 LS» и «IOLMaster», «Pentacam HR», «OPD-Scan II» перед факоэмульсификацией катаракты. *Современные технологии в офтальмологии*. 2016; 5: 58-61. [Kulikov AN, Kokareva EV, Kotova NA. Comparison of the results of measurements of eye parameters using "Lenstar 900 LS" and "IOLmaster", "Pentacam HR", "OPD-Scan II" before cataract phacoemulsification. *Modern Technologies in Ophthalmology*. 2016; 5: 58-61. (In Russ.)].
11. Gutmark R, Guyton DL. Origins of the keratometer and its evolving role in ophthalmology. *Surv Ophthalmol*. 2010; 55(5): 481-497. doi: 10.1016/j.survophthal.2010.03.001
12. Godefrooij DA, Galvis V, Tello A. Von Helmholtz's ophthalmometer: Historical review and experience with one of the last surviving original devices. *Acta Ophthalmol*. 2018; 96(3): 314-320. doi: 10.1111/aos.13493
13. Khurana AK, Khurana AK, Khurana B. *Theory and practice of optics and refraction*. Elsevier India; 2014.
14. Gurnani B, Kaur K. *Keratometer*. StatPearls Publishing; 2022.
15. Berjandy F, Nabovati P, Hashemi H, Yekta A, Ostadimoghaddam H, Sardari S, et al. Predicting initial base curve of the rigid contact lenses according to Javal keratometry findings in patients with keratoconus. *Cont Lens Anterior Eye*. 2020; 44(3): 101340. doi: 10.1016/j.clae.2020.05.009
16. Hamer CA, Buckhurst H, Purslow C, Shum GL, Habib NE, Buckhurst PJ. Comparison of reliability and repeatability of corneal curvature assessment with six keratometers. *Clin Exp Optom*. 2016; 99(6): 583-589. doi: 10.1111/cxo.12329
17. Dehnavi Z, Khabazkhoob M, Mirzajani A, Jabbarvand M, Yekta A, Jafarzadehpour E. Comparison of the corneal power measurements with the TMS4-Topographer, Pentacam HR, IOLMaster, and Javal keratometer. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2015; 22(2): 233-237. doi: 10.4103/0974-9233.151884
18. Douthwaite WA, Burek H. The Bausch and Lomb keratometer does not measure the tangential radius of curvature. *Ophthalmic Physiol Opt*. 1995; 15(3): 187-193. doi: 10.1016/0275-5408(95)90570-r
19. Szirth BC, Matsumoto E, Wright KW, Murphree AL. Attachment for the Bausch & Lomb keratometer in pediatrics. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 1987; 24(4): 186-189. doi: 10.3928/0191-3913-19870701-09
20. Kane JX, Chang DF. IOL power formulas, biometry, and intraoperative aberrometry: A review. *Ophthalmology*. 2020; 128(11): 94-114. doi: 10.1016/j.ophtha.2020.08.010

21. Mylonas G, Sacu S, Buehl W, Ritter M, Georgopoulos M, Schmidt-Erfurth U. Performance of three biometry devices in patients with different grades of age-related cataract. *Acta Ophthalmol.* 2011; 89: 237-241. doi: 10.1111/j.1755-3768.2010.02042.x
22. Symes RJ, Ursell PG. Automated keratometry in routine cataract surgery: Comparison of Scheimpflug and conventional values. *J Cataract Refract Surg.* 2011; 37(2): 295-301. doi: 10.1016/j.jcrs.2010.08.050
23. Rio-Cristobal A, Martin R. Corneal assessment technologies: Current status. *Surv Ophthalmol.* 2014; 59(6): 599-614. doi: 10.1016/j.survophthal.2014.05.001
24. Huang J, McAlinden C, Huang Y, Wen D, Savini G, Tu R, et al. Meta-analysis of optical low-coherence reflectometry versus partial coherence interferometry biometry. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 43414. doi: 10.1038/srep43414
25. McAlinden C, Wang Q, Pesudovs K, Yang X, Bao F, Yu A, et al. Axial length measurement failure rates with the IOLMaster and Lenstar LS 900 in eyes with cataract. *PLoS One.* 2015; 10(6): e0128929. doi: 10.1371/journal.pone.0128929
26. Haigis W, Lege B, Miller N, Schneider B. Comparison of immersion ultrasound biometry and partial coherence interferometry for intraocular lens calculation according to Haigis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2000; 238: 765-773. doi: 10.1007/s004170000188
27. Li X, Cao X, Bao Y. Comparison of total corneal astigmatism between IOLMaster and Pentacam. *BioMed Res Int.* 2022; 2022: 92360006. doi: 10.1155/2022/9236006
28. Srivannaboon S, Chirapapaisan C, Chonpimai P, Koodkaew S. Comparison of ocular biometry and intraocular lens power using a new biometer and a standard biometer. *J Cataract Refract Surg.* 2014; 40(5): 709-715. doi: 10.1016/j.jcrs.2013.09.020
29. Pereira JM, Neves A, Alfaiate P, Santos M, Aragão H, Sousa JC. Lenstar® LS 900 vs Pentacam®-AXL: Comparative study of ocular biometric measurements and intraocular lens power calculation. *Eur J Ophthalmol.* 2018; 28(6): 645-651. doi: 10.1177/1120672118771844
30. Buckhurst PJ, Wolffsohn JS, Shah S, Naroo SA, Davie LN, Berrow EJ. A new optical low coherence reflectometry device for ocular biometry in cataract patients. *Br J Ophthalmol.* 2009; 93(7): 949-953. doi: 10.1136/bjo.2008.156554
31. Cruysberg LP, Doors M, Verbakel F, Berendschot TT, De Brabander J, Nuijts RM. Evaluation of the Lenstar LS 900 non-contact biometer. *Br J Ophthalmol.* 2010; 94(1): 106-110. doi: 10.1136/bjo.2009.161729
32. Uçakhan ÖÖ, Akbel V, Bıyıklı Z, Kanpolat A. Comparison of corneal curvature and anterior chamber depth measurements using the manual keratometer, Lenstar LS 900 and the Pentacam. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2013; 20(3): 201. doi: 10.4103/0974-9233.114791
33. Ventura BV, Ventura MC, Wang L, Koch DD, Weikert MP. Comparison of biometry and intraocular lens power calculation performed by a new optical biometry device and a reference biometer. *J Cataract Refract Surg.* 2017; 43(1): 74-79. doi: 10.1016/j.jcrs.2016.11.033
34. An Y, Kang EK, Kim H, Kang MJ, Byun YS, Joo CK. Accuracy of swept-source optical coherence tomography based biometry for intraocular lens power calculation: A retrospective cross-sectional study. *BMC Ophthalmol.* 2019; 19: 30. doi: 10.1186/s12886-019-1036-y
35. Arriola-Villalobos P, Almendral-Gómez J, Garzón N, Ruiz-Medrano J, Fernández-Pérez C, Martínez-de-la-Casa JM, et al. Agreement and clinical comparison between a new swept-source optical coherence tomography-based optical biometer and an optical low-coherence reflectometry biometer. *Eye.* 2017; 31(3): 437-442. doi: 10.1038/eye.2016.241
36. Kunert KS, Peter M, Blum M, Haigis W, Sekundo W, Schütze J, et al. Repeatability and agreement in optical biometry of a new swept-source optical coherence tomography-based biometer versus partial coherence interferometry and optical low-coherence reflectometry. *J Cataract Refract Surg.* 2016; 42(1): 76-83. doi: 10.1016/j.jcrs.2015.07.039
37. Nemeth G, Modis JrL. Ocular measurements of a swept-source biometer: Repeatability data and comparison with an optical low-coherence interferometry biometer. *J Cataract Refract Surg.* 2019; 45(6): 789-797. doi: 10.1016/j.jcrs.2018.12.018
38. Hoffer KJ, Hoffmann PC, Savini G. Comparison of a new optical biometer using swept-source optical coherence tomography and a biometer using optical low-coherence reflectometry. *J Cataract Refract Surg.* 2016; 42(8): 1165-1172. doi: 10.1016/j.jcrs.2016.07.013
39. Mukhija R, Gupta N. Advances in anterior segment examination. *Commun Eye Health.* 2019; 32(107): S5-S6.
40. Kanclerz P, Khoramnia R, Wang X. Current developments in corneal topography and tomography. *Diagnostics.* 2021; 11(8): 1466. doi: 10.3390/diagnostics11081466
41. Fan R, Chan TC, Prakash G, Jhanji V. Applications of corneal topography and tomography: A review. *Clin Exp Ophthalmol.* 2018; 46(2): 133-146. doi: 10.1111/ceo.13136
42. Grzybowski A, Kanclerz P. Recent developments in cataract surgery. *Current Concepts in Ophthalmology.* Springer; 2020: 55-97.
43. Courville CB, Smolek MK, Klyce SD. Contribution of the ocular surface to visual optics. *Exp Eye Res.* 2004; 78: 417-425. doi: 10.1016/j.exer.2003.10.012
44. Martin R. Cornea and anterior eye assessment with Placido-disc keratoscopy, slit scanning evaluation topography and scheimpflug imaging tomography. *Indian J Ophthalmol.* 2018; 66(3): 360. doi: 10.4103/ijo.IJO\_850\_17
45. Cairns G, McGhee CNJ. Orbscan computerized topography: Attributes, applications, and limitations. *J Cataract Refract Surg.* 2005; 31: 205-220. doi: 10.1016/j.jcrs.2004.09.047
46. Oliveira CM, Ribeiro C, Franco S. Corneal imaging with slit-scanning and Scheimpflug imaging techniques. *Clin Exp Optom.* 2011; 94: 33-42. doi: 10.1111/j.1444-0938.2010.00509.x
47. Swartz T, Marten L, Wang M. Measuring the cornea: The latest developments in corneal topography. *Curr Opin Ophthalmol.* 2007; 18: 325-333. doi: 10.1097/ICU.0b013e3281ca7121
48. Shammas HJ, Hoffer KJ, Shammas MC. Scheimpflug photography keratometry readings for routine intraocular lens power calculation. *J Cataract Refract Surg.* 2009; 35(2): 330-334. doi: 10.1016/j.jcrs.2008.10.041
49. Xu K, Hao Y, Qi H. Intraocular lens power calculations using a Scheimpflug camera to measure corneal power. *Biotech Histochim.* 2013; 89(5): 348-354. doi: 10.3109/10520295.2013.867532
50. Saad E, Shammas MC, Shammas HJ. Scheimpflug corneal power measurements for intraocular lens power calculation in cataract surgery. *Am J Ophthalmol.* 2013; 156(3): 460-467. doi: 10.1016/j.ajo.2013.04.035
51. Savini G, Barboni P, Carbonelli M, Hoffer KJ. Accuracy of a dual Scheimpflug analyzer and a corneal topography system

for intraocular lens power calculation in unoperated eyes. *J Cataract Refract Surg.* 2011; 37(1): 72-76. doi: 10.1016/j.jcrs.2010.08.036

52. *OCULUS Pentacam Pentacam® HR Pentacam® AXL interpretation guide*; 3<sup>rd</sup> ed.

53. Savini G, Hoffer KJ, Barboni P, Balducci N, Schiano-Lomoriello D, Ducoli P. Accuracy of optical biometry combined with Placido disc corneal topography for intraocular lens power calculation. *PLoS One.* 2017; 12(2): e0172634. doi: 10.1371/journal.pone.0172634

54. Mehravaran S, Asgari S, Bigdeli S, Shahnazi A, Hashemi H. Keratometry with five different techniques: A study of device repeatability and inter-device agreement. *Int Ophthalmol.* 2014; 34(4): 869-875. doi: 10.1007/s10792-013-9895-3

55. Pan C, Tan W, Hua Y, Lei X. Comprehensive evaluation of total corneal refractive power by ray tracing in predicting corneal power in eyes after small incision lenticule extraction. *PLoS One.* 2019; 14(6): e0217478. doi: 10.1371/journal.pone.0217478

56. Qian Y, Liu Y, Zhou X, Naidu RK. Comparison of corneal power and astigmatism between simulated keratometry, true net power, and total corneal refractive power before and after SMILE surgery. *J Ophthalmol.* 2017; 2017: 9659481 doi: 10.1155/2017/9659481

57. Savini G, Hoffer KJ, Schiano Lomoriello D, Ducoli P. Simulated keratometry versus total corneal power by ray tracing. *Cornea.* 2017; 36(11): 1368-1372. doi: 10.1097/ICO.0000000000001343

58. Wang Q, Savini G, Hoffer KJ, Xu Z, Feng Y, Wen D, et al. A comprehensive assessment of the precision and agreement

of anterior corneal power measurements obtained using 8 different devices. *PLoS One.* 2012; 7(9): e45607. doi: 10.1371/journal.pone.0045607

59. Savini G, Barboni P, Carbonelli M, Hoffer KJ. Comparison of methods to measure corneal power for intraocular lens power calculation using a rotating Scheimpflug camera. *J Cataract Refract Surg.* 2013; 39(4): 598-604. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.11.022

60. Wang L, Mahmoud AM, Anderson BL, Koch DD, Roberts CJ. Total corneal power estimation: Ray tracing method versus Gaussian optics formula. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52(3): 1716-1722. doi: 10.1167/iovs.09-4982

61. Saglik A, Celik H, Aksoy M. An analysis of Scheimpflug Holladay-equivalent keratometry readings following corneal collagen cross-linking. *Beyoglu Eye J.* 2019; 4(2): 62-68. doi: 10.14744/bej.2019.35220

62. Karunaratne N. Comparison of the Pentacam equivalent keratometry reading and IOL Master keratometry measurement in intraocular lens power calculations. *Clin Exp Ophthalmol.* 2013; 41(9): 825-834. doi: 10.1111/ceo.12124

63. Oh JH, Kim SH, Chuck RS, Park CY. Evaluation of the Pentacam ray tracing method for the measurement of central corneal power after myopic photorefractive keratectomy. *Cornea.* 2014; 33(3): 261-265. doi: 10.1097/ICO.0000000000000034

64. Hoshikawa R, Kamiya K, Fujimura F, Shoji N. Comparison of conventional keratometry and total keratometry in normal eyes. *BioMed Res Int.* 2020; 2020: 8075924. doi: 10.1155/2020/8075924

#### Сведения об авторах

**Боико Эрнст Витальевич** – доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный врач РФ, директор, Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; заведующий кафедрой офтальмологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России; профессор кафедры оториноларингологии и офтальмологии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», e-mail: boiko111@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7413-7478>

**Петросян Юрий Микаелович** – врач-офтальмолог, Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; аспирант кафедры офтальмологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, e-mail: petrosyan.yurij@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4081-0078>

**Шухаев Сергей Викторович** – кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог, Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: shukhaevsv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7047-615X>

**Литвин Ирина Боглановна** – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая научно-образовательным отделом, Санкт-Петербургский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; доцент кафедры офтальмологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, e-mail: eyedoctor07@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1549-3341>

#### Information about the authors

**Ernest V. Boiko** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Honored Doctor of the Russian Federation, Director, Saint Petersburg Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Head of the Department of Ophthalmology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; Professor at the Department of Otorhinolaryngology and Ophthalmology, St. Petersburg University, e-mail: boiko111@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7413-7478>

**Yuri M. Petrosyan** – Ophthalmologist, Saint Petersburg Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Postgraduate at the Department of Ophthalmology, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, e-mail: petrosyan.yurij@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4081-0078>

**Serdey V. Shukhaev** – Cand. Sc. (Med.), Ophthalmologist, Saint Petersburg Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: shukhaevsv@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7047-615X>

**Irina B. Litvin** – Cand. Sc. (Med.), Docent, Head of the Scientific and Educational Department, Saint Petersburg Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Associate Professor at the Department of Ophthalmology I North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, e-mail: eyedoctor07@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1549-3341>

## УЩЕМЛЕНИЕ И ОТРЫВ ГАПТИКИ ИНТРАОКУЛЯРНОЙ ЛИНЗЫ ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ

Диреев А.О.<sup>1,2</sup>,  
Егорова Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10, Россия)

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Диреев Артём Олегович,  
e-mail: dr.direev@gmail.com

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Современная хирургия малых разрезов подразумевает использование инъекторных систем для имплантации интраокулярных линз (ИОЛ) в капсульный мешок. Как и при любом другом этапе факоэмульсификации катаракты, при имплантации также существуют риски осложнений, заключающиеся в повреждении ИОЛ разной степени выраженности – от микротрещин оптики до отрыва гаптических элементов линзы. Нет убедительных данных по влиянию микроразрушений оптической части ИОЛ на функциональные результаты хирургии хрусталика, однако повреждение опорных элементов линзы сказывается на эффективном положении ИОЛ, что приводит к зрительным дефектам (бликам, засветам) и невозможности достигнуть расчётной рефракции. Ущемление и/или отрыв гаптики ИОЛ при имплантации – это редкая ситуация, с которой может встретиться каждый офтальмохирург. При этом в литературе существуют единичные работы по данной теме, в которых не описаны способы профилактики и разрешения данного осложнения.

**Цель.** Продемонстрировать на клинических примерах хирургическую тактику при ущемлении и отрыве гаптики интраокулярных линз при имплантации.

**Материал и методы.** Представлены клинические случаи на примере пациентов с ущемлением и отрывом гаптики ИОЛ при имплантации.

**Результаты.** Представленные клинические случаи отражают особенности хирургии при повреждении опорных элементов интраокулярной линзы.

**Заключение.** Ущемление гаптических элементов в инъекторе во время имплантации при хирургии может быть разрешено простым рассечением картриджа ножом-кератомом. В случае состоявшегося отрыва гаптики использование метода заднего «захвата» оптики ИОЛ при наличии культи гаптики достаточного размера (1 мм и более) позволяет надёжно фиксировать линзу в центральном положении.

**Ключевые слова:** отрыв гаптики, «захват» ИОЛ, дислокация ИОЛ, синдром Элингсона, вторичная катаракта

Статья поступила: 05.02.2024  
Статья принята: 10.10.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Диреев А.О., Егорова Е.В. Ущемление и отрыв гаптики интраокулярной линзы при имплантации. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 204-210. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.22

## PINCHING AND DETACHMENT OF THE INTRAOCULAR LENS HAPTICS DURING IMPLANTATION

Direev A.O.<sup>1,2</sup>,  
Egorova E.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Kolkhidskaya str. 10, Novosibirsk 630096, Russian Federation)

<sup>2</sup> Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (B. Bogatkova str. 175/1, Novosibirsk 630089, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Artem O. Direev**,  
e-mail: dr.direev@gmail.com

### ABSTRACT

**Background.** Modern small incision surgery involves the use of injection systems for implanting intraocular lenses (IOLs) into a capsule bag. As with any other stage of cataract phacoemulsification, there are also risks of complications during implantation, consisting in damage to IOLs of varying severity from microcracks of optics to detachment of haptic lens elements. There is no convincing data on the effect of micro-destruction of the optical part of the IOL on the functional results of lens surgery, however, damage to the lens support elements affects the effective position of the IOL, which leads to visual defects (glare, flare) and the inability to achieve calculated refraction. Pinching and/or detachment of the IOL haptics during implantation is a rare situation that every ophthalmic surgeon can encounter. At the same time, there are isolated works on this topic in the literature that do not describe ways to prevent and resolve this complication.

**The aim.** To demonstrate, using clinical examples, surgical tactics for pinching and tearing of haptics of intraocular lenses during implantation.

**Material and methods.** Clinical cases are presented using the example of patients with pinching and detachment of IOL haptics during implantation.

**Results.** The presented clinical cases reflect the features of surgery for damage to the supporting elements of the intraocular lens.

**Conclusion.** Pinching of haptic elements in the injector during implantation surgery can be resolved by simple dissection of the cartridge with a keratome knife. In the case of a haptic detachment, the use of the method of rear "capture" of IOL optics in the presence of a haptic stump of sufficient size (1 mm or more) allows the lens to be securely fixed in the central position.

**Key words:** haptic detachment, IOL "capture", IOL dislocation, Ellingson syndrome, secondary cataract

Received: 05.02.2024  
Accepted: 10.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Direev A.O., Egorova E.V. Pinching and detachment of the intraocular lens haptics during implantation. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 204-210. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.22

## ВВЕДЕНИЕ

Использование гибких интраокулярных линз (ИОЛ), имплантируемых с помощью инъекторов через «малые» разрезы, является «золотым» стандартом хирургии катаракты. Производители ИОЛ и инъекторов применяют всё более совершенные технологии и материалы, что сводит к минимуму осложнения, связанные с имплантацией. Ущемление и/или отрыв гаптики ИОЛ при имплантации – это редкая ситуация, с которой, однако, может встретиться каждый офтальмохирург.

Одним из вариантов фиксации ИОЛ с отрывом гаптического элемента является метод заднего «захвата» оптики ИОЛ – “optic buttonholing”, описанный Н. Gimbel и В. DeBrooff в 1994 году [1].

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Продемонстрировать на клинических примерах хирургическую тактику при ущемлении и отрыве гаптики интраокулярной линзы при имплантации.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Метод заднего «захвата» оптики ИОЛ заключается в особой фиксации ИОЛ, при которой гаптические элементы линзы находятся в сводах капсульного мешка хрусталика (КМХ), а оптическая часть через отверстие за-

дного капсулорексиса (ЗКР) выводится за заднюю капсулу, и таким образом ИОЛ ущемляется в заднем капсулорексисе, что приводит к стабильному положению линзы. Первоначально метод был предложен авторами для профилактики вторичной катаракты у детей, и его суть состояла в адгезии листков КМХ над оптикой ИОЛ, что «запечатывает» клетки хрусталикового эпителия без возможности их миграции в оптическую зону [1]. Значимой особенностью данного метода является сохранность передней гиалоидной мембраны.

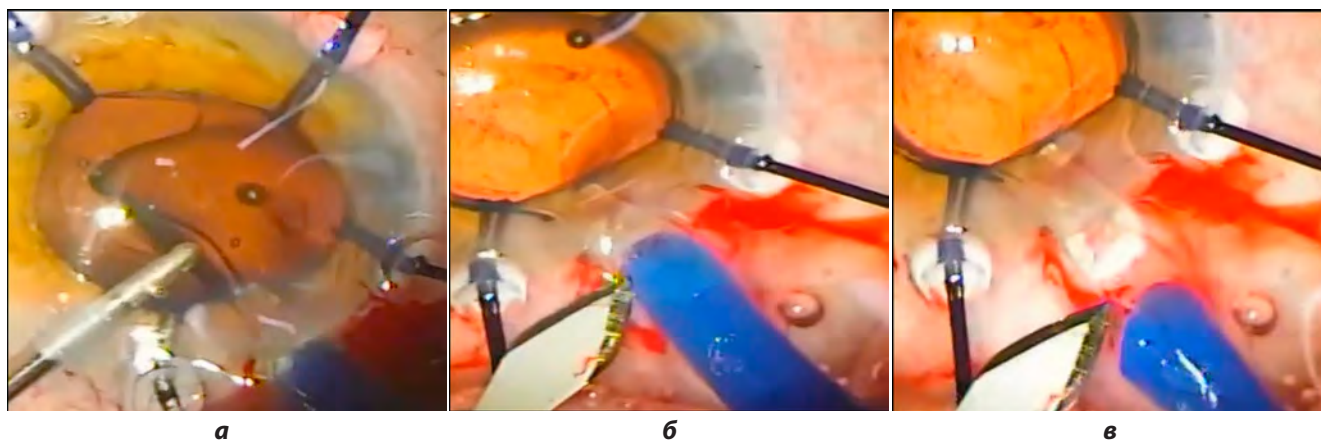
### Клинический пример 1

Пациент А., 70 лет, обратился в клинику с жалобами на снижение зрения левого глаза.

Было проведено комплексное офтальмологическое обследование: визометрия, авторефрактометрия, биометрия, измерение внутриглазного давления (ВГД), биомикроскопия, осмотр глазного дна. По результатам исследований выявлено помутнение хрусталика слева и установлен диагноз: незрелая возрастная катаракта левого глаза.

Принято решение о проведении стандартной фактоэмульсификации катаракты с имплантацией ИОЛ.

Оперативное лечение проведено на системе Centurion (Alcon, США). При выполнении фактоэмульсификации катаракты на этапе инъекторной имплантации ИОЛ (РПР-2 (Репер-НН, Россия) +23,0) произошло ущемление позади идущего гаптического элемента линзы между стенкой инъектора и плунжером (рис. 1а). Плавно вывели кончик инъектора из тоннеля и рассекли его стенку ножом-кератомом по всей длине, освободив



**РИС. 1.**

Пациент А., 70 лет (левый глаз), фрагменты хирургического вмешательства. Фактоэмульсификация катаракты с имплантацией ИОЛ (РПР-2 (Репер-НН, Россия) +23,0) с выполнением заднего «захвата» оптики ИОЛ при ущемлении гаптики ИОЛ в картридже: **а** – после имплантации первого гаптического элемента оптики ИОЛ в капсульный мешок линза прекратила движение, обнаружено ущемление второго гаптического элемента в картридже; **б** – ножом-кератомом выполнено рассечение стенки картриджа с целью декомпрессии и освобождения гаптического элемента; **в** – опорный элемент освобождён для дальнейшей имплантации. Фотографии получены с помощью операционного микроскопа

**FIG. 1.**

Patient A., 70 years old (left eye), fragments of surgical intervention. Phacoemulsification with IOL implantation (RPR-2 (Reper-NN, Russian Federation) +23.0) with posterior “capture” of the IOL optics when the IOL haptics are pinched in the cartridge: **a** – after implantation of the first haptic element of the IOL optics into the capsular bag, the lens stopped moving, pinching of the second haptic element in the cartridge was detected; **b** – a keratome knife was used to dissect the cartridge wall in order to decompress and release the haptic element; **c** – the supporting element is released for further implantation. The photographs were obtained using an operating microscope

таким образом зажатый гаптический элемент (рис. 1б, в). Далее с помощью микрокрючка завели ИОЛ в капсульный мешок. Операцию завершили вымыванием вискоэластика, инъекцией антибиотика и наложением стерильной повязки.

На следующий день после операции острота зрения – 0,9 без коррекции. ИОЛ имела правильное положение. Послеоперационный период протекал спокойно на фоне стандартной терапии.

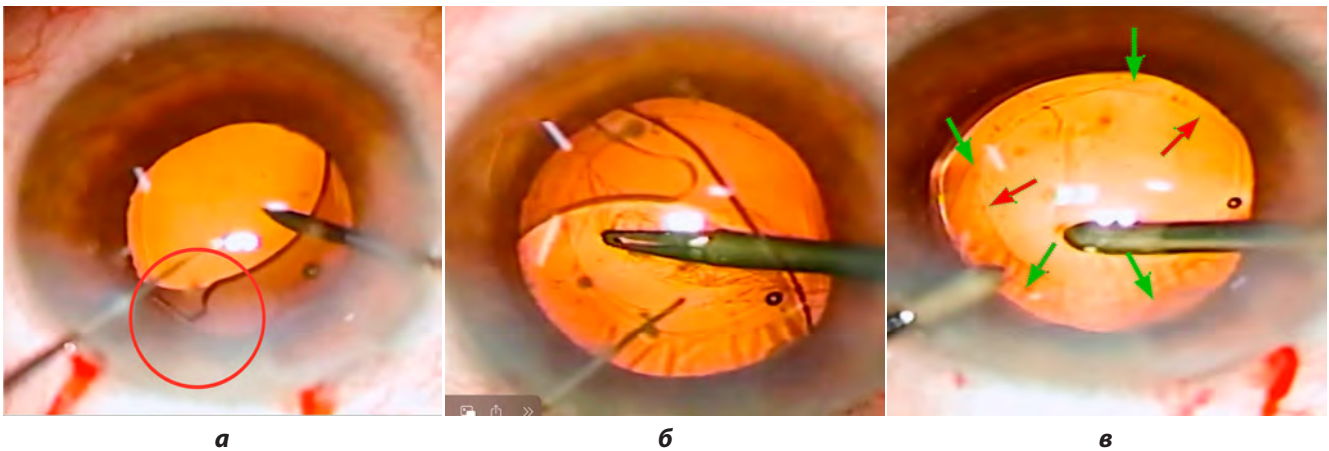
### Клинический пример 2

Пациент Г., 65 лет, поступил в клинику для планового оперативного лечения по поводу осложнённой катаракты правого глаза.

После подготовки операционного поля и местной анестезии ножом-кератомом выполнили основной тоннельный разрез и два парацентеза справа и слева от него. Переднюю камеру наполнили вискоэластиком. Выполнили передний капсулорексис. Удалили содержимое хрусталика фakoэмульсификатором. Переднюю и заднюю капсулы тщательно полировали. S-образную ИОЛ (РПР-2 (Рефер-НН, Россия) +22,0) имплантировали в капсульный мешок. При выполнении фakoэмульсификации катаракты после имплантации ИОЛ (РПР-2 (Рефер-НН, Россия) +22,0) обнаружили децентрацию ИОЛ внутри капсульного мешка. При ревизии капсульного меш-

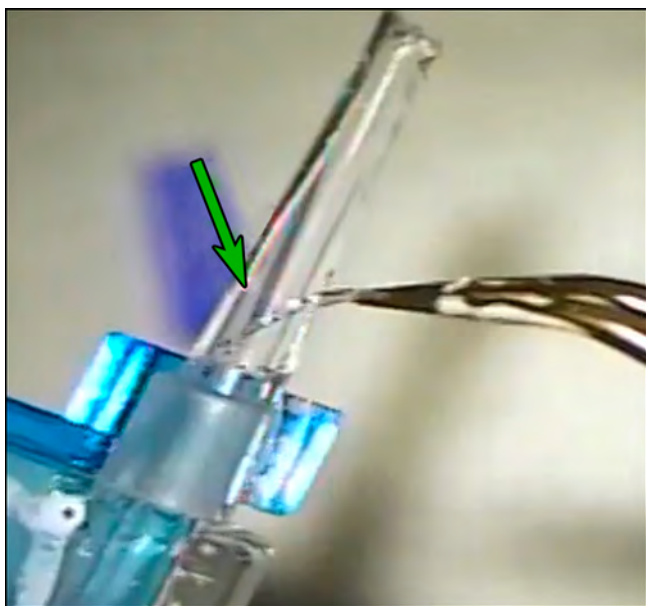
ка выявили частичный отрыв одного из гаптических элементов ИОЛ при сохранении её культы размером около 1 мм (рис. 2а). Данный разрыв гаптики является следствием ущемления опорного элемента в картридже ИОЛ и не был распознан при имплантации. Выполнили первичный задний капсулорексис (ПЗКР) concentрично переднему капсулорексису диаметром 4 мм (рис. 2б). ИОЛ ротировали в капсульном мешке и позиционировали так, что неповреждённая гаптика расположилась на 6 часах, а культя гаптики – на 12 часах. Произвели «захват» оптической части ИОЛ путём выведения оптической части ИОЛ за заднюю капсулу, при этом неповреждённый гаптический элемент и культя второго гаптического элемента остались в капсульном мешке (рис. 2в). Операцию завершили вымыванием вискоэластика из капсульного мешка и передней камеры, инъекцией антибиотика, наложением стерильной повязки. При послеоперационном осмотре картриджа в просвете инжектора обнаружен оторванный гаптический элемент ИОЛ (рис. 3).

На следующий день после операции острота зрения 0,7 су1 +0,5 ах 10 = 0,8. В послеоперационном периоде использовали стандартную терапию. Срок наблюдения составил 6 мес. При контрольном осмотре проводились визометрия, пневмотонометрия и оптическая когерентная томограмма переднего отрезка и макуляр-

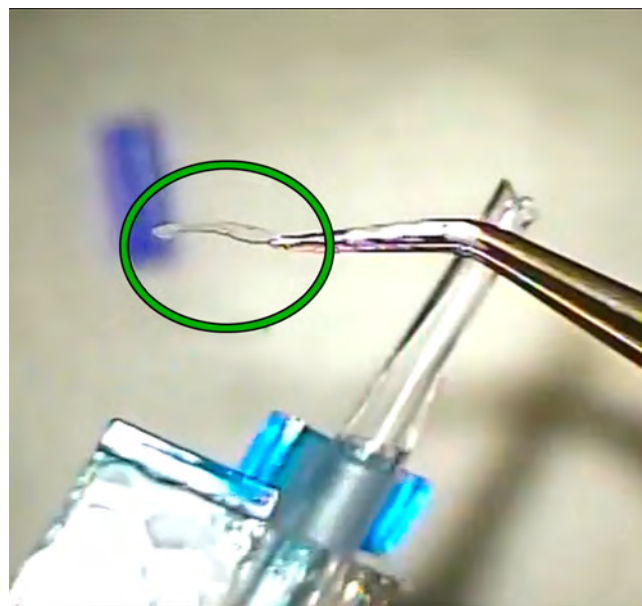


**РИС. 2.** Пациент Г., 65 лет (правый глаз), фрагменты хирургического вмешательства. Фakoэмульсификация катаракты с имплантацией ИОЛ (РПР-2 (Рефер-НН, Россия) +22,0) с выполнением заднего «захвата» оптики ИОЛ при отрыве гаптического элемента ИОЛ в картридже: **а** – после имплантации ИОЛ в капсульный мешок обнаружен отрыв одного из двух гаптических элементов; **б** – выполнение первичного заднего капсулорексиса диаметром 4 мм; **в** – произведён «захват» оптики ИОЛ путём выведения оптической части ИОЛ за заднюю капсулу через задний капсулорексис, при этом неповреждённый гаптический элемент и культя второго гаптического элемента находятся в капсульном мешке (красные стрелки указывают на край переднего капсулорексиса, зелёные – на край заднего капсулорексиса). Фотографии получены с помощью операционного микроскопа

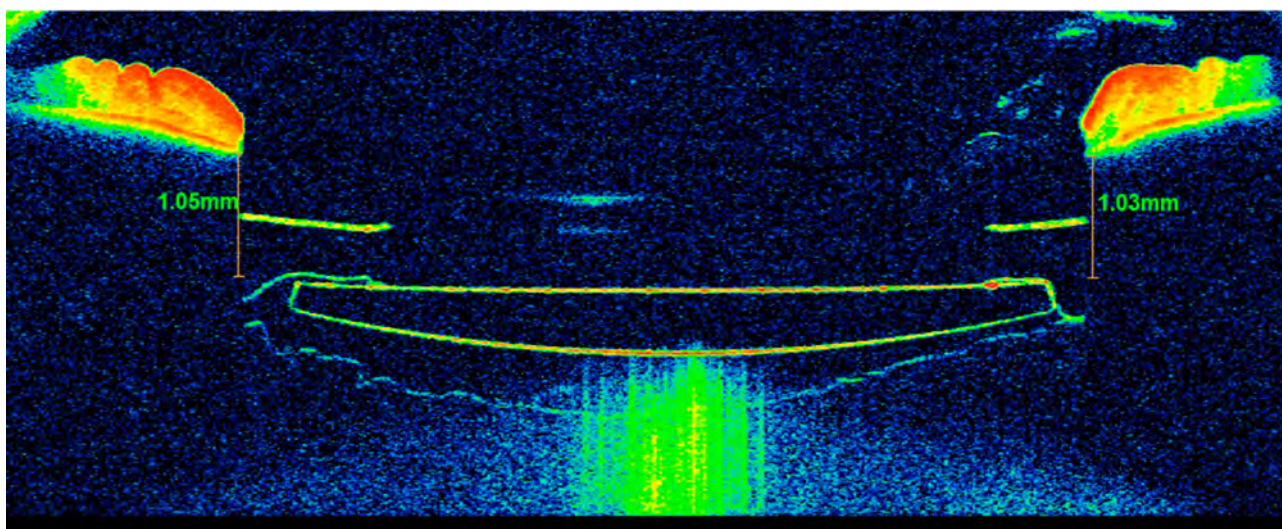
**FIG. 2.** Patient G., 65 years old (right eye), fragments of surgical intervention. Phacoemulsification with IOL implantation (RPR-2 (Reper-NN, Russian Federation) +22.0) with posterior “capture” of the IOL optics when the haptic element of the IOL in the cartridge was detached: **a** – after IOL implantation in the capsular bag, a detachment of one of the two haptic elements was detected; **b** – performing a primary posterior capsulorhexis with a diameter of 4 mm; **v** – “capture” of the IOL optics was performed by bringing the optic part of the IOL beyond the posterior capsule through the posterior capsulorhexis, while the intact haptic element and the stump of the second haptic element are in the capsular bag (red arrows indicate the edge of the anterior capsulorhexis, green arrows – the edge of the posterior capsulorhexis). The photographs were obtained using an operating microscope



**РИС. 3.**  
Фрагменты хирургического вмешательства: послеоперационный осмотр картриджа: обнаружение оторванного гаптического элемента ИОЛ (РПР-2 (Репер-НН, Россия) +22,0)



**FIG. 3.**  
Fragments of surgical intervention. Postoperative examination of the cartridge: detection of a detached haptic element of the IOL (RPR-2 (Reper-NN, Russian Federation) +22.0)



**РИС. 4.**  
Пациент Г., 65 лет (правый глаз): артификация после факэмульсификации катаракты с имплантацией ИОЛ (РПР-2 (Репер-НН, Россия) +22,0) с выполнением заднего капсулорексиса с задним «захватом» оптики ИОЛ. Оптическая когерентная томография переднего отрезка: положение ИОЛ правильное, оптическая зона прозрачна

**FIG. 4.**  
Patient G., 65 years old (right eye): pseudophakia after cataract phacoemulsification with IOL implantation (RPR-2 (Reper-NN, Russian Federation) +22.0) with posterior capsulorhexis with posterior "capture" of the IOL optics. Optical coherence tomography of the anterior segment: the IOL position is correct, the optical zone is transparent

ной зоны. Острота зрения – 0,8 без коррекции. Выполнена пневмотонометрия: ВГД обоих глаз – 19 мм рт. ст. ИОЛ сохраняла центрированное положение, оптическая зона оставалась прозрачной, что подтверждалось данными ОКТ (рис. 4). Также, по данным оптической когерентной томографии (ОКТ), морфология макулярной зоны не изменена.

Данные клинические случаи наглядно демонстрируют возможность полного сохранения опорных элемен-

тов при интраоперационном ущемлении в инжекторе, а при частичной утрате гаптики ИОЛ в момент имплантации – возможность надёжной фиксации линзы. Описанные хирургические приёмы обеспечили стабильное положение ИОЛ и высокие зрительные функции, а также профилактику образования вторичной катаракты в отдалённом послеоперационном периоде. Кроме того, удалось избежать рисков осложнений, связанных с дислокацией ИОЛ или её заменой.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно имеющимся клиническим и экспериментальным статьям, механическое повреждение гибких ИОЛ при имплантации является относительно редким хирургическим осложнением. Трещины оптики [2] или незначительные деформации поверхности ИОЛ [3, 4], вызванные использованием пинцетов при укладке линзы в инжектор, были описаны лишь в нескольких случаях. Почти аналогичные незначительные поверхностные повреждения (трещины и разрывы) описаны при прохождении ИОЛ через различные системы имплантации [5]. Однако нет убедительных данных по влиянию микроразрушений оптической части ИОЛ на функциональные результаты хирургии. В приведённых примерах не было обнаружено никаких других повреждений частей ИОЛ, кроме гаптических элементов. Ущемление в инжекторе или частичный отрыв гаптики ИОЛ обусловлены внедрением и широким использованием плунжерных систем имплантации [5–8].

подавляющее большинство работ по интраоперационному отрыву гаптических элементов ИОЛ отмечают казуистический характер этого осложнения [8, 9]. Однако в работе Y. Koçluk и соавт. (2019) установлено, что среди прооперированных в клинике пациентов ущемление гаптики ИОЛ при имплантации происходило в 2,5 % всех случаев, что нельзя считать редким явлением [8].

Наиболее частой причиной ущемления гаптических элементов в инжекторной системе является ошибка расположения ИОЛ в складном картридже, заключающаяся в попадании гаптики между створками картриджа при его закрытии и дальнейшее ущемление гаптики между стенкой картриджа и плунжером. При обнаружении ущемления ИОЛ, когда один из гаптических элементов с оптической частью находится в передней камере, а второй ущемлён в кончике инжектора, необходимо освободить его путём рассечения стенки инжектора и декомпрессии, как это было описано выше, и завершить имплантацию в КМХ. В обоих клинических примерах имело место именно ущемление гаптики в конусе инжектора, однако блокирование гаптики распознано не было, вследствие чего произошёл частичный отрыв опорного элемента ИОЛ.

Однако высокая скорость движения ИОЛ в инжекторе в совокупности с ограниченной визуализацией содержимого инжектора не всегда позволяет вовремя распознать ущемление гаптики и остановить имплантацию с выполнением рассечения картриджа. Ущемление опорного элемента ИОЛ и отсутствие мер по его разрешению неизбежно приводят к отрыву гаптики и потере пространственной ориентации ИОЛ в капсульном мешке.

подавляющее большинство авторов в случае обнаружения отрыва гаптического элемента ИОЛ рекомендуют замену ИОЛ [10–12]. Однако использование техники заднего «захвата» оптики ИОЛ позволяет использовать уже имплантированную линзу, минимизировать объём дополнительных манипуляций и травматизации для решения проблемы. Кроме того, данный метод позволяет избежать дополнительных финансо-

вых затрат, связанных с заменой ИОЛ, особенно в случаях линз премиум-сегмента. В приведённом примере № 2 повреждённая ИОЛ не заменялась, а была стабильно фиксирована в центральном положении, что подтверждалось объективными методами контроля. Применение заднего «захвата» оптики ИОЛ в описанном клиническом случае позволило, помимо обеспечения центрации и стабилизации ИОЛ, создать барьер из оптики линзы для миграции клеток хрусталикового эпителия по переднему гиалоиду, предотвратив таким образом развитие в будущем вторичной катаракты [13, 14]. Следует отметить, что при контролируемом вскрытии задней капсулы не происходит повреждения передней гиалоидной мембраны и, соответственно, пролапса и тракций стекловидного тела с риском развития ретинальных осложнений. Центральная толщина сетчатки остаётся неизменной, макулярный отёк отсутствует [14, 15]. При контрольных осмотрах в послеоперационном периоде у пациента из клинического примера 2 сохранялась прозрачная оптическая зона, отсутствовали изменения в макулярной зоне.

Однако несмотря на высокую эффективность и низкий уровень осложнений, выполнение ПЗКР с задним «захватом» оптики ИОЛ считается рискованной манипуляцией среди офтальмохирургов. Бесспорно, данная хирургическая техника требует дополнительных знаний и умений, но при правильном выполнении хорошо контролируема.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные клинические примеры демонстрируют возможность устранения повреждений гаптических элементов ИОЛ при имплантации. При обнаружении ущемления гаптических элементов в инжекторе во время имплантации производится простое рассечение стенки картриджа ножом-кератомом. В случае пропуска ущемления и состоявшегося отрыва гаптического элемента использование метода заднего «захвата» оптики ИОЛ при наличии культи гаптического элемента достаточного размера (1 мм и более) позволяет надёжно фиксировать линзу в центрированном положении.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gimbel HV, DeBroff BM. Posterior capsulorhexis with optic capture: Maintaining a clear visual axis after pediatric cataract surgery. *J Cataract Refrac Surg.* 1994; 20(6): 658-664. doi: 10.1016/S0886-3350(13)80659-1
- Balasubramanya R, Rani A, Dada T. Forceps-induced cracking of a single-piece acrylic foldable intraocular lens. *Ophthalmic Surg Laser Imaging.* 2003; 34: 306-307. doi: 10.3928/1542-8877-20030701-06

3. Kohnen T, Magdowski G, Koch DD. Scanning electron microscopic analysis of foldable acrylic and hydrogel intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg.* 1996; 22: 1342-1350. doi: 10.1016/S0886-3350(96)80095-2
4. Erie JC, Newman B, Mahr MA, Khan AR, McIntosh M. Acrylic intraocular lens damage after folding using a forceps insertion technique. *J Cataract Refract Surg.* 2010; 36(3): 483-487. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.09.037
5. Cecchini P, D'Aloisio R, De Giacinto C. Scanning electron microscopy study of different one-piece foldable acrylic intraocular lenses after injection through microincisional cataract surgery cartridges. *Int Ophthalmol.* 2020; 40: 369-376. doi: 10.1007/s10792-019-01193-7
6. Capitena CE, Gamett K, Pantcheva MB. Delayed presentation of retained acrylic intraocular lens (IOL) fragment after uncomplicated cataract surgery. *Am J Ophthalmol Case Rep.* 2016; 3: 5-7. doi: 10.1016/j.ajoc.2016.05.002
7. Alasbali T. Risk of breaking haptic of trifocal IOL and its management. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2016; 23(4): 321-322. doi: 10.4103/0974-9233.194090
8. Koçluk Y, Alyamaç Sukgen E, Kasim B, Saygılı O. A practical and easy surgical technique for recovery of an incarcerated haptic. *Int Ophthalmol.* 2019; 39: 2077-2081. doi: 10.1007/s10792-018-1047-3
9. Gerding H. Partial loss of lens haptic during injection of hydrophilic intraocular lens. *Klin Monbl Augenheild.* 2023; 240(04): 446-448. doi: 10.1055/a-2004-5423
10. Chai F, Ma B, Yang XG, Li J, Chu MF. A pilot study of intraocular lens explantation in 69 eyes in Chinese patients. *Int J Ophthalmol.* 2017; 10(4): 579. doi: 10.18240/ijo.2017.04.13
11. Oltulu R, Erşan İ, Şatırtav G, Donbaloglu M, Kerimoğlu H, Özkağnıcı A. Intraocular lens explantation or exchange: indications, postoperative interventions, and outcomes. *Arq Bras Oftalmol.* 2015; 78(3): 154-157. doi: 10.5935/0004-2749.20150040
12. Fernández-Buenaga R, Alio JL, Pérez-Ardoy AL, Larrosa-Quesada A, Pinilla-Cortés L, Barraquer R, et al. Late in-the-bag intraocular lens dislocation requiring explantation: Risk factors and outcomes. *Eye (Lond).* 2013; 27(7): 795-801; quiz 802. doi: 10.1038/eye.2013.95
13. Menapace R. Posterior capsulorhexis combined with optic buttonholing: An alternative to standard in-the-bag implantation of sharp-edged intraocular lenses? A critical analysis of 1000 consecutive cases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008; 246: 787-801. doi: 10.1007/s00417-008-0779-6
14. van den Heurck JJI, Boven KBM, van Looveren J, Mathysen DGP, Chiari I, Tassignon MJ. Incidence of rhegmatogenous retinal detachment after bag-in-the-lens IOL implantation: Extended follow-up in a larger cohort of patients. *J Cataract Refract Surg.* 2020; 46(6): 820-826. doi: 10.1097/j.jcrs.000000000000164
15. Scheers D, Van Os L, Ní Dhubbhghail S, Wouters K, Tassignon MJ. Clinically significant pseudophakic cystoid macular edema after bag-in-the-lens implantation. *J Cataract Refract Surg.* 2020; 46(6): 606-611. doi: 10.1097/j.jcrs.000000000000102

#### Сведения об авторах

**Диреев Артем Олегович** – кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог 2-го офтальмологического отделения, Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; младший научный сотрудник научно-инновационного отдела, Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: dr.direev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3801-6844>

**Егорова Елена Владиленовна** – доктор медицинских наук, заместитель директора по лечебной работе, Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: evva111@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2901-0902>

#### Information about the authors

**Artem O. Direev** – Cand. Sc. (Med.), Ophthalmologist at the Department of Ophthalmology No. 2, Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Junior Research Officer at the Science and Innovation Department, Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: dr.direev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3801-6844>

**Elena V. Egorova** – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Medical Work, Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: evva111@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2901-0902>

## ПЕДИАТРИЯ PEDIATRICS

### ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА И НАРУШЕНИЯ ГЕМОСТАЗА У ДЕТЕЙ С ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

#### РЕЗЮМЕ

Гомелля М.В.,  
Миронова А.В.,  
Крупская Т.С.,  
Татарина А.В.

ФГБОУ ВО «Иркутский государственный  
медицинский университет»  
Минздрава России (664003, г. Иркутск,  
ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Миронова Анастасия Витальевна,  
e-mail: tav23\_97\_1997@mail.ru

Ювенильный идиопатический артрит – хроническое воспалительное заболевание суставов у детей до 16 лет жизни, связанное с патологическим иммунным ответом на различные антигены. Вероятными факторами являются инфекционные и иммуногенетические. Процесс начинается с активации гуморального иммунитета. Одно из ключевых мест в патогенезе ювенильного идиопатического артрита занимает повреждение сосудистого эндотелия. Развивается иммунокомплексный васкулит с нарушениями системы гемостаза, микроциркуляторного русла в синовиальной оболочке. Вырабатываются провоспалительные цитокины, вызывающие разрушение синовиальной оболочки сустава, хряща, кости, способствующие хронизации воспалительного процесса. У пациентов с ревматическими заболеваниями изменения в системе гемостаза встречаются в 4,5–63 % случаев, особенно при высокой активности воспалительного процесса. При ювенильном идиопатическом артрите нарушения в системе гемостаза включают тромбинемию, снижение антитромбина III, увеличение количества D-димера, снижение активности фибринолиза. Использование теста тромбодинамики у взрослых с ревматоидным артритом показало наличие хронического гиперкоагуляционного состояния. Ревматоидный артрит является фактором риска тромботических осложнений у взрослых. Данные об исследовании параметров тромбодинамики при ювенильном идиопатическом артрите отсутствуют. В настоящее время известна патогенетическая общность между аутоиммунными заболеваниями, такими как системная красная волчанка, ревматоидный артрит и иммуноопосредованный антифосфолипидный синдром. Механизмы развития антифосфолипидного синдрома связаны с нарушением баланса системы гемостаза под влиянием аутоантител к фосфолипидам клеточных мембран, которые могут взаимодействовать с эндотелиальными клетками, различными компонентами свёртывающей системы, приводя к тромботическим осложнениям. Важность изучения иммуноопосредованного антифосфолипидного синдрома при ювенильном идиопатическом артрите не вызывает сомнения, однако данные по этому вопросу в детской популяции крайне ограничены, включая взаимосвязь антифосфолипидного синдрома с иммуно-гемостазиологическими параметрами. Единичные исследования иммуноопосредованного антифосфолипидного синдрома у детей с ювенильным идиопатическим артритом свидетельствуют о том, что маркеры антифосфолипидного синдрома выявляются при всех вариантах ювенильного идиопатического артрита, хотя тромботические осложнения встречаются редко.

**Ключевые слова:** ювенильный идиопатический артрит, дети, гемостаз, тромбодинамика, антифосфолипидный синдром

**Для цитирования:** Гомелля М.В., Миронова А.В., Крупская Т.С., Татарина А.В. Особенности цитокинового статуса и нарушения гемостаза у детей с ювенильным идиопатическим артритом (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 211-220. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.23

Статья поступила: 01.07.2024

Статья принята: 07.10.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

## CYTOKINE STATUS AND HEMOSTASIS DISORDERS IN CHILDREN WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

**Gomellya M.V.,  
Mironova A.V.,  
Krupskaya T.S.,  
Tatarinova A.V.**

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

Corresponding author:  
**Anastasia V. Mironova,**  
e-mail: [tav23\\_97\\_1997@mail.ru](mailto:tav23_97_1997@mail.ru)

### ABSTRACT

*Juvenile idiopathic arthritis is a chronic inflammatory joint disease in children under 16 years of age associated with pathological immune response to various antigens. Probable factors are infectious and immunogenetic. The process begins with the activation of humoral immunity. One of the key components of juvenile idiopathic arthritis pathogenesis is damage to the vascular endothelium. Immune complex vasculitis develops with hemostasis and microcirculation disorders in synovial membrane. Proinflammatory cytokines are produced, causing the destruction of the synovial membrane of the joint, cartilage, bone, contributing to the chronicity of the inflammatory process. In patients with rheumatic diseases, hemostatic changes occur in 4.5–63 % of cases, especially with high activity of the inflammatory process. In juvenile idiopathic arthritis, hemostasis disorders include thrombinemia, decreased antithrombin III, increased D-dimer level, and decreased fibrinolysis activity. Thrombodynamics test in adults with rheumatoid arthritis has shown the presence of a chronic hypercoagulable state. Rheumatoid arthritis is a risk factor for thrombotic complications in adults. There are no data on the study of thrombodynamic parameters in juvenile idiopathic arthritis. Currently, the pathogenetic commonality between autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and immune-mediated antiphospholipid syndrome is known. The mechanisms of development of antiphospholipid syndrome are associated with an imbalance in the hemostasis system under the influence of autoantibodies to phospholipids of cell membranes, which can interact with endothelial cells, various components of the coagulation system, causing thrombotic complications. The importance of studying immune-mediated antiphospholipid syndrome in juvenile idiopathic arthritis is beyond doubt, but data on this issue in the pediatric population are extremely limited, including the relationship of antiphospholipid syndrome with immune hemostasis parameters. Single studies of immune-mediated antiphospholipid syndrome in children with juvenile idiopathic arthritis indicate that antiphospholipid syndrome markers are found in all variants of juvenile idiopathic arthritis, although thrombotic complications are rare.*

**Key words:** juvenile idiopathic arthritis, children, hemostasis, thrombodynamics, antiphospholipid syndrome

Received: 01.07.2024  
Accepted: 07.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Gomellya M.V., Mironova A.V., Krupskaya T.S., Tatarinova A.V. Cytokine status and hemostasis disorders in children with juvenile idiopathic arthritis. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 211-220. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.23

## ВВЕДЕНИЕ

Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) представляет собой одно из наиболее частых и инвалидизирующих ревматических заболеваний, встречающихся у детей [1, 2]. ЮИА характеризуется хроническим воспалением суставов, что приводит к нарушению их функции, снижает качество жизни и увеличивает риск инвалидизации [1, 2].

Заболеваемость ЮИА варьирует в различных странах, составляя 2–16 случаев на 100 000 детей в возрасте до 16 лет [1, 2]. В Европе и США наблюдается различный уровень возникновения ЮИА, колеблющийся от 16 до 160 случаев на 100 000 детей [3]. В Российской Федерации заболеваемость ЮИА среди пациентов до 18 лет составляет 62,3 случая на 100 000 детского населения, при этом первичная заболеваемость составляет 16,2 случая на 100 000 детского населения [2]. Заболеваемость значительно увеличивается у подростков, достигая 116,4 случая на 100 000 населения, в то время как у детей в возрасте до 14 лет уровень составляет 45,8 случая на 100 000 населения [2]. Кроме того, более высокая частота ЮИА наблюдается у девочек, что свидетельствует о существовании гендерных различий в распространённости данного патологического состояния [2].

Обсуждается негативная динамика течения ЮИА, характеризующаяся формированием серьёзных функциональных нарушений в поражённых суставах и высокой вероятностью инвалидизации у пациентов с различными вариантами дебюта заболевания [4]. В 30 % случаев у пациентов с ЮИА наблюдаются значительные нарушения функциональной активности поражённых суставов [4]. Более того, практически половина пациентов с различными формами начальной стадии заболевания (51,5 %) подвержены инвалидизации [4].

Качество жизни пациентов, страдающих ЮИА, зависит не только от тяжести суставного синдрома, но и от внесуставных проявлений, включая нарушения гемостаза. Нарушения гемостаза могут привести к повышенному риску тромбообразования. Также дисбаланс в системе гемостаза является фактором, влияющим на прогрессирование хронического заболевания [5].

Возможный повышенный тромбогенный риск при ЮИА является, вероятно, многофакторным и может усугубляться различными факторами, среди которых не исключено влияние иммуноопосредованного антифосфолипидного синдрома (АФС). Немногочисленными исследованиями выявлено, что аутоантитела к кардиолипину и  $\beta$ 2-гликопротеину 1 обнаруживаются у детей при разных вариантах ЮИА, что может свидетельствовать о протромботическом потенциале этого состояния, увеличивающем риск тромботических осложнений и негативно влияющем на прогноз заболевания [6].

Основными целями лечения ЮИА являются достижение стойкой клинической и лабораторной ремиссии, предотвращение усугубления повреждений суставов, обеспечение высокого уровня качества жизни, снижение риска развития осложнений, успешная адаптация

в обществе и поддержание оптимального физического развития детей.

Поиск научных статей проводился в базах PubMed, PubMed Central, Google Scholar, EMBASE, eLibrary. Критерием выбора стали научные статьи, опубликованные в период до мая 2024 г. включительно.

## ОСНОВНЫЕ АСПЕКТЫ ИММУНОПАТОГЕНЕЗА ЮВЕНИЛЬНОГО ИДИОПАТИЧЕСКОГО АРТРИТА

По данным многочисленных исследований, существует ряд факторов, которые могут запускать механизм развития ЮИА. Наиболее частыми экзогенными факторами являются вирусные и бактериальные инфекции, переохлаждение, частые микротравмы суставов и др., эндогенными – наличие лейкоцитарного антигена человека (HLA-DR4), неэффективный иммунный контроль синтеза аутоантител, нарушение баланса гормонального фона. Данные факторы могут играть важную роль в иницировании развития ЮИА [7, 8].

Патогенез ЮИА характеризуется сдвигом в балансе между регуляторными клетками, в основном представленными Т-регуляторными клетками, и эффекторными клетками, включая  $CD4^+$  Т-хелперные (Th, T helper) клетки, такие как Th1 и Th17. Нарушение равновесия между этими клеточными популяциями может способствовать развитию хронического воспаления и патологических изменений, характерных для ЮИА [9–11]. Провоспалительные цитокины участвуют как в неоангиогенезе, так и в повреждении синовиальной оболочки, где наблюдается повышение уровня фактора некроза опухоли  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкина (ИЛ) 1, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17, ИЛ-21, ИЛ-23, фактора ингибирования миграции макрофагов (MIF, macrophage migration inhibitory factor) и других провоспалительных цитокинов [11, 12]. Роль этих цитокинов заключается преимущественно в регуляции дифференцировки клеток типа Th1 и Th17, а также в усилении или модуляции воспалительного ответа [10, 12, 13]. Дисбаланс между синтезом провоспалительных и противовоспалительных (ИЛ-4 и др.) цитокинов усиливает развитие хронического воспаления.

Секреция цитокина ИЛ-1 $\beta$  происходит преимущественно моноцитами и макрофагами, что имеет важное значение для формирования местной воспалительной реакции. ИЛ-1 $\beta$  способствует перемещению нейтрофилов из костного мозга, активирует их прилипание, хемотаксис и фагоцитоз, а также способствует выделению свободных радикалов кислорода. Кроме того, ИЛ-1 $\beta$  стимулирует размножение и дифференцировку лимфоцитов, активирует макрофаги, фибробласты и эндотелиальные клетки [14].

ИЛ-6 играет существенное значение в индукции острой фазы ЮИА и обнаруживается в значительном количестве как в периферической крови, так и в синовиальной жидкости. Его основная роль включает в себя активацию остеокластов, провоцирование воспалительных процессов в суставах и усиление экспрессии цито-

кинов периферическими моноцитами. Кроме того, ИЛ-6 способствует дифференциации клеток Th17 [15].

ИЛ-10 представляет собой значимую цитокиновую молекулу с противовоспалительными свойствами, которую вырабатывают в основном Т-лимфоциты, особенно Т-хелперы 2-го типа, а также моноциты. Механизм противовоспалительного действия ИЛ-10 заключается в снижении активности макрофагов и Т-лимфоцитов, в частности в уменьшении синтеза таких цитокинов, как ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$ . ИЛ-10 также способен сдерживать выработку матриксных металлопротеиназ, ингибировать активность макрофагов, препятствовать разрушению хряща и других соединительных тканей в суставе [14, 16, 17].

ФНО- $\alpha$  преимущественно синтезируется активированными Т-лимфоцитами, макрофагами, моноцитами, фибробластами, а также эпителиальными и эндотелиальными клетками. ФНО- $\alpha$  является стимулятором многих других провоспалительных цитокинов, включая ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 [10, 13]. Этот фактор стимулирует экспрессию белков острой фазы воспаления, привлекает макрофаги и клетки Лангерганса, способствует ангиогенезу, активирует моноциты, усиливает фагоцитоз и продукцию свободных радикалов. Кроме того, он участвует в регуляции апоптоза и в межклеточном взаимодействии иммунокомпетентных клеток [18, 19].

ИЛ-4 синтезируется Т-хелперами 2-го типа, мастоцитами и базофилами. Подобно ИЛ-10, ИЛ-4 обладает способностью подавлять синтез цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и интерферона  $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ) [20].

Развитие ЮИА в динамике связано с трансформацией острого иммунного воспаления, характерного для начальной стадии заболевания, в хроническое с развитием необратимых разрушений суставных структур. Кроме того, ИЛ-4 стимулирует активацию В-лимфоцитов, что приводит к выработке аутоантител, стимулирует эозинофилы и тучные клетки, вызывает аллергический ответ [2].

Таким образом, патогенетические механизмы формирования и прогрессирования ЮИА связаны с комплексным взаимодействием иммунных и клеточных элементов, которое приводит к повреждению суставов и системным проявлениям заболевания [2].

Важны и интересны исследования последних лет. В 2018 г. группой исследователей ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России проведён сравнительный анализ иммунологических показателей у 78 детей с ЮИА в возрасте от 13 месяцев до 16 лет. Группа с суставной формой ЮИА включала 56 детей, группа с реактивными артритами – 22 ребёнка. Проведено определение концентрации интерлейкинов, ассоциированных с Th1 (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИФН- $\gamma$ ), Th2 (ИЛ-4) и Th17 (ИЛ-17), в сыворотке крови. Выявлено, что ЮИА и реактивный артрит характеризуются нарушениями в системе цитокинов, ассоциированных с Th1 и Th2. Наблюдается однонаправленность в изменениях концентрации указанных интерлейкинов у пациентов с вышеперечисленными патологиями. При олигоартрикулярном варианте ЮИА наибольшее значение имеют ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4. Эти молекулы

участвуют в регуляции иммунного ответа и могут влиять на хроническое течение воспаления в суставах. При полиартрикулярном варианте более активными являются ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-17 и ИЛ-6, что указывает на более широкий спектр воспалительного процесса [21].

Исследователями ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница» (г. Екатеринбург) и ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург) в 2020 г. проведён анализ концентрации ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  в супернатантах клеточных культур периферической крови 78 детей с ЮИА и 33 здоровых детей [14]. Отмечалось увеличение уровня спонтанной продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  у пациентов с ЮИА в сравнении с контрольной группой, что свидетельствует о предшествующей активации иммунокомпетентных клеток.

Группой учёных из Китая в 2017 г. проведён сравнительный анализ показателей периферической крови и прокальцитонина (ПКТ), а также цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$ ) у 41 ребёнка с системным ЮИА (сЮИА) и сепсисом. Исследование количества лейкоцитов, скорости оседания эритроцитов, уровня С-реактивного белка, ПКТ и сывороточных уровней ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО- $\alpha$  в крови детей с сЮИА и сепсисом выявило интересные различия по сравнению с контрольной группой. Уровни перечисленных параметров были повышены у детей с сЮИА и сепсисом. Более того, уровень ПКТ у детей с сЮИА оказался значительно ниже, чем у пациентов с сепсисом, в то время как уровень ИЛ-6 оказался существенно выше у детей с сЮИА по сравнению с группой с сепсисом [22].

Заслуживает внимания исследование Ташкентской медицинской академии, проведённое в 2023 г., в рамках которого было обследовано 38 детей с ЮИА и 30 здоровых детей. Было установлено статистически значимое увеличение уровня ИЛ-17А у детей с ЮИА. Наивысшие значения ИЛ-17А наблюдались у пациентов с полиартритическим вариантом ЮИА [23].

Другая группа исследователей Ташкентской медицинской академии в 2023 г. изучила факторы, провоцирующие развитие ЮИА, у 164 детей в возрасте от 3 до 16 лет. Большинство детей (94 %) имели суставную форму ЮИА, в то время как остальные (6 %) – системный вариант. По результатам анкетирования выявлено, что переохлаждение является одним из основных провоцирующих факторов ЮИА, а также тяжёлых форм острых респираторных вирусных инфекций, пневмонии, острых кишечных инфекций и фолликулярной ангины. У некоторых детей были выявлены аллергические заболевания, включая атопический дерматит, пищевую и лекарственную аллергию. Травма как фактор развития ЮИА была выявлена только у одного ребёнка. Провоцирующей причиной при полиартритической форме чаще всего была инфекция, в то время как при олигоартритических вариантах ЮИА – переохлаждение [24].

Таким образом, в научной литературе имеется обширная информация о цитокиновой регуляции воспалительных заболеваний суставов у детей [14, 21–23]. Патогенез системного ЮИА связан с комплексным взаимодействием иммунных и клеточных элементов, в резуль-

тате чего происходят повреждение суставов и системные поражения. Исследования свидетельствуют о том, что у детей с ЮИА наблюдаются нарушения в системе цитокинов, ассоциированных с Th1 и Th2. У пациентов с ЮИА повышены уровни «провоспалительных» цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , что свидетельствует об активации иммунокомпетентных клеток, а также уровни «антивоспалительных» цитокинов. Кроме того, выявлено, что уровни цитокинов могут различаться в зависимости от формы ЮИА, что указывает на широкий спектр воспалительного процесса в суставах. Дальнейшие исследования иммунного статуса ЮИА помогут лучше понять патофизиологию и разработать более эффективные методы диагностики и лечения.

## НАРУШЕНИЯ ГЕМОСТАЗА ПРИ ЮВЕНИЛЬНОМ ИДИОПАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ

Изучению гемостаза при ревматических заболеваниях у взрослых посвящено значительное количество исследований, что во многом способствовало снижению частоты осложнений данной патологии в общей популяции [25–29]. В педиатрии исследовательские работы по нарушению гемостаза при ЮИА также проводятся [5, 30, 31], однако остаются не до конца изученными некоторые вопросы гемостазиологических нарушений у этих пациентов, важность которых не вызывает сомнения. На сегодняшний день практически нет исследований по иммуноопосредованному АФС при ЮИА у детей, в том числе данных об их взаимосвязи с иммуно-гемостазиологическими параметрами.

У пациентов с ревматическими заболеваниями (РЗ) изменения в системе гемостаза встречаются с частотой 4,5–63 % случаев [30, 32]. Хорошо известно, что нарушения гемостаза являются одними из ведущих факторов этиопатогенеза РЗ. По многочисленным данным, изменения гемостаза при ЮИА встречаются чаще, чем диагностируются, так как они наиболее выражены при высокой активности воспалительного процесса, менее – при средней активности и нередко имеют малосимптомное течение [30, 32].

При системных поражениях у пациентов с РЗ, в том числе с ЮИА, патология гемостаза занимает одно из основных мест в иммунокомплексном механизме воспаления. Важная роль в патогенезе ЮИА отводится повреждению клеток эндотелия. Эндотелий кровеносных сосудов обладает тромборезистентностью, что обусловлено его способностью синтезировать простагландин, тканевой активатор фибринолиза, фиксировать на эндотелии комплекс гепарин – антитромбин III, удалять из кровотока активированные факторы свёртывания крови и в то же время тромбогенностью (синтезирует фактор Виллебранда (ФВ) и др.). Сосудистая стенка очень тесно взаимодействует со всеми звеньями системы гемостаза [30, 33, 34].

Имунокомплексное повреждение стенок сосудов при РЗ, оголение субэндотелия способствуют активации гемостаза и уменьшению уровня физиологических анти-

коагулянтов в организме [30]. Кроме того, провоспалительные цитокины имеют способность вызывать апоптоз Т-лимфоцитов и способствовать их адгезии к эндотелию сосудов. Лейкоциты в ответ на воспаление мигрируют в субэндотелий и повреждают эндотелиоциты, что приводит к развитию асептического воспаления внутри стенки сосуда [35].

В свою очередь активация эндотелия сосудов может играть существенную роль в возникновении и прогрессировании системных иммуновоспалительных заболеваний. У значительной части больных ЮИА выявляется повышение ФВ, что отражает степень повреждения микроциркуляторного русла [29, 33]. Повреждение сосудистой стенки сопровождается усилением адгезии и агрегации тромбоцитов, активацией факторов свёртывания крови. По современным представлениям, *in vivo* процесс гемостаза является единым и связан с гемостатическими реакциями тромбоцитов. Тромбоциты не только участвуют в активации коагуляционных факторов, но и выполняют функцию регуляции всего процесса свёртывания крови [33]. Тромбоциты также могут связывать иммунные комплексы [36].

У больных ЮИА установлена прямая зависимость между активностью заболевания и уровнем фибриногена [30, 37]. Выявлено, что тромбинемия и снижение уровня антитромбина III играют важную роль в развитии тромбгеморрагических осложнений у пациентов с ЮИА. При высокой активности процесса наблюдается выраженное увеличение уровня D-димера, а также снижение активности фибринолиза, что может быть связано с иммунокомплексным повреждением эндотелия и уменьшением выработки тканевого активатора плазминогена, а также его потреблением [30].

В исследованиях отечественных и зарубежных авторов как у взрослых пациентов с ревматоидным артритом (РА), так и у детей с ЮИА при высокой активности патологии выявлены аналогичные изменения гемостаза – усиление индуцированной агрегации тромбоцитов, увеличение уровня фибриногена, укорочение активированного парциального тромбoplastинового времени (АПТВ), увеличение ФВ, снижение антитромбина III, тромбинемия, увеличение D-димера, что указывает на повышенный риск тромбообразования [26, 27, 30, 38].

Традиционные лабораторные методы исследования гемостаза не всегда позволяют адекватно оценить тромботическую готовность. Представляет интерес относительно новый метод оценки гемостаза – тест тромбодинамики, который способен обнаружить предтромботические состояния. Основным принцип теста заключается в проведении локальной стимуляции эндотелия сосудистой стенки с последующим образованием тромба в реальном времени при непрерывном наблюдении за процессом. Использование этого метода позволяет визуализировать рост фибринового сгустка *in vitro* [39, 40]. В последние годы проведены два исследования с применением теста тромбодинамики у взрослых с РА. Так, исследование А.Д. Пешковой и соавт. в 2020 г. выявило увеличение скорости роста, размера и плотности фибринового сгустка в плазме крови, указывающее

на наличие хронической гиперкоагуляции [41]. Во втором исследовании Н.В. Середавкиной и соавт., проведённом в 2022 г., получены результаты, схожие по уровням плотности, частоте возникновения спонтанных тромбов в группах больных и здоровых, но противоречивые в отношении скорости, которая была сопоставима у больных и в контроле [42]. В доступной научной литературе отсутствуют сведения о проведении у детей с ЮИА исследований гемостаза с применением теста тромбодинамики. Мы предполагаем, что сходные изменения могут выявляться при ЮИА у детей. Тромбодинамический тест может помочь получить информацию о патогенезе изменений, в том числе в системе гемостаза, у детей с ЮИА, определить прогностические факторы и диагностическую значимость данного исследования.

## ИММУНОПОСРЕДОВАННЫЙ АНТИФОСФОЛИПИДНЫЙ СИНДРОМ

Наряду с хронической гиперкоагуляцией состояние тромботической готовности при ЮИА может усугубляться другими факторами [43–46]. Особое место среди них занимает иммуноопосредованный АФС [43, 44].

АФС – это аутоиммунный синдром, возникающий в связи с образованием аутоантител к фосфолипидам мембран клеток или фосфолипидсвязывающим белкам крови, проявляющийся артериальными и/или венозными тромбозами [43, 47]. В Международной классификации болезней 11-го пересмотра для АФС есть соответствующий нозологический код – 4A45 [43, 48].

АФС у детей может манифестировать в широком возрастном диапазоне, даже у новорождённых, однако наиболее часто диагностируется в возрасте от 9 до 14 лет [43, 44]. При АФС в детской популяции не наблюдается гендерного преобладания, что контрастирует с распределением по полу у взрослых, где соотношение женщин и мужчин составляет примерно 5:1 [45].

Развитие иммуноопосредованного АФС происходит при системных заболеваниях соединительной ткани (системная красная волчанка (СКВ), РА и др.), другой аутоиммунной патологии [43, 49].

Иммуноопосредованный АФС занимает важное место среди факторов риска развития тромбозов. Антитела к фосфолипидам (аФЛ) влияют на различные звенья системы гемостаза [46]. Иммуноглобулины IgG, IgM и IgA представляют собой разнообразное семейство ауто- и аллоантител к фосфолипидам, находящимся в клеточных плазматических мембранах. Прежде считалось, что антитела ассоциированы с отрицательно заряженными фосфолипидами, присутствующими на внутренней поверхности мембраны. Однако обнаружены антитела к фосфатидилэтаноламину, который расположен на внешней поверхности мембраны. Основную роль в патологическом аутоиммунном процессе играет фосфатидилсерин – анионный фосфолипид, находящийся на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны, защищённый от воздействия плазмы с антителами [49–51]. Антитела, направленные против фосфолипидов, могут привести к поврежде-

нию мембраны эндотелия путём нарушения баланса естественных антикоагулянтов и ингибиторов свёртывания. Это может провоцировать гиперкоагуляцию [43, 48].

Известно несколько механизмов действия аФЛ на гемостаз (аФЛ могут связываться с тромбином, блокируя его взаимодействие с антитромбином, протеинами С и S; стимулировать тромбоциты; взаимодействовать с эндотелиоцитами, усиливая экспрессию тканевого фактора; активировать систему комплемента, приводя к тромбозам; ингибировать плазмин и тканевой активатор плазминогена) [43, 47].

При АФС основной мишенью аутоиммунного процесса является белок плазмы  $\beta$ 2-гликопротеин 1 ( $\beta$ 2-Gp1), который регулирует свёртывание крови, проявляя как прокоагулянтное (ингибирование прокоагулянтного протеина С, нарушение связывания аннексина V, предотвращение формирования комплекса тромбомодулин/тромбин), так и антикоагулянтное действие (предотвращение агрегации тромбоцитов, стимулированной аденозиндифосфатом), а также ингибирование механизмов торможения тромбина, фактора-Ха и тканевого активатора плазминогена, с общим доминированием прокоагулянтного эффекта [43, 51].

Антитела антифосфолипидного типа как самостоятельно, так и в комплексе с плазменными белками ( $\beta$ 2-Gp1, протромбином, аннексином V) способны индуцировать повреждение клеток. Прямое воздействие на клетки происходит при формировании комплекса «антиген – антитело» на клеточной мембране. Иммунное повреждение клеток может происходить с участием комплемента, когда клеточная активация инициируется системой комплемента либо осуществляется за счёт действия макрофагов и естественных киллеров. В связи с этим воздействие аутоиммунных факторов носит иммунозависимый характер [48].

Важно отметить, что при АФС в крови происходит увеличение уровня цитокинов, способствующих воспалению (например, ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ ), а также усиливается экспрессия тканевого фактора и других прокоагулянтов моноцитами и эндотелиальными клетками [43–45]. Антитела к фосфолипиду кардиолипину (аКЛ), которые также выявляют при АФС, могут привести к активации и повреждению эндотелиоцитов путём связывания компонентов комплемента C3- и C4- на их поверхности [49, 51].

Большинство поражений при ЮИА имеет связь с развитием иммунокомплексного васкулита, осложнением которого являются тромбозы (венозные – у 70 % пациентов, артериальные – у 30 %, венозные и артериальные – у 30 %, а также тромбозы микроциркуляторного русла) [43, 52]. Клиническими критериями АФС являются: сосудистый тромбоз (один или более клинический эпизод артериального, венозного тромбоза или тромбоза мелких сосудов в любой ткани или органе, подтверждённый доплеровским или другими исследованиями), патология беременности (мертворождения, преждевременные роды, спонтанные аборт) [43, 50, 53].

При АФС обязательным является выявление аФЛ в крови. Лабораторные критерии АФС: волчаночный антикоагулянт (ВАК), аКЛ и антитела к  $\beta$ 2-Gp1 [50, 53]. Поло-

жительные результаты аФЛ в высоком титре имеют важное значение для соответствия критериям лабораторной диагностики и должны повторно проверяться два или более раз с интервалом не менее 12 недель, особенно у детей, учитывая возможность транзиторных форм АФС, ассоциированных с инфекциями и вакцинацией [54].

Профессор В.Г. Стуров и соавт. в учебно-методическом пособии «Антифосфолипидный синдром: клинико-биохимические аспекты патогенеза, диагностики и лечения» (2024) обращают внимание на то, что, согласно современным клиническим критериям (ACR/EULAR, Amecian College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology, 2023), АФС устанавливается на основании 1 и/или 2 клинических и хотя бы 1 лабораторного критерия (аКЛ, и/или антитела к  $\beta 2$ -Gp1, и/или положительный ВАК). Причём в настоящее время для подтверждения диагноза даже не обязательно выжидать 8–12 недель для повторного исследования АФА, если титр последних более диагностического референса ( $>40$  GPU/ml) [43, 55, 56].

Имеются ограниченные данные о том, что маркеры АФС выявляются при всех вариантах ЮИА [5]. В основном исследования проводились у взрослых пациентов с РА [54, 57, 58].

T. Avcin и соавт. в 2001 г. одними из первых определяли аКЛ и антитела к  $\beta 2$ -Gp1 у детей с ЮИА. Положительный результат аКЛ был обнаружен у 30–53 % пациентов с ЮИА, но тромботические явления, связанные с аФЛ, наблюдались редко. В когорте из 28 детей с ЮИА аКЛ оказались наиболее частым положительным тестом на аФЛ, что позволяет предположить, что выработка аутоантител может быть следствием инфекционного триггера у обследованных детей, так как, по данным литературы, аКЛ чаще всего выявляются после перенесённых вирусных и бактериальных заболеваний, и объясняет протромботический потенциал аФЛ, наблюдаемый при ЮИА [6].

Исследователями из Италии J. Ma и соавт. в 2018 г. проведён ретроспективный анализ клинических и иммунологических изменений при АФС у 58 детей. Выявлено 18 случаев первичных АФС, 40 случаев – вторичных, при системной красной волчанке. Наиболее частыми проявлениями тромбозов были тромбозы глубоких вен нижних конечностей. Антитела к  $\beta 2$ -Gp1 были положительными в 77 % случаев. Более половины (52 %) пациентов были трижды положительными на аФЛ [44].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый литературный обзор показывает, что иммуно-гемостазиологический статус при системных заболеваниях соединительной ткани наиболее хорошо изучен при СКВ и РА у взрослых пациентов. Проведены многочисленные исследования при РА у взрослых, при помощи которых получена дополнительная информация о патогенезе иммунокомплексных и тромботических осложнений, их прогностическом и диагностическом значении. Исследования показали, что воспаление суставных тканей сопровождается увеличением продук-

ции цитокинов, которые активируют эндотелий, вызывают экспрессию тканевого фактора, ингибирование фибринолиза, протеина С и др., что индуцирует протромботическое состояние и тромбозы. Исследования гемостаза, в том числе с использованием теста тромбодинамики, у взрослых с РА показали наличие хронического гиперкоагуляционного состояния. Таким образом, РА является фактором риска тромботических осложнений у взрослых.

Наряду с хронической гиперкоагуляцией протромботическое состояние при РА может усугубляться другими факторами. Особое место среди них занимает АФС. Известно, что развитие иммуноопосредованного АФС происходит при различной аутоиммунной патологии, в том числе при системных заболеваниях соединительной ткани (СКВ, РА и др.). Имеются данные о том, что иммуноопосредованный АФС выявляется при РА у взрослых.

Отечественными и зарубежными коллегами также проводятся исследования иммунного статуса и системы гемостаза у детей с ЮИА. Изменения цитокинового профиля при ЮИА у детей с высокой и умеренной степенью активности воспалительного процесса практически аналогичны таковому у взрослых. По многочисленным данным, изменения гемостаза при ЮИА встречаются чаще, чем диагностируются, так как зависят от активности иммуновоспалительного процесса, наиболее выражены при высокой активности, менее – при средней и нередко имеют малосимптомное течение. Изменения гемостаза при ЮИА характеризуются усилением индуцированной агрегации тромбоцитов, увеличением уровня фибриногена, укорочением АПТВ, увеличением ФВ, снижением антитромбина III, тромбинемией, увеличением D-димера, что указывает на повышенный риск тромбообразования. К сожалению, в доступной научной литературе отсутствуют сведения о проведении у детей с ЮИА исследований гемостаза с применением теста тромбодинамики, который способен обнаружить предтромботическое состояние. Важно отметить, что некоторые вопросы гемостазиологических нарушений у этих пациентов остаются не до конца изученными. Исследования иммуноопосредованного АФС при ЮИА у детей единичны, в том числе исследования, касающиеся его взаимосвязи с иммуно-гемостазиологическими параметрами, хотя важность изучения данного вопроса не вызывает сомнения. Имеются ограниченные данные о том, что маркеры АФС выявляются при всех вариантах ЮИА.

Необходимы дальнейшие исследования по изучению иммуно-гемостазиологического статуса при ЮИА, включая пациентов с иммуноопосредованным АФС, которые могут быть необходимы для профилактики тромботического риска.

### Финансирование

Авторы данной статьи заявили об отсутствии финансовой поддержки при подготовке данной рукописи.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявили об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы в равной степени внесли вклад в разработку концепции статьи и в написание рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Алексеева Е.И., Валиева С.И., Бзарова Т.М., Никишина И.П. *Юношеский артрит: клинические рекомендации*. М.: Союз педиатров России; 2017. [Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Alekseeva EI, Valieva SI, Bzarova TM, Nikishina IP. *Juvenile arthritis: Clinical guidelines*. Moscow: Union of Pediatricians of Russia; 2017. (In Russ.).]
2. Зорин И.В., Фроленко А.Л., Карымова Г.К., Месяц Д.С., Альшеева З.Т. Ювенильный идиопатический артрит: клинический случай. *Лечащий врач*. 2023; 7-8(26): 7-13. [Zorin IV, Frolenko AL, Karymova GK, Mesyats DS, Alsheeva ZT. Juvenile idiopathic arthritis: Clinical case. *Lechaschi vrach*. 2023; 7-8(26): 7-13. (In Russ.).] doi: 10.51793/OS.2023.26.8.001
3. Савостьянов К.В., Алексеева Е.И., Чистяков Д.А. Ассоциация генов, не кодирующих компоненты главного комплекса гистосовместимости, с ювенильным идиопатическим артритом. *Вестник РАМН*. 2014; (9-10): 83-94. [Savost'yanov KV, Alexeeva EI, Chistiakov DA. Contribution of non-HLA genes to juvenile idiopathic arthritis susceptibility. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2014; (9-10): 83-94. (In Russ.).] doi: 10.29296/25877305-2021-03-10
4. Насонов Е.Л. Проблемы иммунопатологии ревматоидного артрита: эволюция болезни. *Научно-практическая ревматология*. 2017; 55(3): 277-294. [Nasonov EL. Problems of rheumatoid arthritis immunopathology: Evolution of the disease. *Rheumatology Science and Practice*. 2017; 55(3): 277-294. (In Russ.).] doi: 10.14412/1995-4484-2017-277-294
5. Суховьёва О.Г., Жолобова Е.С., Николаева М.Н. Состояние плазменного звена гемостаза до и после пульс-терапии метилпреднизолоном при системной форме ювенильного ревматоидного артрита. *Доктор.Ру*. 2013; 3(81): 24-30. [Sukhoviyova OG, Zholobova ES, Nikolaeva MN. Plasma hemostatic parameters before and after methylprednisolone pulse treatment in patients with systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Doctor.Ru*. 2013; 3(81): 24-30. (In Russ.).]
6. Avcin T, Ambrozic A, Kuhar M, Kveder T, Rozman B. Anticardiolipin and anti-beta(2) glycoprotein I antibodies in sera of 61 apparently healthy children at regular preventive visits. *Rheumatology (Oxford)*. 2001; 40(5): 565-573. doi: 10.1093/rheumatology/40.5.565
7. Маллаев Ш.Ш., Алимов А.В., Бобомуратов Т.А., Динмухаммадиева Д.Р. Клиническое течение ювенильного ревматоидного артрита и его оптимизация лечения. *Педиатрия*. 2020; 2: 200-203. [Mallaev ShSh, Alimov AV, Bobomuratov TA, Dinmuhammadiyeva DR. Juvenile idiopathic arthritis in children: A modern view of the problem. *Pediatrics*. 2020; 2: 200-203. (In Russ.).]
8. Barut K, Adrovic A, Şahin S, Kasapçopur Ö. Juvenile idiopathic arthritis. *Balkan Med J*. 2017; 34(2): 90-101. doi: 10.4274/balkanmedj.2017.0111
9. Liu S, Gong W, Liu L, Yan R, Wang S, Yuan Z. Integrative analysis of transcriptome-wide association study and gene-based association analysis identifies in silico candidate genes associated with juvenile idiopathic arthritis. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(21): 13555. doi: 10.3390/ijms232113555
10. La Bella S, Rinaldi M, Di Ludovico A, Di Donato G, Di Donato G, Salpietro V, et al. Genetic background and molecular mechanisms of juvenile idiopathic arthritis. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(3): 1846. doi: 10.3390/ijms24031846
11. Fischer J, Dirks J, Haase G, Holl-Wieden A, Hofmann C, Girschick H, et al. IL-21<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T helper cells co-expressing IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  accumulate in the joints of antinuclear antibody positive patients with juvenile idiopathic arthritis. *Clin Immunol*. 2020; 217: 108484. doi: 10.1016/j.clim.2020.108484
12. Zaripova LN, Midgley A, Christmas SE, Beresford WA, Baildam EM, Oldershaw RA. Juvenile idiopathic arthritis: From etitogenesis to treatment. *Pediatrician Rheumatol Online J*. 2021; 19: 135. doi: 10.1186/s12969-021-00629-8
13. Feng M, Kang M, He F, Xiao Z, Liu Z, Yao H et al. Plasma interleukin-37 increases and inhibits inflammatory cytokine production in peripheral blood mononuclear cells in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Transl Immunol*. 2018; 16: 2771. doi: 10.1186/s12967-018-1655-8
14. Пашнина И.А., Криволапова И.М., Черешнева М.В. Концентрация IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  в супернатантах культур клеток периферической крови у детей с аутоиммунной и инфекционной патологией. *Российский иммунологический журнал*. 2020; 23(3): 271-278. [Pashnina IA, Krivolapova IM, Cheresheva MV. IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  measured in supernatants of peripheral blood cell cultures from children with autoimmune and infectious pathology. *Russian Journal of Immunology*. 2020; 23(3): 271-278. (In Russ.).] doi: 10.46235/1028-7221-336-IAT
15. Akioka S. Interleukin-6 in juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol*. 2019; 29: 275-286. doi: 10.1080/14397595.2019.1574697
16. Peng Y, Liu X, Duan Z, Duan J, Zhou Y. The association of serum IL-10 levels with the disease activity in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis patients. *Mediat Inflamm*. 2021; 2021: 1. doi: 10.1155/2021/6650928
17. Sun Y, Wang Z, Chi H, Hu Q, Ye J, Liu H et al. Elevated serum levels of interleukin-10 in adult-onset Still's disease are associated with disease activity. *Clin Rheumatol*. 2019; 38: 3205-3210. doi: 10.1007/s10067-019-04642
18. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. *Цитокины*. СПб.: Фолиант; 2008. [Ketlinsky SA, Simbirtsev AS. *Cytokines*. Saint Petersburg: Foliant; 2008. (In Russ.).]
19. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Lee SR et al. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) in autoimmune disease and current TNF- $\alpha$  inhibitors in therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021; 22: 2719. doi: 10.3390/ijms22052719
20. Dong C, Fu T, Ji J, Li Z, Gu Z. The role of interleukin-4 in rheumatic diseases. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2018; 45(8): 747-754. doi: 10.1111/1440-1681.12946
21. Спиваковская А.Ю., Спиваковский Ю.М., Черненко Ю.В. Анализ клинико-иммунологических показателей у детей с суставной патологией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2018; 63(6): 55-59. [Spivakovskaya AYU, Spivakovskiy YuM, Chernenkov YuV. Analysis of clinical and immunological parameters in children with joint pathology. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2018; 63(6): 55-59. (In Russ.).] doi: 10.21508/1027-4065-2018-63-5-55-59
22. Wu J, Lu AD, Zhang LP, Zuo YX, Jia YP. [Study of clinical outcome and prognosis in pediatric core binding factor-acute myeloid leukemia]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2019; 40(1): 52-57. (In Chinese). doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.01.010

23. Karimdzhanov IA, Madaminova MSh, Umarov DA. The role of interleukin 17 in juvenile idiopathic arthritis. *Child's Health*. 2024; 19(3): 134-139. doi: 10.22141/2224-0551.19.3.2024.1691
24. Marzetti V, Breda L, Miulli E, Filippetti F, Mancini C, Chiarelli F, et al. Clinical characteristics of juvenile idiopathic arthritis in an area of central Italy: A population-based study. *Ann Ig*. 2017; 29(4): 281-292. doi: 10.7416/ai.2017.2152
25. Журавлева Ю.А., Гусев Е.Ю. Взаимосвязь системной воспалительной реакции и гиперкоагуляции у пациентов с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями. *Медицинская иммунология*. 2023; 25(5): 1059-1064. [Zhuravleva YuA, Gusev EYu. Relationship between systemic inflammatory response and hypercoagulation in patients with immuno-inflammatory rheumatic diseases. *Medical Immunology (Russia)*. 2023; 25(5): 1059-1064. (In Russ.)]. doi: 10.15789/1563-0625-RBS-2817
26. Musayeva N, Islamova Z. PB2633: Hemostasiological changes in rheumatoid arthritis. *HemaSphere*. 2023; 7(53): e4555018. doi: 10.1097/01.HS9.0000977220.45550.18
27. Чельдиева Ф.А., Решетняк Т.М. Ревматоидный артрит: некоторые компоненты гемостаза и воспаление. *Современная ревматология*. 2019; 13(3): 87-94. [Cheldieva FA, Reshetnyak TM. Rheumatoid arthritis: Some components of hemostasis and inflammation. *Modern Rheumatology Journal*. 2019; 13(3): 87-94. (In Russ.)]. doi: 10.14412/1996-7012-2019-3-87-94
28. Насонов Е.Л., Авдеева А.С., Дибров Д.А. Ревматоидный артрит как клинико-иммунологический синдром: фокус на серонегативный субтип заболевания. *Научно-практическая ревматология*. 2023; 61(3): 276-291. [Nasonov EL, Avdeeva AS, Dibrov DA. Rheumatoid arthritis as a clinical and immunological syndrome: Focus on the seronegative subtype of the disease. *Rheumatology Science and Practice*. 2023; 61(3): 276-291. (In Russ.)]. doi: 10.47360/1995-4484-2023-276-291
29. Klein A, Molad Y. Hematological manifestations among patients with rheumatic diseases. *Acta Haematol*. 2021; 144(4): 403-412. doi: 10.1159/000511759
30. Скударнов Е.В., Лобанов Ю.Ф., Ковалев В.В., Григорьевская О.А. Состояние гемостаза при ювенильном ревматоидном артрите у детей. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2011; 90(5): 35-19. [Lobanov YuF, Skudarnov EV, Kovalev VV, Grigorevskaya OA. Hemostasis in juvenile rheumatoid arthritis in children. *Pediatrics n. a. G.N. Speransky*. 2011; 90(5): 35-19. (In Russ.)].
31. Богмат Л.В., Никонова В.В., Шевченко Н.С., Бессонова И.М. Особенности свертывающей системы у детей с ювенильным идиопатическим артритом. *Здоровье ребенка*. 2021; 16(2): 105-110. [Bogmat LV, Nikonova VV, Shevchenko NS, Bessonova IM. Features of coagulation system in children with juvenile idiopathic arthritis. *Child's Health*. 2021; 16(2): 105-110. (In Russ.)]. doi: 10.22141/2224-0551.16.2.2021.229873
32. Черненко Ю.В., Захарова Н.Б., Кузьмина А.А., Спиваковский Ю.М. Современные методы ранней диагностики ювенильных артритов (обзор). *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2013; 9(2): 308-313. [Chernenkov YV, Zakharova NB, Kuzmina AA, Spivakovskiy YM. Modern methods of early diagnostics of juvenile arthritis (review). *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2013; 9(2): 308-313. (In Russ.)].
33. Стрельникова Е.А., Трушкина П.Ю., Сузов И.Ю., Короткова Н.В., Мжаванадзе Н.Д., Деев Р.В. Эндотелий *in vivo* и *in vitro*. Часть 1: гистогенез, структура, цитофизиология и ключевые маркеры. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2019; 7(3): 450-
465. [Strelnikova EA, Trushkina PYu, Surov IYu, Korotkova NV, Mzhavanadze ND, Deev RV. Endothelium *in vivo* and *in vitro*. Part 1: Histogenesis, structure, cytophysiology and key markers. *Eruditio Juvenium*. 2019; 7(3): 450-465. (In Russ.)]. doi: 10.23888/HMJ201973450-465
34. Гомелля М.В. *Геморрагический синдром у детей: учебное пособие*. Иркутск: Иркутский государственный медицинский университет; 2021. [Gomellya MV. *Hemorrhagic syndrome in children: Textbook*. Irkutsk: Irkutsk State Medical University; 2021. (In Russ.)].
35. Дивакова Ю.В., Колосков А.В. Эндотелиально-тромбоцитарное взаимодействие при сепсисе. *Гематология и трансфузиология*. 2022; 67(3): 406-418. [Divakova YuV, Koloskov AV. Endothelial-platelet interaction in sepsis. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2022; 67(3): 406-418. (In Russ.)]. doi: 10.35754/0234-5730-2022-67-3-406-418
36. Cafaro G, McInnes IB. Psoriatic arthritis: Tissue-directed inflammation? *Clin Rheumatol* 2018; 37(4): 859-868. doi: 10.1007/s10067-018-4012-7
37. Герасимова О.Н., Иванова О.В. Изменения в системе гемостаза и особенности межклеточных взаимодействий у детей с ювенильным ревматоидным артритом. *Вестник новых медицинских технологий*. 2010; 3: 99. [Gerasimova ON, Ivanova OV. Changes in the hemostasis system and features of intercellular interactions in children with juvenile rheumatoid arthritis. *Journal of New Medical Technologies*. 2010; 3: 99. (In Russ.)].
38. Zhigulina KV, Spitsina SS. Assessment of the main indicators of the hemostasis system in patients with rheumatoid arthritis. *Virtual Congress*. 2021; 1: 392.
39. Minaev AV, Gushchin DK, Kovalev DV, Mwela BM. Hemostasis assessment in Fontan patients using the new thrombodynamics test. *Egypt Heart J*. 2023; 75(1): 39. doi: 10.1186/s43044-023-00365-2
40. Баландина А.Н., Кольцова Е.М., Шибекко А.М., Курпаш А.Д., Атауллаханов Ф.И. Тромбодинамика: новый подход к диагностике нарушений системы гемостаза. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2018; 17(4): 114-126. [Balandina AN, Koltsova EM, Shibeko AM, Kuprash AD, Ataulkhanov FI. Thrombodynamics: A new method to the diagnosis of hemostasis system disorders. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2018; 17(4): 114-126. (In Russ.)]. doi: 10.24287/1726-1708-2018-17-4-114-126
41. Пешкова А.Д., Евдокимова Т.А., Сибгатуллин Т.Б., Атауллаханов Ф.И., Литвинов Р.И. Изменения параметров тромбодинамики и контракции сгустков крови у пациентов с ревматоидным артритом. *Научно-практическая ревматология*. 2020; 58(3): 294-303. [Peshkova AD, Evdokimova TA, Sibgatullin TB, Ataulkhanov FI, Litvinov RI. Changes in the parameters of thrombodynamics and blood clot contraction in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology Science and Practice*. 2020; 58(3): 294-303. (In Russ.)]. doi: 10.14412/1995-4484-2020-294-303
42. Середавкина Н.В., Чельдиева Ф.А., Лила А.М., Решетняк Т.М. Протромботическое состояние при ревматоидном артрите. *Здравоохранение Таджикистана*. 2022; (4): 82-91. [Seredavkina NV, Cheldieva FA, Lila AM, Reshetnyak TM. Prothrombotic state in rheumatoid arthritis. *Health Care of Tajikistan*. 2022; (4): 82-91. (In Russ.)]. doi: 10.52888/0514-2515-2022-355-4-82-91
43. Стуров В.Г., Гуляева Л.Ф., Тамкович С.Н., Макарова С.И. Антифосфолипидный синдром: клинико-биохимические аспек-

ты патогенеза, диагностики и лечения: учебно-методическое пособие. Новосибирск: Новосибирский государственный университет; 2024. [Sturov VG, Gulyaeva LF, Tamkovich SN, Makarova SI. *Antiphospholipid syndrome: Clinical and biochemical aspects of pathogenesis, diagnosis and treatment: Study guide*. Novosibirsk: Novosibirsk State University; 2024. (In Russ.)].

44. Ma J, Song H, Wei M, He Y. Clinical characteristics and thrombosis outcomes of paediatric antiphospholipid syndrome: Analysis of 58 patients. *Clin Rheumatol*. 2018; 37: 1295-1303. doi: 10.1007/s10067-017-3776-5

45. Madison JA, Zuo Y, Knight JS. Pediatric antiphospholipid syndrome. *Eur J Rheumatol*. 2019; 7: 1-10. doi: 10.5152/eurjrheum.2019.19160

46. Момот А.П., Тараненко И.А., Белозеров Д.Е., Цывкина Л.П., Фадеева Н.И., Медведева М.В. Инициация свертывания крови в разные сроки физиологически протекающей беременности. *Сибирский медицинский журнал*. 2014; 34(5): 58-66. [Momot AP, Taranenko IA, Belozеров DE, Tsyvkina LP, Fadeeva NI, Medvedeva MV. Initiation of blood clotting in different stages of normal pregnancy. *Siberian Medical Journal*. 2014; 34(5): 58-66. (In Russ.)]

47. Rosina S, Chighizola CB, Ravelli A, Cimaz R. Pediatric antiphospholipid syndrome: From pathogenesis to clinical management. *Curr Rheumatol Rep*. 2021; 23(2): 10. doi: 10.1007/s11926-020-00976-7

48. Islabão AG, Trindade VC, da Mota LMH, Andrade DCO, Silva CA. Managing antiphospholipid syndrome in children and adolescents: Current and future prospects. *Paediatr Drugs*. 2022; 24(1): 13-27. doi: 10.1007/s40272-021-00484-w

49. Meroni PL, Argolini LM, Pontikaki I. What is known about pediatric antiphospholipid syndrome? *Expert Rev Hematol*. 2016; 9: 977-985. doi: 10.1080/17474086.2016.1235969

50. Острякова Е.В., Патрушев Л.И., Решетняк Т.М. Антифосфолипидный синдром и система фибринолиза. *Научно-практическая ревматология*. 2011; 49(6): 57-64. [Ostryakova EV, Patrushev LI, Reshetnyak TM. The antiphospholipid syndrome

and the fibrinolytic system. *Rheumatology Science and Practice*. 2011; 49(6): 57-64. (In Russ.)].

51. Groot N, Graeff N, Avcin T, Bader-Meunier B, Dolezalova P, Feldman B, et al. European evidence-based recommendations for diagnosis and treatment of paediatric antiphospholipid syndrome: The SHARE initiative. *Ann Rheum Dis*. 2017; 76(10): 1637-1641. doi: 10.1136/annrheumdis-2016-211001

52. Шабалов Н.П. *Детские болезни: учебник для вузов*; 9-е изд., перераб. и доп. СПб.: Питер; 2021; 2. [Shabalov NP. *Pediatric diseases: Textbook for universities*; 9th ed., revised and enlarged. Saint Petersburg: Piter; 2021; 2. (In Russ.)].

53. Soybilgic A, Avcin T. Pediatric APS: State of the art. *Curr Rheumatol Rep*. 2020; 22(3): 9. doi: 10.1007/s11926-020-0887-9

54. Mohammed MJ, Hashim HT, Al-Obaidi AD, Al-Shammari A. A novel overlap syndrome: Rheumatoid arthritis, Sjogren's syndrome, antiphospholipid syndrome, and dermatomyositis. *Clin Case Rep*. 2023; 11(4): e7274. doi: 10.1002/ccr3.7274

55. Barbhaya M, Zuily S, Naden R, Hendry A, Manneville F, Amigo MC, et al. The 2023 ACR/EULAR antiphospholipid syndrome classification criteria. *Arthritis Rheumatol*. 2023; 75(10): 1687-1702. doi: 10.1002/art.42624

56. Devreese KMJ, Groot PG, Laat B, Erkan D, Favaloro EJ, Mackie I, et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost*. 2020; 18(11): 2828-2839. doi: 10.1111/jth.15047

57. O'Leary RE, Hsiao JL, Worswick SD. Antiphospholipid syndrome in a patient with rheumatoid arthritis. *Cutis*. 2017; 99(3): 21-24.

58. Arabidze GG, Shapchenko AV, Muslimova OV, Larina OY, Sorokoletov AM. Clinical case of rheumatoid arthritis with antiphospholipid antibody syndrome. *CardioSomatics*. 2015; 6(3): 70-78. doi: 10.26442/CS45162

#### Сведения об авторах

**Гомелля Марина Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор кафедры детских болезней и детских инфекций, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: marina\_gomellya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0441-4548>

**Миронова Анастасия Витальевна** – ассистент кафедры детских болезней и детских инфекций, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tav23\_97\_1997@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-7774-4836>

**Крупская Тамара Семёновна** – кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой детских болезней и детских инфекций, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: krupskaya-tamara@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0285-3627>

**Татаринова Александра Валерьевна** – ассистент кафедры детских болезней и детских инфекций, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: alexandra.tatarinova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8212-9734>

#### Information about the authors

**Marina V. Gomellya** – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Children's Diseases and Children's Infections, Irkutsk State Medical University, e-mail: marina\_gomellya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0441-4548>

**Anastasia V. Mironova** – Teaching Assistant at the Department of Children's Diseases and Children's Infections, Irkutsk State Medical University, e-mail: tav23\_97\_1997@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-7774-4836>

**Tamara S. Krupskaya** – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of Children's Diseases and Children's Infections, Irkutsk State Medical University, e-mail: t.krupskaya@ismu.baikal.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0285-3627>

**Alexandra V. Tatarinova** – Teaching Assistant at the Department of Children's Diseases and Children's Infections, Irkutsk State Medical University, e-mail: alexandra.tatarinova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8212-9734>

## ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАССТРОЙСТВАМ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ У СЕЛЬСКИХ ПОДРОСТКОВ

Астахова Т.А.,  
Погодина А.В.,  
Лебедева Л.Н.,  
Рычкова Л.В.

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

Автор, ответственный за переписку:  
Татьяна Александровна Астахова,  
e-mail: tatjana\_astahova@mail.ru

### РЕЗЮМЕ

**Актуальность.** Вопросы отклонений в пищевом поведении среди подростков в настоящее время приобретают всё большую актуальность. Расстройства пищевого поведения оказывают влияние на психическое и физическое здоровье человека.

**Цель исследования.** Выявить связь между особенностью питания и предрасположенностью к расстройству пищевого поведения среди сельских школьников.

**Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 106 подростков 14–17 лет, проживающие в сельской местности Иркутской области. Оценку индивидуального фактического питания оценивали по методу «Анализ частоты потребления пищи». Для оценки риска расстройств пищевого поведения использовали «Шкалу оценки пищевого поведения».

**Результаты.** Результаты исследования показали, что нарушения пищевого поведения выявлены как у мальчиков, так и у девочек. Девочки реже потребляют мясо и молочные продукты. Мальчики чаще пропускали завтраки. При проведении анализа корреляций между баллами по «Шкале оценки пищевого поведения» и частотой потребления продуктов была выявлена прямая умеренная связь только у мальчиков по субшкале «Стремление к худобе» с редким потреблением шоколада и мороженого. Пропуски завтраков, как у мальчиков, так и у девочек связаны с высокими баллами по субшкалам «Стремление к худобе» и «Неудовлетворённость телом», дополнительно у девочек пропуски ужинов связаны с субшкалой «Булимия».

**Заключение.** Предпосылки формирования расстройств пищевого поведения выявлены как у мальчиков, так и у девочек. Расстройства пищевого поведения среди подростков – сложная проблема, требующая комплексного подхода со стороны общества, учреждений здравоохранения, педагогов и родителей.

**Ключевые слова:** расстройства пищевого поведения, подростки, рацион питания

Статья поступила: 24.06.2024

Статья принята: 25.10.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Астахова Т.А., Погодина А.В., Лебедева Л.Н., Рычкова Л.В. Предрасположенность к расстройствам пищевого поведения у сельских подростков. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 221-229. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.24

## PREDISPOSITION TO EATING DISORDERS IN RURAL ADOLESCENTS

Astakhova T.A.,  
Pogodina A.V.,  
Lebedeva L.N.,  
Rychkova L.V.

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

Corresponding author:  
Tatyana A. Astakhova,  
e-mail: tatjana\_astakhova@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** The issues of eating disorders among adolescents are currently becoming increasingly relevant. Eating disorders have an impact on a person's mental and physical health. The aim. To identify the relationship between dietary habits and predisposition to eating disorders among rural schoolchildren.

**Materials and methods.** The study involved 106 adolescents aged 14–17 living in rural areas of the Irkutsk region. The assessment of individual actual nutrition was assessed using the method of "Analysis of the frequency of food intake". To assess the risk of eating disorders, an Eating Disorder Inventory was used.

**Results.** The results of the study showed that eating disorders were detected both in boys and girls. Girls are less likely to consume meat and dairy products. Boys skipped breakfast more often. When analyzing correlations between scores on the Eating Disorder Inventory and the frequency of food consumption, a direct moderate relationship was revealed only in boys on the subscale "Drive for thinness" with rare consumption of chocolate and ice cream. Skipping breakfast for both boys and girls is associated with high scores on the subscales "Drive for thinness" and "Body dissatisfaction", in addition, skipping dinners for girls is associated with the "Bulimia" subscale.

**Conclusion.** The prerequisites for the formation of eating disorders have been identified in both boys and girls. Eating disorders among adolescents is a complex problem that requires a comprehensive approach from society, healthcare institutions, educators and parents.

**Key words:** eating disorders, adolescents, diet

Received: 24.06.2024  
Accepted: 25.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Astakhova T.A., Pogodina A.V., Lebedeva L.N., Rychkova L.V. Predisposition to eating disorders in rural adolescents. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 221-229. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.24

Питание оказывает большое влияние на здоровье человека, особенно в период подросткового возраста, когда формируются привычки, вкусы и отношение к пище. В настоящее время вопросы питания и пищевого поведения среди подростков являются серьёзной проблемой не только в России, но и во всём мире. Рацион современных подростков характеризуется недостаточным содержанием овощей и фруктов, продуктов животного происхождения и в то же время избыточным потреблением натрия. Подобный паттерн питания ассоциирован с развитием алиментарно-зависимых заболеваний [1]. В современном мире существует множество факторов, оказывающих влияние на питание подростков. Еда в современном мире это не только способ утолить голод, но и объект тщательного выбора, несущего социокультурные и психологические коннотации [2]. Помимо этого, на пищевых привычках сельских подростков могут сказываться различия в культуре и традициях. Например, предпочтение высококалорийной пищи, традиционной для некоторых сельских регионов, может способствовать избыточному потреблению жиров и сахара, что увеличивает риск развития ожирения.

Большое значение в регуляции процесса питания играет пищевое поведение. Пищевое поведение следует рассматривать как «ценностное отношение к пище и её приёму, стереотип питания в обыденных условиях и в ситуации стресса, ориентация на образ собственного тела и деятельность по его формированию» [3]. Пищевое поведение формируется с рождения и претерпевает изменения на протяжении всей жизни человека под воздействием различных факторов и, как следствие, может определять качество рациона. Расстройства пищевого поведения (РПП), по данным статистики, затрагивают не менее 9 % населения во всём мире [4]. В последнее время отмечается тенденция к «омоложению» РПП. Такие расстройства пищевого поведения, как нервная анорексия и нервная булимия обычно возникают в подростковом и юношеском возрасте, чаще всего среди лиц женского пола. Изучение питания и пищевого поведения подростков можно рассматривать как одно из направлений для дальнейшего исследования по выявлению их взаимосвязи, а также разработке мер профилактики РПП среди школьников с целью сохранению здоровья и улучшения качества жизни.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить связь между особенностью питания и предрасположенностью к расстройствам пищевого поведения среди сельских школьников.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Дизайн исследования:** одномоментное сплошное поперечное исследование.

**Критерии включения:** возраст 14–17 лет; наличие информированного добровольного согласия родителей/

законных представителей подростков в возрасте до 15 лет и подростков старше 15 лет на участие в исследовании.

**Критерии исключения:** возраст менее 14 лет и старше 17 лет.

### Условия проведения

Исследование проведено в ноябре 2020 г. на территории п. Баяндай Иркутской области. В исследовании приняли участие подростки, присутствовавшие в школе в дни проведения исследования. Информированное добровольное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных получено от законных представителей пациентов (родители или опекуны) подростков в возрасте до 15 лет и от подростков старше 15 лет.

### Этическая экспертиза

Проведение исследования было одобрено Этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 2 от 18.02.2020).

**Продолжительность исследования:** с 1 ноября 2020 г. по 1 декабря 2020 г.

**Исходы исследования:** проведена оценка индивидуального фактического питания; определены типы нарушений пищевого поведения у обследованных лиц в исследуемых группах.

### Оценка физического развития

Всем подросткам проведены антропометрические измерения по стандартизованным протоколам, разработанным ВОЗ. Оценку физического развития подростков проводили с использованием программы WHO AntroPlus (2009) [5], дополнительно проводили измерения окружности талии (ОТ) с последующим вычислением индекса «ОТ/рост».

### Оценка питания

Оценку индивидуального фактического питания оценивали по методу «Анализ частоты потребления пищи» [6]. В соответствии с методикой, частоту потребления продуктов ранжировали согласно следующим вариантам: «никогда», «1 раз в неделю и реже», «2–3 раза в неделю», «5–6 раз в неделю», «ежедневно».

### Оценка риска развития РПП

«Шкала оценки пищевого поведения» (ШОПП) может быть использована для оценки нормативности/дезадаптивности ключевых феноменов отклоняющегося пищевого поведения с учётом факторной структуры опросника. В нашем исследовании была использована русскоязычная адаптированная методика «Шкала оценки пищевого поведения» [7]. Адаптированная ШОПП включает в себя 51 утверждение, которые разделены на 7 субшкал: «Стремление к худобе», «Булимия», «Неудовлетворённость телом», «Неэффективность», «Перфекционизм», «Недоверие в межличностных отношениях», «Интероцептивная некомпетентность». За ответы «всегда», «обычно», «часто» начисляются 3, 2 и 1 балл соответственно, за ответы «никогда», «редко» и «иногда» баллы не начисляются. Три субшкалы – «Стремление к худобе», «Булимия» и «Неудовлетворённость телом» – объединены в шкалу «Риск нарушений пищевого поведения». Для поиска ассоциаций между паттернами питания и риском РПП были взяты именно эти три субшкалы.

**Статистический анализ**

Анализ данных проведён с использованием пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 21 (IBM Corp., США). Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Выборку данных проверяли на нормальность распределения с помощью статистических критериев Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. В зависимости от характера распределения количественные показатели были представлены в виде медиан и значений 25-го и 75-го перцентилей или в виде средних и среднеквадратичных отклонений. Качественные данные представлены в виде абсолютных и относительных значений. Различия между группами по количественным признакам оценивали с использованием критерия Манна – Уитни. При сравнении групп по номинальным признакам использовали критерий хи-квадрат и критерий Фишера (при условии, что значение ожидаемого явления было менее 10). Для изучения связи между количественными или порядковыми признаками применяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена. За уровень статистической значимости принимали  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

В исследовании приняли участие 106 подростков сельской местности в возрасте 14–17 лет (средний возраст –  $15,9 \pm 0,8$  года), из них 60 (56,6 %) девочек, 46 (43,4 %) мальчиков. 73,8 % подростков имели средний уровень питания. Избыточное питание и ожире-

ние было выявлено у 15,5 % включённых в исследование подростков, недостаточное питание – у 8,7 % (табл. 1).

Результаты исследования об особенностях питания подростков представлены в таблице 2. Ежедневный завтрак дома чаще был у девочек ( $p = 0,005$ ), пропуск завтраков и редкие завтраки («1–2 раза в неделю») чаще встречались у мальчиков ( $p = 0,005$ , для «никогда» и «1–2 раза в неделю»). Завтраки в школе отмечены у 16,2 % исследуемых подростков, чаще у мальчиков. Девочки чаще, чем мальчики обедали дома каждый день ( $p = 0,006$ ).

Основу рациона сельских жителей составляет мясная и молочная пища. Мясо (не включая колбасные изделия) не менее 5 раз в неделю употребляют 61,9 % подростков, без различий по полу. Достоверно большее число девочек дали утвердительные ответы на вопросы о редком включении в свой рацион этого пищевого продукта ( $p = 0,009$ ).

Анализ результатов позволил выявить низкую частоту потребления молока. Никогда не потребляют молоко 16,2 % подростков, 21,9 % исследуемых подростков редко потребляют этот продукт, причём девочки значимо чаще никогда не употребляют этот продукт ( $p = 0,005$ ). Следует отметить, что ежедневное потребление фруктов и сырых овощей отмечалось у 22,8 % девочек и 5,7 % подростков мальчиков.

Субшкалы «Стремление к худобе», «Булимия» и «Неудовлетворённость своим телом» являются наиболее специфичными для РПП. Высокие станаины (8–9 станаины) по субшкале «Склонность к худобе» имели 28 (26,4 %) обследуемых подростков: 14 (31,8 %) мальчиков и

**ТАБЛИЦА 1**  
**АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОДРОСТКОВ, ВКЛЮЧЁННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ, Me [Q1; Q3]**

**TABLE 1**  
**ANTHROPOMETRIC CHARACTERISTICS OF ADOLESCENTS INCLUDED IN THE STUDY, Me [Q1; Q3]**

Показатель	Девочки <i>n</i> = 60	Мальчики <i>n</i> = 46	<i>p</i>
Масса тела, кг	54,0 [49,9; 59,6]	63,3 [56,5; 75]	< 0,001
Рост, см	161 [155,5; 165]	172 [168; 176]	0,980
ИМТ	21,4 [19,5; 23,2]	20,8 [19,6; 24,6]	0,705
SDS ИМТ	-0,3 [-0,44; 0,84]	0,04 [-0,42; 1,38]	0,046
SDS роста	-0,20 [-0,84; 0,38]	0,16 [-0,29; 0,47]	< 0,001
ОТ	68,2 [67; 74,1]	74,5 [70,5; 81,1]	0,351
ОТ/рост	0,44 [0,41; 0,47]	0,43 [0,42; 0,48]	0,021
Недостаточность питания	7 (11,8)	2 (4,8)	0,056
Средний уровень питания	44 (74,6)	32 (76,2)	0,608
Повышенное питание	7 (11,8)	7 (16,7)	0,066
Ожирение	1 (1,7)	1 (2,4)	0,332

**Примечание.** ИМТ – индекс массы тела; ОТ – окружность талии; SDS (standard deviation score) – стандартное отклонение роста; за уровень статистической значимости принимали  $p < 0,05$ .

**ТАБЛИЦА 2**  
**ОСОБЕННОСТИ ПИТАНИЯ ПОДРОСТКОВ**  
**В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА**

**TABLE 2**  
**EATING HABITS OF ADOLESCENTS DEPENDING**  
**ON GENDER**

	<b>Всего</b>	<b>n</b>	<b>Девочки</b>	<b>n</b>	<b>Мальчики</b>	<b>n</b>	<b>p</b>
<b>Завтраки дома</b>		106		61		45	0,057
ежедневно	75 (70,7)		49 (80,3)		26 (57,8)		0,005
5–6 раз в неделю	10 (9,4)		2 (3,3)		8 (17,8)		0,012
3–4 раза в неделю	15 (14,1)		7 (11,5)		8 (17,8)		0,358
1–2 раза в неделю	4		2 (3,3)		2 (4,4)		0,005
никогда	2		1 (1,6)		1 (2,2)		0,815
<b>Завтраки в школе</b>		105		61		44	0,743
каждый школьный день	17 (16,2)		8 (13,1)		9 (20,4)		0,794
5–6 раз в неделю	39 (37,1)		24 (39,3)		15 (34,1)		0,583
3–4 раза в неделю	4 (3,8)		1 (1,6)		3 (6,8)		0,172
1–2 раза в неделю	4 (3,8)		2 (3,4)		2 (4,6)		0,738
никогда	41 (39,1)		26 (42,6)		15 (34,1)		0,377
<b>Обед в школе</b>		105		61		44	0,043
каждый школьный день	21 (20)		11 (18,0)		10 (22,7)		0,553
5–6 раз в неделю	30 (28,6)		18 (29,5)		12 (27,3)		0,803
3–4 раза в неделю	7 (6,7)		4 (6,5)		3 (6,8)		0,958
1–2 раза в неделю	3 (2,8)		2 (3,4)		1 (2,3)		0,761
никогда	44 (41,9)		26 (42,6)		18 (40,9)		0,861
<b>Обед дома</b>		105		61		44	0,432
ежедневно	62 (59,1)		38 (62,3)		24 (54,5)		0,426
5–6 раз в неделю	13 (12,3)		6 (9,8)		7 (15,9)		0,006
3–4 раза в неделю	8 (7,6)		4 (6,5)		4 (9,1)		0,630
1–2 раза в неделю	12 (11,4)		7 (10,7)		5 (11,4)		0,986
никогда	10 (9,5)		6 (9,8)		4 (9,1)		0,898
<b>Ужин</b>		105		61		44	0,126
ежедневно	85 (80,9)		51 (83,6)		34 (77,3)		0,415
5–6 раз в неделю	9 (8,6)		4 (6,5)		5 (11,4)		0,386
3–4 раза в неделю	9 (8,6)		5 (8,2)		4 (9,1)		0,872
1–2 раза в неделю	0		0		0		–
никогда	2 (1,9)		1 (1,6)		1 (2,3)		0,815
<b>Мясо</b>		105		61		44	0,002
никогда	2 (1,9)		1 (1,6)		1 (2,3)		0,815
очень редко	13 (12,4)		11 (18,0)		3 (6,8)		0,009
умеренно часто	25 (23,8)		12 (21,3)		13 (29,5)		0,242
часто	65 (61,9)		37 (60,6)		28 (63,6)		0,757

ТАБЛИЦА 2 (продолжение)

TABLE 2 (continued)

<b>Сосиски/колбаса</b>	105	61	44	0,02
никогда	4 (3,8)	2 (3,4)	2 (4,5)	0,738
очень редко	60 (57,1)	38 (62,3)	22 (50,0)	0,210
умеренно часто	22 (20,1)	12 (19,7)	10 (22,7)	0,705
часто	19 (18,1)	9 (14,7)	10 (22,7)	0,296
<b>Молоко</b>	105	61	44	0,035
никогда	17 (16,2)	12 (19,7)	5 (11,4)	0,005
очень редко	23 (21,9)	12 (19,7)	11 (25,0)	0,515
умеренно часто	17 (16,2)	11 (18,0)	6 (13,6)	0,547
часто	48 (45,7)	26 (42,6)	22 (50,0)	0,455
<b>Хлеб пшеничный</b>	105	61	44	0,058
никогда	4 (3,8)	3 (4,9)	1 (2,3)	0,485
очень редко	13 (12,4)	10 (16,4)	3 (6,8)	0,142
умеренно часто	14 (13,3)	10 (16,4)	4 (9,1)	0,278
часто	74 (70,8)	38 (62,3)	36 (81,2)	0,031
<b>Орехи</b>	106	61	45	0,051
никогда	33 (31,1)	16 (26,1)	17 (37,8)	0,177
очень редко	59 (55,6)	36 (59,1)	23 (51,1)	0,492
умеренно часто	9 (8,5)	7 (11,5)	2 (4,4)	0,211
часто	5 (4,7)	2 (3,2)	3 (6,7)	0,401
<b>Картофель</b>	105	61	44	0,182
никогда	0	0	0	–
очень редко	15 (14,2)	8 (13,2)	7 (15,9)	0,687
умеренно часто	29 (27,6)	27 (44,3)	24 (51,5)	0,299
часто	61 (58,1)	35 (57,0)	26 (59,0)	0,195
<b>Сливочное масло</b>	105	61	44	0,004
никогда	31 (29,5)	21 (34,3)	10 (22,7)	0,185
очень редко	47 (44,8)	26 (42,6)	21 (47,7)	0,392
умеренно часто	14 (13,3)	7 (11,5)	7 (15,9)	0,510
часто	13 (12,4)	7 (11,5)	6 (13,6)	0,640

Примечание. За уровень статистической значимости принимали  $p < 0,05$ .

14 (22,9 %) девочек ( $p = 0,035$ ); по субшкале «Булимия» – 23 (21,7 %) подростка: мальчиков – 10 (22,7 %), девочек – 13 (21,3 %) ( $p = 0,012$ ); «Неудовлетворённость своим телом» – 29 (27,3 %) подросток: мальчиков – 7 (15,9 %), девочек – 22 (36,0 %) ( $p = 0,003$ ).

В нашем исследовании, как среди мальчиков, так и среди девочек, наибольшие баллы были по таким шкалам как «Неудовлетворённость своим телом» и «Перфекционизм». Дополнительно у девочек высо-

кие баллы были в шкале «Интероцептивная некомпетентность», у мальчиков – «Недоверие в межличностных отношениях».

Статистически значимых корреляций между антропометрическими индексами и суммарными баллами по трём субшкалам РПП в нашем исследовании не получено.

При проведении анализа корреляций между баллами по шкалам ШОПП и частотой потребления про-

дуктов были выявлены корреляционные взаимосвязи только у мальчиков по субшкале «Стремление к худобе» с редким потреблением шоколада и мороженого. По другим субшкалам не выявлено ассоциаций с пищевым рационом. Пропуски завтраков, как у мальчиков, так и у девочек, коррелировали с высокими баллами по субшкалам «Стремление к худобе» и «Неудовлетворённость телом», дополнительно у девочек пропуски ужинов коррелировали с субшкалой «Булимия» (табл. 3).

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Питание играет ключевую роль в формировании здоровья подростков. Пищевые привычки могут оказать существенное влияние на физическое и психическое развитие подрастающего поколения [8].

Согласно исследованиям, проведённым в последние годы, питание подростков в России часто характеризуется избытком потребления высококалорийных продуктов, богатых сахаром, солью и жирами, и недостатком фруктов, овощей. Быстрое питание, газированные напитки, сладости и чипсы являются популярными среди подростков, в то время как более полезные продукты, такие как орехи, фрукты или молочные продукты, потребляются менее часто [9, 10]. Данные результатов исследователей демонстрируют, что нарушения пищевого поведения тесно связаны с риском развития хронических неинфекционных заболеваний, а также с низкой успеваемостью в школе [11].

Проведённое исследование выявило ряд особенностей пищевого поведения сельских школьников, приводящее к серьёзным нарушениям, касающимся как режима питания, так и рациона. В нашем исследовании ежедневно включали в свой рацион

достаточное количество овощей и фруктов только 30,2 % обследуемых подростков. По данным ВОЗ, ежедневное потребление овощей и фруктов способствует снижению смертности на 40 % [12]. В исследовании IDEFICS показано, что лишь 9 % детского населения потребляют достаточное количество овощей и фруктов [13]. Молочные продукты являются важным источником макро- и микроэлементов, низкое потребление этих продуктов может являться предпосылкой развития остеопороза, частых переломов во взрослом возрасте. Среди обследуемых сельских подростков 21,9 % редко потребляют молочные продукты, при этом мальчики делают это значительно реже. Аналогичные нашим данным результаты получены в других исследованиях [14–16]. Обязательной составной частью рациона подростков должны быть мясные продукты (не колбасы) как основной источник белка животного происхождения.

По результатам нашего исследования, девочки имели более высокие баллы, по сравнению с мальчиками, по всем субшкалам, характеризующим РПП, что согласуется с данными других исследователей [17, 18].

Психологические проблемы, такие как стресс, депрессия или низкая самооценка, могут способствовать развитию нарушений пищевого поведения. Социальные аспекты играют важную роль в формировании расстройств пищевого поведения подростков. Так, давление со стороны окружающих на то, каким должно быть идеальное тело, может оказывать негативное влияние на подростков. Сельские подростки, так же, как и городские, могут сталкиваться с комплексами по поводу своего внешнего вида и стремиться соответствовать нереалистичным стандартам красоты, прибегая к диетическим ограничениям. В нашем исследовании эти ограничения касались мальчиков с приёмом легкоусвояемых углеводов.

**ТАБЛИЦА 3**  
**КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ЧАСТОТОЙ ПОТРЕБЛЕНИЯ БЛЮД/ПРОДУКТОВ И БАЛЛАМИ ПО СПЕЦИФИЧЕСКИМ ДЛЯ РПП СУБШКАЛАМ «ШКАЛЫ ОЦЕНКИ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ» У ПОДРОСТКОВ ОБОЕГО ПОЛА**

**TABLE 3**  
**CORRELATIONS BETWEEN FREQUENCY OF CONSUMPTION OF DISHES/PRODUCTS AND SCORES ON EATING DISORDER-SPECIFIC SUBSCALES OF THE EATING DISORDER INVENTORY IN ADOLESCENTS BY SEX**

Частота потребления блюд / продуктов	Баллы субшкал ШОПП					
	«Стремление к худобе»		«Неудовлетворённость телом»		«Булимия»	
	Девочки	Мальчики	Девочки	Мальчики	Девочки	Мальчики
Шоколад	–	–0,30	–	–	–	–
Мороженое	–	–0,39	–	–	–	–
Пропуски завтраков	0,34	0,32	0,42	0,36	–	–
Пропуски ужинов	0,43	–	0,40	0,21	0,41	–

Примечание. ШОПП – «Шкала оценки пищевого поведения».

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Расстройства пищевого поведения среди подростков – сложная проблема, которая требует комплексного подхода со стороны общества, учреждений здравоохранения, педагогов и родителей. Необходимо проводить информационную работу о правильном питании, здоровом образе жизни и самопринятии. Важно обеспечить подростков информацией, поддержкой и пониманием, чтобы помочь им справиться с проблемами пищевого поведения и сохранить своё физическое и психическое здоровье.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Денисова Н.Н., Кешабянц Э.Э., Мартинчик А.Н. Анализ режима питания и продуктовой структуры суточного рациона детей 3–17 лет в Российской Федерации. *Вопросы питания*. 2022; 91(4): 54-63. [Denisova NN, Keshabyants EE, Martinchik AN. Analysis of the diet and food structure of the daily diet of children aged 3–17 years in the Russian Federation. *Problems of Nutrition*. 2022; 91(4): 54-63. (In Russ.)]. doi: 10.33029/0042-8833-2022-91-4-54-63
2. Елиашевич С.О., Нуньес Араухо Д.Д., Драпкина О.М. Пищевое поведение: нарушения и способы их оценки. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023; 22(8): 3663. [Eliashevich SO, Nunes Araukho DD, Drapkina OM. Eating behavior: Disorders and how to assess them. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023; 22(8): 3663. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1728-8800-2023-3663
3. Иванов Д.В., Хохрина А.А. Образ тела у подростков с нарушениями пищевого поведения. *Вестник университета*. 2019; 6: 198-204. [Ivanov D, Khokhrina A. Body image among adolescents with eating disorders. *Vestnik Universiteta*. 2019; 6: 198-204. (In Russ.)]. doi: 10.26425/1816-4277-2019-6-198-204
4. Institute of Health Metrics and Evaluation. *Global Health Data Exchange (GHDx)*. URL: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/> [date of access: 25.02.24].
5. World Health Organization. *The WHO child growth standards*. 2009. URL: <http://who.int/childgrowth/software/en/> [date of access: 05.04.24].
6. Сорвачева Т.Н., Мартинчик А.Н., Пырьева Е.А. *Комплексная оценка фактического питания и нутритивного статуса детей: учебное пособие*. М.: ГБОУДПО «Российская медицинская академия последипломного образования»; 2013. [Sorvacheva TN, Martinchik AN, Pyryeva EA. *Comprehensive assessment of actual nutrition and nutritional status of children: A teaching aid*. Moscow: Russian Medical Academy of Continuous Education Publ.; 2013. (In Russ.)].
7. Скугаревский О.А., Копытов А.В., Скугаревская М.М., Ильчик О.А., Мельгуй С.Л. *Методы донозологической диагностики дезадаптивного пищевого поведения: инструкция по применению*. Минск; 2013. [Skugarevsky OA, Korytov AV, Skugarevskaya MM, Ilchik OA, Melguy SL. *Methods of pre-clinical diagnostics of maladaptive eating behavior: Instructions for use*. Minsk; 2013. (In Russ.)].
8. Бакирова М.А., Таракова Г.А., Быкабаева С.А., Сержанова Г.Н., Ергешбаева Р.Б., Итешова Н.Ж. Влияние питания на здоровье школьников. *Вестник Казахского национального медицинского университета*. 2016; 1: 553-556. [Bakirova MA, Tarakova GA, Bykybayeva SA, Serjanova GN, Yergeshbayeva RB, Iteshova NZh. Influence of feed on the health of schoolchildren. *Vestnik KazNMU*. 2016; 1: 553-556. (In Russ.)].
9. Мартинчик А.Н., Батурин А.К., Кешабянц Э.Э., Фатьянова Л.Н., Семёнова Я.А., Базарова Л.Б., и др. Анализ фактического питания детей и подростков России в возрасте от 3 до 19 лет. *Вопросы питания*. 2017; 86(4): 50-60. [Martinchik AN, Baturin AK, Keshabyants EE, Fatyanova LN, Semenova YaA, Bazarova LB, et al. Dietary intake analysis of Russian children 3–19 years old. *Problems of Nutrition*. 2017; 86(4): 50-60. (In Russ.)]. doi: 10.24411/0042-8833-2017-00059
10. Сорвачева Т.Н., Мартинчик А.Н., Пырьева Е.А. *Комплексная оценка фактического питания и пищевого статуса детей и подростков*. М.; 2014. [Sorvacheva TN, Martinchik AN, Pyryeva EA. *Comprehensive assessment of actual nutrition and nutritional status of children and adolescents*. Moscow; 2014. (In Russ.)].
11. Погодина А.В., Астахова Т.А., Кузьмин М.Ю., Лебедева Л.Н., Рычкова Л.В. Факторы, ассоциированные с риском нарушений пищевого поведения у подростков. *Профилактическая медицина*. 2024; 27(6): 60-67. [Pogodina AV, Astakhova TA, Kuzmin MYu, Lebedeva LN, Rychkova LV. Factors associated with eating disorders risk in adolescents. *Russian Journal of Preventive Medicine*. 2024; 27(6): 60-67. (In Russ.)]. doi: 10.17116/profmed20242706160
12. World Health Organization. *Increasing fruit and vegetable consumption to reduce the risk of noncommunicable diseases*. Geneva: WHO; 2019. URL: [https://www.who.int/elena/titles/fruit\\_vegetables\\_ncds/en](https://www.who.int/elena/titles/fruit_vegetables_ncds/en) [date of access: 05.04.24].
13. Kovács E, Siani A, Konstabel K, Hadjigeorgiou C, de Bourdeaudhuij I, Eiben G, et al.; IDEFICS consortium. Adherence to the obesity-related lifestyle intervention targets in the IDEFICS study. *Int J Obes (Lond)*. 2014; 38(Suppl 2): 144-151. doi: 10.1038/ijo.2014.145
14. Толебаева А.А., Полупанов А.Г., Сабиров И.С., Маматов А.У., Джигамбаев Э.Д. Сравнительный анализ частоты и структуры нерационального питания среди детей и подростков, проживающих в городской и сельской местности Киргизской Республики. *Профилактическая медицина*. 2021; 24(3): 37-43. [Tolebaeva AA, Polupanov AG, Sabirov IS, Mamatov AU, Dzhishambaev ED. Comparative analysis of the frequency and structure of malnutrition among children and adolescents living in urban and rural areas of the Kyrgyz Republic. *Russian Journal of Preventive Medicine*. 2021; 24(3): 37-43. (In Russ.)]. doi: 10.17116/profmed20212403137
15. Тармаева И.Ю., Пырьева Е.А., Гмошинская М.В., Богданова О.Г., Ткачук Е.А., Нетунаева Е.А., и др. Особенности питания детей школьного возраста в Сибирском федеральном округе. *Медицинский совет*. 2021; 17: 264-271. [Tarmaeva IY, Pyrieva EA, Gmshinskaya MV, Bogdanova OG, Tkachuk EA, Netunaeva EA, et al. Nutritional features of school children in the Siberian federal district. *Medical Council*. 2021; 17: 264-271. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2021-17-264-271

16. Qian J, Wu Y, Liu F, Zhu Y, Jin H, Zhang H, et al. An update on the prevalence of eating disorders in the general population: A systematic review and meta-analysis. *Eat Weight Disord.* 2022; 27(2): 415-428. doi: 10.1007/s40519-021-01162-z
17. Stea TH, Torstveit MK. Association of lifestyle habits and academic achievement in Norwegian adolescents: A cross-sectional study. *BMC Public Health.* 2014; 14: 829. doi: 10.1186/1471-2458-14-829
18. Zahedi H, Djalalinia S, Sadeghi O, Zare Garizi F, Asayesh H, Payab M, et al. Breakfast consumption and mental health: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Nutr Neurosci.* 2022; 25(6): 1250-1264. doi: 10.1080/1028415X.2020.1853411

#### Сведения об авторах

**Астахова Татьяна Александровна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tatjana\_astahova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1427-4734>

**Погодина Анна Валерьевна** – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: pogodina\_av@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8533-3119>

**Лебедева Людмила Николаевна** – лаборант-исследователь лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: leb\_46@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7289-6024>

**Рычкова Любовь Владимировна** – доктор медицинских наук, 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

**Tatjana A. Astakhova** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tatjana\_astahova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1427-4734>

**Anna V. Pogodina** – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer, Head of the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: pogodina\_av@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8533-3119>

**Ljudmila N. Lebedeva** – Laboratory Researcher at the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: leb\_46@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7289-6024>

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

## СУБЪЕКТИВНОЕ КАЧЕСТВО СНА ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С НЕРЕГУЛЯРНЫМ МЕНСТРУАЛЬНЫМ ЦИКЛОМ

Большакова С.Е.,  
Мадаева И.М.,  
Бердина О.Н.,  
Храмова Е.Е.,  
Бугун О.В.,  
Рычкова Л.В.

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

Автор, ответственный за переписку:  
Большакова Светлана Евгеньевна,  
e-mail: sebol@bk.ru

### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Нарушения менструального цикла продолжают занимать лидирующие позиции в структуре гинекологических заболеваний у детей. Предполагается связь нарушений репродуктивной системы девочек-подростков со сном, но на сегодняшний день этот вопрос остаётся малоизученным.

**Цель исследования.** Провести оценку субъективного качества сна девочек-подростков с нерегулярным и регулярным менструальным циклом.

**Материалы и методы.** Опрошена 461 девочка-подросток (15–17 лет) в период с января 2023 г по май 2024 г. Сформированы две группы: 1-я группа – девочки-подростки с нерегулярным менструальным циклом ( $n = 121$ ); 2-я группа – девочки-подростки без нарушений менструального цикла ( $n = 340$ ).

**Результаты.** Девочки-подростки с нерегулярным менструальным циклом чаще и на протяжении более длительного времени имели расстройства сна, более позднее время отхождения ко сну, увеличение латентности сна, более позднее пробуждение, а также плохое качество сна и признаки дневной сонливости. Средняя продолжительность сна в будние дни вне зависимости от характера менструального цикла была ниже нормативных значений для данного возраста, что свидетельствует о дефиците сна у девочек-подростков.

**Заключение.** Несоблюдение гигиены сна девочками-подростками, некачественный и непродолжительный сон вызывают нарушение циркадного ритма, регулирующего менструальный цикл. Увеличение продолжительности и улучшение качества сна являются важной составляющей формирования и сохранения репродуктивного здоровья девочек-подростков. Необходимо проведение дальнейших исследований в данной области с целью лучшего понимания сложных взаимосвязей между циркадным ритмом сон-бодрствование и репродуктивной системой у девочек в подростковом периоде. Это будет способствовать ранней диагностике и профилактике как проблем с менструальной дисфункцией, так и проблем со сном у девочек-подростков.

**Ключевые слова:** девочки-подростки, расстройства сна, нарушения менструального цикла, репродуктивное здоровье

Статья поступила: 26.06.2024  
Статья принята: 11.09.2024  
Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Большакова С.Е., Мадаева И.М., Бердина О.Н., Храмова Е.Е., Бугун О.В., Рычкова Л.В. Субъективное качество сна девочек-подростков с нерегулярным менструальным циклом. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 230-239. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.25

## SUBJECTIVE SLEEP QUALITY IN ADOLESCENT GIRLS WITH MENSTRUAL DISORDERS

## ABSTRACT

**Bolshakova S.E.,  
Madaeva I.M.,  
Berdina O.N.,  
Khramova E.E.,  
Bugun O.V.,  
Rychkova L.V.**

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

Corresponding author:  
**Svetlana E. Bolshakova,**  
e-mail: sebol@bk.ru

**Background.** Menstrual irregularities occupy a leading place among gynecological diseases in girls. It is assumed that there is a connection between reproductive system disorders and sleep in adolescent girls, but to date this issue remains poorly understood.

**The aim.** To study the subjective sleep quality of adolescent girls with irregular and regular menstrual cycles.

**Materials and methods.** A survey of 461 teenage girls living in the city of Irkutsk and the Irkutsk region was conducted in the period from January 2023 to May 2024. Two groups were formed: group 1 – teenage girls with an irregular menstrual cycle ( $n = 121$ ), group 2 – teenage girls without menstrual disorders ( $n = 340$ ).

**Results.** Adolescent girls with irregular menstrual cycles had sleep disturbances more often and longer, falling asleep later and taking longer, waking up later, poor sleep and daytime sleepiness. The average duration of sleep on weekdays, regardless of the nature of the menstrual cycle, was below the normal values for this age, which indicates a sleep deficit in adolescent girls.

**Conclusions.** Poor sleep hygiene in adolescent girls, poor quality and short sleep cause disruption of the circadian rhythm that regulates the menstrual cycle. Increasing the duration and improving the quality of sleep are an important component of the formation and maintenance of reproductive health in adolescent girls. Further research is needed to better understand the complex relationships between circadian sleep-wake rhythms and the reproductive system in adolescent girls.

**Key words:** teenage girls, sleep disorders, menstrual disorders, reproductive health

Received: 26.06.2024  
Accepted: 11.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Bolshakova S.E., Madaeva I.M., Berdina O.N., Khramova E.E., Bugun O.V., Rychkova L.V. Subjective sleep quality in adolescent girls with menstrual disorders. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 230-239. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.25

## ОБОСНОВАНИЕ

Сохранение здоровья девочек-подростков на сегодняшний день является одной из главных задач современного здравоохранения. Женская репродуктивная система в подростковом периоде обладает повышенной чувствительностью к различным повреждающим факторам, приводящим к расстройствам менструального цикла (МЦ). Это в свою очередь оказывает выраженное негативное влияние на качество жизни девочек [1]. Проблема различных расстройств МЦ, которые заключаются в виде изменения регулярности или интенсивности менструаций, в настоящее время весьма актуальна для девочек в подростковом периоде [2]. Показатель распространённости нарушений МЦ среди гинекологических заболеваний у девочек достигает 65 % [3, 4].

Известно, что на характер МЦ оказывают влияние многочисленные факторы, включая образ жизни. В последнее время активно обсуждается роль сна в течении МЦ, а значит и репродуктивного здоровья подростков [5]. Установлено, что женщины во всех возрастных периодах чаще страдают нарушениями сна по сравнению с мужчинами, что позволяет предположить наличие тесной взаимосвязи женской репродуктивной системы и цикла сон-бодрствование, которые подчинены циркадным ритмам [6, 7]. Сон и МЦ имеют сложные механизмы взаимосвязи посредством эндокринной и центральной нервной системы. Изменение регуляторного влияния системы «гипоталамус – гипофиз – яичники» может выступать в качестве возможной причины возникновения проблем с МЦ и нарушений сна [8].

Период полового созревания является одним из наиболее напряжённых периодов жизни, что обусловлено активно протекающими в этот промежуток времени процессами созревания половой системы и становления репродуктивного потенциала [9]. Одновременно с этим появляются особенности организации циркадного ритма сон-бодрствование в виде сдвига времени сна на более позднее время с увеличением времени засыпания и большей активностью в ночное время суток [10]. Предполагается наличие тесной взаимосвязи между особенностями сна и течением МЦ у девочек-подростков [11]. Однако исследований, посвящённых изучению этих двух сложных параллельно протекающих процессов в организме девочек-подростков, крайне мало. Вместе с тем важно своевременно выявлять и устранять нарушения сна и МЦ, тем самым способствуя сохранению женского репродуктивного потенциала.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка субъективного качества сна девочек-подростков с нерегулярным и регулярным менструальным циклом.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами была опрошена 461 девочка-подросток (15–17 лет) в период с января 2023 г. по май 2024 г. По результатам обследования сформированы две группы: 1-я группа – девочки-подростки с нерегулярным МЦ ( $n = 121$ ); 2-я группа – девочки-подростки без нарушений МЦ ( $n = 340$ ).

Критерии включения в исследование: возраст от 15 до 17 лет; длительность от начала менархе до проведения исследования – не менее 1 года; согласие на участие в исследовании.

Девочки были отнесены в группу с нерегулярным МЦ в тех случаях, когда отмечалось отсутствие менструаций в течение 6 месяцев при ранее нерегулярном МЦ, отсутствие менструаций в течение 3 месяцев при ранее регулярном МЦ, когда длительность МЦ составляла менее 24 и/или более 35 дней или частота менструаций была менее 9 в год. В остальных случаях девочек относили в группу с регулярным МЦ.

Критерии исключения из исследования: возраст младше 15 лет и старше 17 лет; наличие хромосомной патологии, тяжёлой соматической и/или нервно-психической патологии; отказ от участия в исследовании.

Всем девочкам-подросткам, включённым в исследование, были проведены необходимые гормональные исследования с целью диагностики ассоциированной эндокринной патологии, которая могла стать самостоятельной патогенетической причиной нарушений ночного сна, и к моменту исследования они были компенсированы.

Оценка качества сна изучалась путём анкетирования с использованием переводной версии анкеты ASHS (Adolescent Sleep Hygiene Scale) [12], состоящей из 63 вопросов, на которые можно было дать один или несколько ответов. Испытуемые заполняли анкету в спокойной обстановке, в домашних условиях, в удобное для себя время, без ограничения по времени. В ходе опроса девочки проводили субъективную самооценку своего сна и бодрствования в выходные и будние дни за предшествующие 14 дней.

Исследование было проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., ред. 2013 г.) и одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 2 от 08.06.2022). Всеми девочками было подписано информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью электронных таблиц MS Excel (Microsoft Corp., США) и пакета прикладных программ Statistica, версия 6.1 (StatSoft Inc., США) (правообладатель лицензии – ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ). Тип распределения признака определяли с помощью критериев Шапиро – Уилка, Лиллиефорса и Колмогорова – Смирнова. Для количественных признаков рассчитывали медиану (Me) и 25-й и 75-й квартили. Статистически зна-

чимые различия между двумя не связанными между собой группами по количественным признакам определяли с помощью параметрического t-критерия Стьюдента в случае нормального распределения признака и непараметрического U-критерия Манна – Уитни при распределении признака, отличном от нормального. Определение различий между несвязанными группами по качественным признакам проводили с помощью критерия  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность и точного критерия Фишера при численности хотя бы в одной из групп менее 5. Все различия считали статистически значимыми при уровне статистической значимости  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Девочки с нерегулярным МЦ чаще предъявляли жалобы на нарушение сна, чем девочки без овариаальной дисфункции – 61 (50,41 %) и 128 (37,65 %) соответственно ( $\chi^2 = 5,50$ ;  $p = 0,019$ ). При этом у исследуемых из первой группы проблемы со сном имели большую продолжительность, о чём свидетельствует статистически значимое преобладание у них промежутка времени 1–5 лет, в то время как у опрошенных второй группы чаще жалобы имели краткосрочный характер (менее 1 месяца) (табл. 1).

Анализ сна в будние дни позволил выявить тенденцию к более позднему засыпанию девочек с нарушениями МЦ и статистически значимо более позднее пробуждение по показателю максимального времени у этой категории обследованных. При этом различий по времени сна в будние дни установлено не было. Однако следует отметить, что средняя продолжительность сна у всех девочек-подростков вне зависимости от характера МЦ была ниже нормативных значений для данного возраста. В выходные дни режим сна также не имел межгрупповых различий, а показатели длительности периода сна укладывались в рекомендованные возрастные значения (табл. 2).

Девочки с менструальной дисфункцией чаще предъявляли жалобы на трудности засыпания (77,69 %) по сравнению с лицами с нормальным МЦ (58,23 %) ( $p = 0,0002$ ). Стоит отметить, что данные жалобы у них чаще носили ежедневный характер (17,36 и 5,29 % в 1-й и 2-й группах соответственно;  $p = 0,0001$ ).

Латентность сна у подростков с нарушениями МЦ характеризовалась большей длительностью в будние дни. Так, в течение учебной недели этот показатель составил в среднем 25 (10,00; 60,00) мин в 1-й группе и 20 (10,00; 30,00) мин во 2-й группе ( $p = 0,05$ ). Минимальное время, необходимое, чтобы уснуть, в группах составило 10 (5,00; 20,00) и 10 (5,00; 15,00) мин соответственно ( $p = 0,049$ ); максимальное – 60 (30,00; 120,00) и 60 (30,00; 90,00) мин соответственно ( $p = 0,048$ ). В выходные дни девушкам с нерегулярным МЦ и без данных нарушений понадобилось сопоставимое количество времени, для того, чтобы заснуть. В 1-й группе в среднем требовалось 20 (10,00; 60,00) мин, минимум – 10 (5,00; 30,00) мин, максимум – 60 (30,00; 120,00) мин. Во 2-й группе показатели имели следующие значения: 20 (10,00; 30,00), 10 (5,00; 20,00) и 51 (20,00; 80,00) мин соответственно.

Показатель сдвига сна в первой группе исследования составил 120 (60,00; 200,00) мин и не имел статистически значимых отличий от аналогичного показателя во второй группе – 120 (60,00; 180,00) мин ( $p = 0,374$ ).

В тех случаях, когда девочки из 1-й и 2-й групп не могли заснуть, наиболее часто они продолжали лежать и пытаться заснуть (80,17 и 30,00 % соответственно;  $\chi^2 = 89,51$ ;  $p < 0,00001$ ), читали книги, пользовались гаджетами или смотрели телевизор (49,59 и 22,35 % соответственно;  $\chi^2 = 30,53$ ;  $p < 0,00001$ ), вставали и выпивали воду, чай или кофе (19,01 и 9,12 % соответственно;  $\chi^2 = 7,51$ ;  $p = 0,006$ ). При этом наиболее часто это наблюдалось среди подростков, имеющих нерегулярный МЦ.

При самооценке по 10-балльной шкале девушками затруднения физически и эмоционально расслабиться и ни о чём не думать (от «совсем не трудно» до «очень трудно»), если не можешь заснуть, напряжение в груп-

**ТАБЛИЦА 1**  
**ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ НАЛИЧИЯ ЖАЛОБ**  
**НА СНИЖЕНИЕ КАЧЕСТВА СНА**  
**У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ**

Длительность наличия жалоб	1-я группа (n = 121)	2-я группа (n = 340)	$\chi^2$	p
Менее 1 мес.	5 (8,20 %)	26 (20,31 %)	3,58	0,058*
1–6 мес.	19 (31,15 %)	44 (34,38 %)	0,08	0,783
6–12 мес.	8 (13,11 %)	27 (21,09 %)	1,25	0,263
1–5 лет	20 (32,79 %)	24 (18,75 %)	3,81	0,051*
Более 5 лет	9 (14,75 %)	7 (5,47 %)	3,48	0,062
Ухудшение проблем со сном	19 (31,15 %)	48 (37,5 %)	0,48	0,490

**Примечание.** \* – статистически значимые различия между группами при  $p \leq 0,05$ .

**TABLE 1**  
**DURATION OF COMPLAINTS OF DECREASED QUALITY**  
**OF SLEEP IN ADOLESCENT GIRLS**

**ТАБЛИЦА 2**  
**ВРЕМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОЧНОГО СНА**  
**ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ В ТЕЧЕНИЕ НЕДЕЛИ**

**TABLE 2**  
**TIME CHARACTERISTICS OF NIGHTTIME SLEEP**  
**IN ADOLESCENT GIRLS DURING THE WEEK**

	1-я группа (n = 121)	2-я группа (n = 340)	U	p
Время отхождения ко сну в течение учебной недели				
Обычное	23:00 (23:00; 00:00)	23:20 (22:30; 00:00)	20438,50	0,92
Самое раннее	22:00 (21:00; 22:30)	22:00 (21:00; 23:00)	19336,50	0,32
Самое позднее	01:30 (00:00; 03:00)	01:00 (00:00; 02:40)	18293,00	0,07
Время пробуждения в течение учебной недели				
Обычное	06:30 (06:00; 07:00)	06:30 (06:10; 07:00)	19567,50	0,42
Самое раннее	06:00 (05:45; 06:30)	06:00 (05:45; 06:30)	20201,00	0,77
Самое позднее	07:10 (07:00; 07:45)	07:00 (06:45; 07:30)	17409,00	0,01*
Продолжительность ночного сна в течение учебной недели, ч				
Среднее	7 (6,0–7,7)	7 (6,0–8,0)	20438,50	0,47
Минимальная	5 (4,0–6,0)	5 (4,0–6,0)	19336,50	0,37
Максимальная	8,5 (8,0–9,9)	8 (8,0–9,0)	18293,00	0,40
Время отхождения ко сну в выходные дни				
Обычное	00:00 (23:00; 01:00)	00:00 (23:00; 01:00)	20341,00	0,85
Самое раннее	22:30 (21:45; 23:00)	22:30 (22:00; 23:00)	19842,00	0,56
Самое позднее	02:00 (01:00; 04:00)	02:00 (00:55; 03:15)	19616,00	0,45
Время пробуждения в выходные дни				
Обычное	10:00 (09:00; 11:00)	10:00 (09:00; 11:00)	20342,50	0,86
Самое раннее	08:45 (07:30; 09:00)	08:30 (08:00; 09:10)	20429,50	0,91
Самое позднее	12:00 (11:00; 14:00)	12:00 (11:00; 13:00)	18872,50	0,18
Продолжительность ночного сна в выходные дни, ч				
Средняя	9 (8,0–10,0)	9 (8,0–10,0)	29027,50	0,39
Минимальная	8 (6,0–8,1)	8 (6,5–8,5)	27695,00	0,84
Максимальная	11 (10,0–12,0)	11 (10,0–12,0)	20251,50	0,30

**Примечания.** Время отхождения ко сну, время пробуждения представлены в виде 24-часового формата как Ме (25; 75); \* – статистически значимые различия между группами при  $p \leq 0,05$ .

пе с овариальной дисфункцией было более выраженным (4 (1,00; 6,00) балла для «трудно расслабиться» и 7 (4,00; 9,00) баллов для «трудно ни о чём не думать»), чем у лиц с нормальным МЦ (2 (1,00; 4,00) балла для «трудно расслабиться» и 5 (3,00; 8,00) баллов для «трудно ни о чём не думать») ( $p = 0,00001$  и  $p = 0,001$  соответственно).

Оценка качества ночного сна у опрошенных продемонстрировала статистически значимо большую частоту появления различных жалоб, позволяющих констатировать снижение качества ночного сна в группе подростков, страдающих нерегулярным МЦ. При этом важно отметить, что ряд отклонений чаще носили ежедневный характер (табл. 3).

В результате чувство неудовлетворённости ночным сном ожидаемо чаще отмечали девочки, страдающие менструальной дисфункцией, по сравнению с девушками с нормальным МЦ – 26,45 и 14,12 % соответственно ( $p = 0,003$ ). Они чаще испытывали чувство усталости, сонливости в течение дня (97,52 % против 88,82 % в 1-й и 2-й группах соответственно;  $p = 0,002$ ). Кроме того, среди девочек, имеющих проблемы с МЦ, признаки дневной сонливости чаще носили ежедневный характер (42,15 % против 29,12 %;  $p = 0,012$ ).

У большинства девочек обеих групп присутствовал дневной сон (у 77,68 % подростков с нерегулярным МЦ и у 71,47 % девочек с нормальным МЦ). При этом статистически значимых межгрупповых различий по потреб-

**ТАБЛИЦА 3**  
**ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ ЖАЛОБ,**  
**ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫХ ДЕВОЧКАМИ**

**TABLE 3**  
**CHARACTERISTICS OF THE MAIN COMPLAINTS MADE**  
**BY GIRLS**

	1-я группа (n = 121)	2-я группа (n = 340)	$\chi^2$	p
<b>Не спала всю ночь</b>				
1–2 раза	28 (23,14 %)	49 (14,41 %)	4,280	0,04*
3 и более раз	7 (5,76 %)	20 (5,88 %)	0,03	0,85
Каждую ночь	4 (3,31 %)	3 (0,88 %)	–	0,08
Всего	39 (32,23 %)	72 (21,17 %)	5,377	0,02*
<b>Просыпалась ночью</b>				
1–2 раза	36 (29,75 %)	99 (29,12 %)	0,00	0,98
3 и более раз	30 (24,79 %)	65 (19,12 %)	1,427	0,23
Каждую ночь	12 (9,92 %)	18 (5,29 %)	2,421	0,12
Всего	78 (64,46 %)	182 (53,53 %)	3,905	0,04*
<b>Просыпалась рано утром и не могла опять заснуть</b>				
1–2 раза	22 (18,18 %)	73 (21,47 %)	0,41	0,52
3 и более раз	23 (19,01 %)	40 (11,76 %)	3,378	0,06
Каждую ночь	8 (6,61 %)	5 (1,47 %)	6,833	0,01*
Всего	53 (43,80 %)	118 (34,71 %)	2,786	0,09
<b>Просыпалась от чувства нехватки воздуха, остановок дыхания</b>				
1–2 раза	14 (11,57 %)	17 (5,00 %)	5,139	0,02*
3 и более раз	6 (4,96 %)	8 (2,35 %)	1,268	0,26
Каждую ночь	3 (2,48 %)	2 (0,59 %)	–	0,12
Всего	23 (19,01 %)	27 (7,94 %)	10,188	0,001*
<b>Ночные кошмары</b>				
1–2 раза	23 (19,01 %)	59 (17,35 %)	0,07	0,79
3 и более раз	15 (12,40 %)	15 (4,41 %)	8,086	0,004*
Каждую ночь	1 (0,83 %)	3 (0,88 %)	–	0,72
Всего	39 (32,24 %)	77 (22,64 %)	3,859	0,04*
<b>Снохождение</b>				
1–2 раза	5 (4,13 %)	7 (2,06 %)	–	0,18
3 и более раз	1 (0,83 %)	3 (0,88 %)	–	0,72
Каждую ночь	0	3 (0,88 %)	–	–
Всего	6 (4,96 %)	13 (3,82 %)	0,07	0,78
<b>Храп</b>				
1–2 раза	7 (5,78 %)	18 (5,29 %)	0,00	0,98
3 и более раз	0	4 (1,18 %)	–	–
Каждую ночь	4 (3,31 %)	4 (1,18 %)	–	0,22
Всего	11 (9,09 %)	26 (7,65 %)	0,09	0,76

**Примечание.** \* – статистически значимые различия между группами при  $p \leq 0,05$ .

ности в дневном сне среди обследованных установлено не было ( $p = 0,228$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сон играет важную роль в формировании здоровья девочек-подростков, в том числе репродуктивного потенциала, оказывая в той или иной мере влияние на функционирование всех органов и систем [13]. Предполагается наличие взаимосвязи нарушения цикла сон-бодрствование с менструальной дисфункцией, поскольку как сон, так и МЦ являются важнейшими физиологическими процессами в женском организме, подчинёнными циркадным ритмам [7, 14]. Точный механизм связи между сном и расстройствами МЦ на сегодняшний день до конца не установлен. Вместе с тем известно, что нарушения сна вызывают снижение секреции гипофизом гонадотропин-рилизинг-гормона, что приводит к снижению выработки половых гормонов, в результате чего возможно возникновение нерегулярного МЦ [5, 15]. Регуляция выработки женских половых гормонов осуществляется посредством гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси, функционирование которой в свою очередь напрямую подчинено циркадным ритмам организма [16]. Исходя из этого можно предположить, что изменение регуляторного влияния системы «гипоталамус – гипофиз – яичники» при нарушениях сна может выступать в качестве возможной причины возникновения проблем с МЦ.

Проведённое нами исследование позволило выявить статистически значимо большую распространённость расстройств сна у девочек-подростков с нерегулярным МЦ как по сравнению с группой девочек с нормальным МЦ, так и по сравнению с показателями в популяции (7–40 % по данным различных источников) [17, 18]. Кроме этого, была установлена большая длительность присутствия нарушения цикла сон-бодрствование у девочек с овариальной дисфункцией. Это позволяет нам предположить, что неблагоприятный фактор формирования репродуктивных нарушений, в качестве которого рассматривается некачественный и непродолжительный сон, оказывал своё воздействие на протяжении длительного времени (до нескольких лет) и мог выступать в качестве одной из причин формирования изменений регуляторных механизмов женской половой системы, проявлением чего было наличие нерегулярного МЦ.

Требования современной школьной и социальной жизни, такие как раннее начало занятий в школе, большая нагрузка домашними заданиями, внеурочная деятельность и общественная активность, могут выступать в качестве причин сокращения продолжительности и снижения качества сна у подростков за счёт более позднего отхождения ко сну и раннего пробуждения [19]. При этом не следует забывать, что потребность во сне в данный период жизни человека не снижается [20]. Согласно рекомендациям Американской академии медицины сна, средние показатели длительности сна в подростковом периоде должны составлять 8–10 ч в сутки

[21]. Однако, по данным различных исследований, сокращение продолжительности сна в дни школьных занятий менее 8 ч имеют до 70 % подростков [4, 10, 19]. Мы также получили аналогичные показатели. Средняя продолжительность сна в будние дни вне зависимости от характера МЦ была ниже нормативных значений для данного возраста, что свидетельствует о дефиците сна у девочек-подростков, в то время как время сна в выходные дни соответствовало рекомендованным возрастным значениям. Таким образом, в нашем исследовании не было установлено связи продолжительности ночного сна как в будние, так и в выходные дни с наличием нерегулярного МЦ у девочек-подростков. Наши результаты согласуются с данными некоторых других проведённых ранее исследований. Так, Х. Liu и соавт. (2017) также не выявили связь продолжительности ночного сна с нарушением МЦ [8]. Вместе с тем в ряде работ сообщается о наличии такой связи. Так, в корейском исследовании длительность сна имела обратную связь с нерегулярностью МЦ. Обследованные с менструальной дисфункцией в среднем спали меньше, чем испытуемые с нормальным МЦ, а при увеличении времени сна было отмечено снижение частоты расстройств МЦ [11]. В одной из работ, где были обследованы молодые женщины, также было подтверждено, что нерегулярный МЦ тесно связан со снижением продолжительности и качества сна [22]. Таким образом, противоречивость полученных результатов определяет необходимость проведения исследований в данной области.

Определённую роль в формировании взаимосвязи между нарушениями сна и МЦ может играть гормон мелатонин [1]. Предполагается, что сбой ритма секреции мелатонина, вызванный снижением качества и продолжительности сна, связан с расстройством МЦ, регуляция которого осуществляется, в том числе, и данным гормоном [23]. Известно, что для подростков характерны особенности организации циркадного ритма сон-бодрствование, которые заключаются в задержке фазы сна, увеличении показателя латентности сна и более длительного бодрствования. Это происходит за счёт более позднего начала выработки гормона мелатонина [24]. В основе такой организации циркадных ритмов лежит сочетание внутренних биологических процессов в организме подростков и влияние окружающих факторов среды (поведенческие, психологические, социальные) [25]. В нашей работе данные особенности циркадного ритма сон-бодрствование были более выражены в группе девочек с нарушением МЦ. Таким образом, мы сделали вывод, что установленные нами тенденция к более позднему максимальному времени отхождения ко сну, увеличение латентности сна, более позднее пробуждение, а также плохое качество сна и признаки дневной сонливости девочек с нерегулярным МЦ по сравнению со здоровыми подростками могут свидетельствовать о патологическом изменении организации циркадного ритма выработки мелатонина и сбое регуляции репродуктивной системы.

Полученные нами данные согласуются с результатами, полученными в ходе других аналогичных работ. Мас-

штабное исследование проведено в Китае и включало 5800 девочек-подростков. Было установлено, что плохое качество сна и симптомы бессонницы имели положительную связь с нерегулярным МЦ. По мнению авторов, полученные данные подтверждают наличие взаимосвязи между нарушениями сна и работой женской половой системы подростков [8]. Кроме этого, наличие взаимосвязи расстройств МЦ с повышенным риском дневной сонливости у подростков было определено в работе Z.Y. Wang и соавт. (2019). При этом показатель дневной сонливости значительно повышался с увеличением частоты или тяжести изменений МЦ [9]. Сопоставимые результаты имела работа N. Jha и соавт. (2020) [26]. Количество исследований среди девочек-подростков ограничено, при этом их результаты во многом аналогичны выводам, полученным при обследовании молодых женщин. Так, метаанализ, объединивший 35 исследований, в которых изучалась связь между сном и нарушениями МЦ у женщин, показал, что обследованные с менструальной дисфункцией имели более длительные задержку сна и время бодрствования после начала сна, сниженную продолжительность сна, ранние утренние пробуждения, неудовлетворённость сном, испытывали трудности с бодрствованием в дневное время. При этом тяжесть нарушений МЦ имела положительную связь с указанными признаками нарушения сна [16].

Результаты проведённых ранее многочисленных исследований показали, что механизмы, лежащие в основе тесной взаимосвязи МЦ и цикла сон-бодрствование, сложны и многофакторны, при этом значительная роль отводится влиянию гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы [7, 8, 15]. Общеизвестно, что основу нарушений МЦ составляют гормональные сдвиги, такие как гипозстрогения, гиперандрогения, гиперпролактинемия, гипотиреоз и др. Учитывая наличие тесного взаимного влияния цикла сон-бодрствование и МЦ, возникающий гормональный дисбаланс одновременно с репродуктивными нарушениями способен инициировать и изменения сна. При этом возникающие расстройства сна в свою очередь, вероятно, вносят патогенетический вклад в поддержание и/или прогрессирование отклонений в гормональном фоне и нарушений МЦ у девочек-подростков. Кроме этого, важную роль в снижении качества сна играет неблагоприятное психоэмоциональное состояние девочек-подростков с овариальной дисфункцией, которое проявляется в виде повышенного уровня невротизации и тревожности, и также может прогрессировать по мере развития диссомний. В конечном итоге, с патогенетической точки зрения, мы можем говорить о формировании так называемого «порочного круга» со множеством причинно-следственных связей, не позволяющих однозначно судить о первоисточнике возникших патологических изменений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Репродуктивное здоровье девочек-подростков и его связь со сном на сегодняшний день остаются ма-

лоизученным направлением медицины. При этом нарушения МЦ продолжают занимать лидирующие позиции в структуре гинекологических заболеваний у детей. Результаты нашего исследования позволяют сделать вывод о том, что несоблюдение гигиены сна девочек-подростков, некачественный и непродолжительный сон могут приводить к нарушению циркадного ритма, который в свою очередь оказывает регуляторное влияние на МЦ. Одновременно с этим возможен и обратный процесс, когда менструальная дисфункция с характерными гормональными сдвигами в системе «гипоталамус – гипофиз – яичники» приводит к формированию расстройств цикла сон-бодрствование. В конечном итоге формируются патологические процессы, взаимно поддерживающие друг друга. Расстройства сна следует рассматривать как модифицируемый фактор при лечении овариальной дисфункции. Увеличение продолжительности и улучшение качества сна является важной составляющей формирования и сохранения репродуктивного здоровья девочек-подростков. Необходимо проведение дальнейших исследований в данной области с целью лучшего понимания сложных взаимосвязей между сном и репродуктивной системой у девочек в подростковом периоде. Это будет способствовать ранней диагностике и профилактике как проблем с менструальной дисфункцией, так и проблем со сном у девочек-подростков.

Ограничением проведённого нами исследования можно считать субъективность оценки сна девочек-подростков. Поэтому существует потребность дальнейшего изучения данной проблемы с использованием методов объективной оценки сна у девочек-подростков.

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Андреева В.О., Боташева Т.Л., Рымашевский А.Н., Латынин А.Н., Петров Ю.А., Заводнов О.П. Роль мелатонина и ингибина В в патогенезе олигоменореи у девочек-подростков. *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. 2020; 16(3): 56-63. [Andreeva VO, Botasheva TL, Rymashevskiy AN, Latinin AN, Petrov YuA, Zavodnov OP. The role of melatonin and inhibin B in the pathogenesis of oligomenorrhea in adolescent girls. *Pediatric and Adolescent Reproductive Health*. 2020; 16(3): 56-63. (In Russ.)]. doi: 10.33029/1816-2134-2020-16-3-56-63
2. Семенова Л.Г., Манчук В.Т. К вопросу о нарушениях менструального цикла у девочек-подростков: частота встречаемости, структура, особенности течения. *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 4(1): 61-62. [Semyonova LG, Manchouk VT. On disturbed menstrual cycle in girls-teenagers: Prevalence, structure, peculiarities of the course. *Siberian Medical Journal*. 2008; 4(1): 61-62. (In Russ.)].
3. Булганина О.В., Григорьева Е.Е. Основные факторы риска нарушений менструальной функции гипоталамического генеза у девочек-подростков. *Вестник РУДН. Серия: Медицина*. 2012; 5: 377-383. [Bulganina OV, Grigorieva EE. The main risk factors for dis-

orders of menstrual function of hypothalamic origin in adolescent girls. *RUDN Journal of Medicine*. 2012; 5: 377-383. (In Russ.).

4. Большакова С.Е., Мадаева И.М., Бердина О.Н., Храмова Е.Е., Бугун О.В., Рычкова Л.В. Особенности режима и качества сна девочек-подростков города Иркутска. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 186-193. [Bolshakova SE, Madaeva IM, Berdina ON, Khramova EE, Bugun OV, Rychkova LV. Prevalence of sleep disorders in teenage girls in Irkutsk (questionnaire data). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 186-193. (In Russ.).] doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.18

5. Lateef OM, Akintubosun MO. Sleep and reproductive health. *J Circadian Rhythms*. 2020; 18(1): 1-11. doi: 10.5334/jcr.190

6. Мадаева И.М., Семенова Н.В., Астафьев В.А., Дружинина Е.Б., Лябыгина А.В. Особенности сна у женщин в климактерическом периоде (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(3): 75-81. [Madaeva IM, Semenova NV, Astafyev VA, Druzhinina EB, Labygina AB. Sleep features in menopausal women (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(3): 75-81. (In Russ.).] doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.11

7. Baker FC, Lee KA. Menstrual cycle effects on sleep. *Sleep Med Clin*. 2022; 17(2): 283-294. doi: 10.1016/j.jsmc.2022.02.004

8. Liu X, Chen H, Liu ZZ, Fan F, Jia CX. Early menarche and menstrual problems are associated with sleep disturbance in a large sample of Chinese adolescent girls. *Sleep*. 2017; 40(9). doi: 10.1093/sleep/zsx107

9. Wang ZY, Liu ZZ, Jia CX, Liu X. Age at menarche, menstrual problems, and daytime sleepiness in Chinese adolescent girls. *Sleep*. 2019; 42(6): zsz061. doi: 10.1093/sleep/zsz061

10. Rychkova L, Madaeva I, Berdina O, Bolshakova S, Bugun O. Inadequate sleep habits are associated with obesity in high school children. *Archives of Disease in Childhood*. 2021; 106: 89. doi: 10.1136/archdischild-2021-europaediatrics.211

11. Nam GE, Han K, Lee G. Association between sleep duration and menstrual cycle irregularity in Korean female adolescents. *Sleep Med*. 2017; 35: 62-66. doi: 10.1016/j.sleep.2017.04.009

12. Berdina O, Madaeva I, Bolshakova S, Tsykunova M, Bugun O, Rychkova L. Applying a translated version of the Adolescent Sleep Habits Survey in Russian high school children with obesity. *International Journal of Biomedicine*. 2020; 10(1): 61-65. doi: 10.21103/Article10(1)\_OA10

13. Pengo MF, Won CH, Bourjeily G. Sleep in women across the life span. *Chest*. 2018; 154(1): 196-206. doi: 10.1016/j.chest.2018.04.005

14. Xing X, Xue P, Li SX, Zhou J, Tang X. Sleep disturbance is associated with an increased risk of menstrual problems in female Chinese university students. *Sleep Breath*. 2020; 24(4): 1719-1727. doi: 10.1007/s11325-020-02105-1

15. Chang WP, Chang YP. Meta-analysis comparing menstrual regularity and dysmenorrhea of women working rotating shifts and fixed day shifts. *J Womens Health (Larchmt)*. 2021; 30(5): 722-730. doi: 10.1089/jwh.2020.8517

16. Jeon B, Baek J. Menstrual disturbances and its association with sleep disturbances: A systematic review. *BMC Womens Health*. 2023; 23(1): 470. doi: 10.1186/s12905-023-02629-0

17. Dohnt H, Gradisar M, Short MA. Insomnia and its symptoms in adolescents: Comparing DSM-IV and ICD-10 diagnostic criteria. *J Clin Sleep Med*. 2012; 8(3): 295-299. doi: 10.5664/jcsm.1918

18. Hysing M, Pallesen S, Stormark KM, Lundervold AJ, Sivertsen B. Sleep patterns and insomnia among adolescents: A population-based study. *J Sleep Res*. 2013; 22(5): 549-556. doi: 10.1111/jsr.12055

19. Грицина О.П., Транковская Л.В., Лисецкая Е.А., Тарасенко Г.А. Особенности режима и качества сна современных школьников. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2019; 2(78): 13-16. [Gritsina OP, Trankovskaya LV, Lisetskaya EA, Tarasenko GA. Features of the mode and quality of sleep of modern children. *Health. Medical Ecology. Science*. 2019; 2(78): 13-16. (In Russ.).] doi: 10.5281/zenodo.3262052019

20. Carskadon MA. Sleep in adolescents: The perfect storm. *Pediatr Clin North Am*. 2011; 58(3): 637-647. doi: 10.1016/j.pcl.2011.03.003

21. Paruthi S, Brooks LJ, D'Ambrosio C, Hall WA, Kotagal S, Lloyd RM, et al. Consensus statement of the American Academy of sleep medicine on the recommended amount of sleep for healthy children: Methodology and discussion. *J Clin Sleep Med*. 2016; 12(11): 1549-1561. doi: 10.5664/jcsm.6288

22. Kennedy KER, Onyeonwu C, Nowakowski S, Hale L, Branas CC, Killgore WDS, et al. Menstrual regularity and bleeding is associated with sleep duration, sleep quality and fatigue in a community sample. *J Sleep Res*. 2022; 31(1): e13434. doi: 10.1111/jsr.13434

23. Семенова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Ген Clock, мелатонин и цикл «сон-бодрствование». *Генетика*. 2021; 57(3): 247-254. [Semenova NV, Madaeva IM, Kolesnikova LI. Clock gene, melatonin and the sleep-wake cycle. *Russian Journal of Genetics*. 2021; 57(3): 247-254. (In Russ.).] doi: 10.31857/S0016675821030127

24. Kansagra S. Sleep disorders in adolescents. *Pediatrics*. 2020; 145(2): 204-209. doi: 10.1542/peds.2019-20561

25. Hagenauer MH, Perryman JI, Lee TM, Carskadon MA. Adolescent changes in the homeostatic and circadian regulation of sleep. *Dev Neurosci*. 2009; 31(4): 276-284. doi: 10.1159/000216538

26. Jha N, Bhadoria AS, Bahurupi Y, Gawande K, Jain B, Chaturvedi J, et al. Psychosocial and stress-related risk factors for abnormal menstrual cycle pattern among adolescent girls: A case-control study. *J Educ Health Promot*. 2020; 9: 313. doi: 10.4103/jehp.jehp\_419\_20

#### Сведения об авторах

**Большакова Светлана Евгеньевна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sebol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3104-4212>

**Мадаева Ирина Михайловна** – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

**Бердина Ольга Николаевна** – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: goodnight\_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0930-6543>

**Храмова Елена Евгеньевна** – кандидат медицинских наук, главный внештатный специалист по детской и подростковой гинекологии Министерства здравоохранения Иркутской области, заведующая отделением подростковой гинекологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: aelita-82@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8042-6276>

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

**Рычкова Любовь Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0117-2563>

#### **Information about the authors**

**Svetlana E. Bolshakova** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sebol@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3104-4212>

**Irina M. Madaeva** – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

**Olga N. Berdina** – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: goodnight\_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0930-6543>

**Elena E. Khratova** – Cand. Sc. (Med.), Chief Freelance Specialist of the Ministry of Health of the Irkutsk Region in Pediatric and Adolescent Gynecology, Head of the Department of Adolescent Gynecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: aelita-82@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8042-6276>

**Olga V. Bugun** – Dr. Sc. (Med.), Deputy Director for Clinical Affairs, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2162-3683>

**Lyubov V. Rychkova** – Dr. Sc. (Med.), Professor, 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>

## ХИРУРГИЯ SURGERY

### КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЁННОЙ РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ, АЛЛОГЕННОЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ КОЖИ У ДЕТЕЙ

Шепетько Н.М.<sup>1</sup>,  
Потапнёв М.П.<sup>2</sup>,  
Дегтярёв Ю.Г.<sup>3</sup>,  
Зеленко И.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» (220024, г. Минск, ул. Кижеватова, 58, Республика Беларусь)

<sup>2</sup> ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (220053, г. Минск, Долгиновский тракт, 160, Республика Беларусь)

<sup>3</sup> Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения, УО «Белорусский государственный медицинский университет» (220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83, Республика Беларусь)

Автор, ответственный за переписку:  
**Наталья Михайловна Шепетько**,  
e-mail: shepetjko.natasha@mail.ru

Статья поступила: 10.03.2024

Статья принята: 08.10.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

#### РЕЗЮМЕ

При визуальном клиническом осмотре на начальных этапах лечения определить способ и сроки заживления ожоговой раны у детей достаточно сложно. При лечении термических ожогов у детей предпочтение отдаётся консервативным методам, хотя они не всегда приводят к оптимальному заживлению ожога. Использование PRP/ПОРФТ при лечении ожоговых ран может оказывать благоприятный эффект на сроки и качество заживления обожжённой кожи и в определённых случаях позволяет не прибегать к хирургическому вмешательству по восстановлению повреждённого кожного покрова, либо сократить объём и количество хирургических операций при дефиците донорских ресурсов. Нами представлены три клинических случая использования PRP/ПОРФТ аллогенной для лечения термических ожогов различной этиологии (пламенем, горячей жидкостью, контактный). Использование PRP/ПОРФТ именно аллогенного типа связано с тем, что у детей с ожоговой травмой есть ограничения и противопоказания к использованию PRP/ПОРФТ аутологичной. PRP/ПОРФТ аллогенная и её использование позволяет сократить сроки эпителизации ожоговых ран IIIАБ степени (2–3-я степень МКБ-10) и в ряде случаев не прибегать к хирургическому вмешательству по восстановлению повреждённого кожного покрова. Основными её преимуществами являются хорошая переносимость, относительная доступность, отсутствие противопоказаний и простота применения. Приведённые клинические примеры впервые демонстрируют хорошую эффективность PRP/ПОРФТ аллогенной в лечении термических ожогов различной этиологии у детей.

**Ключевые слова:** плазма, обогащённая растворимыми факторами тромбоцитов, термические ожоги, эпителизация раны, клинический случай

**Для цитирования:** Шепетько Н.М., Потапнёв М.П., Дегтярёв Ю.Г., Зеленко И.Н. Клинические примеры использования плазмы, обогащённой растворимыми факторами тромбоцитов, аллогенной для лечения термических ожогов кожи у детей. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 240–250. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.26

## CLINICAL EXAMPLES OF THE USE OF ALLOGENEIC PLATELET-RICH PLASMA FOR THE TREATMENT OF THERMAL SKIN BURNS IN CHILDREN

Shapetska N.M.<sup>1</sup>,  
Potapnev M.P.<sup>2</sup>,  
Degtyarev Yu.G.<sup>3</sup>,  
Zelianski I.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> City Clinical Emergency Hospital  
(Kizhevatova str. 58, Minsk 220024,  
Republic of Belarus)

<sup>2</sup> Republican Scientific and Practical  
Center of Transfusiology and Medical  
Biotechnologies (Dolginovsky tract 160,  
Minsk 220053, Republic of Belarus)

<sup>3</sup> Institute for Advanced Training  
and Retraining of Healthcare Personnel,  
Belorussian State Medical University  
(Dzerzhinsky ave. 83, Minsk 220116,  
Republic of Belarus)

### ABSTRACT

*It is quite difficult to determine both the method and timing of healing of a burn wound in children at the initial stages of treatment and during a visual clinical examination. In the treatment of thermal burns in children, preference is given to conservative methods, although they do not always lead to optimal healing of the burn. The use of PRP (platelet-rich plasma) in the treatment of burn wounds can have a beneficial effect on the timing and quality of healing of burned skin. Also, in certain cases, it allows to avoid surgical intervention in order to restore damaged skin or helps to reduce the volume and number of surgical operations when there is a shortage of donor resources. We present three clinical cases of using allogeneic PRP for the treatment of thermal burns of different etiologies (flame, hot liquid, contact). The use of PRP of the allogeneic type is due to the fact that children with burn injuries have limitations and contraindications to the use of autologous PRP. Allogeneic PRP and its use allow to reduce the time of epithelization of burn wounds of IIIAB degree (2–3 degrees according to ICD-10) and in some cases avoid surgical intervention to restore damaged skin. Its main advantages are good tolerability, relative availability, absence of contraindications and ease of use. Presented clinical examples for the first time clearly demonstrate the high effectiveness of allogeneic PRP in the treatment of thermal burns of different etiologies in children.*

**Key words:** platelet-rich plasma, burns, wound healing, case report

Corresponding author:  
**Natallia M. Shapetska,**  
e-mail: shepetjko.natasha@mail.ru

Received: 10.03.2024  
Accepted: 08.10.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Shapetska N.M., Potapnev M.P., Degtyarev Yu.G., Zelianski I.N. Clinical examples of the use of allogeneic platelet-rich plasma for the treatment of thermal skin burns in children. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 240-250. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.26

На лечение детских ожогов и их последствий затрачивается достаточно большой ресурс бюджета, лечение ожогов занимает длительный период времени, нередко требует последующих реконструктивных хирургических вмешательств [1]. На начальных этапах лечения определить способ и сроки заживления раны у детей с ожогами IIIАБ степени (2–3-я степень по МКБ-10) достаточно сложно. При лечении ожоговых ран у детей предпочтение отдаётся консервативным методам, хотя они не всегда приводят к оптимальному заживлению ожога. Показания к хирургическому лечению определяются при отсутствии заживления ожоговой раны в определённые сроки.

Анализ данных литературы и наш собственный опыт показывают, что стандартное местное лечение с использованием растворов антисептиков и мазевых повязок у пациентов с поверхностными ожогами способствует эпителизации ран в сроки 8–12 дней. Этот временной критерий был взят за основу в качестве срока эпителизации поверхностных ожогов, т. е. ожоговые раны I–II степени (1-я степень по МКБ-10) должны эпителизироваться полностью в этот срок. Однако у пациентов с ожогами III степени (2–3-я степень по МКБ-10) без чёткого ограничения поверхностного и глубокого ожогов консервативное лечение продолжается до 21 суток после получения ожога (3 недели) и направлено на максимальное заживление пограничных ожоговых ран IIIА степени и подготовку ожоговых ран IIIБ степени к хирургическому лечению – аутодермопластике. Отсутствие начала эпителизации ран на 21-е сутки взято за основу в качестве временной точки отсчёта к закрытию раневой поверхности путём пластики свободным кожным трансплантатом [2, 3].

Поиск новых безопасных и эффективных видов воздействия на ожоговую поверхность, позволяющих достичь оптимальных результатов лечения ожоговой травмы, за последние годы привёл к использованию плазмы, обогащённой растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ; platelet-rich plasma, PRP) [4]. В то время как PRP/ПОРФТ обычно является аутологичным продуктом, нами использована PRP/ПОРФТ аллогенная в связи с тем, что у детей с ожоговой травмой есть ограничения и противопоказания к использованию PRP/ПОРФТ аутологичной. К ним относят:

- наличие заболеваний в стадии обострения (ожоговая травма);
- уровень лейкоцитов крови в пределах  $4,0–9,0 \times 10^9/\text{л}$  (при детской ожоговой травме этот показатель меняется динамически в зависимости от течения ожоговой травмы);
- проблема с венозным доступом для взятия крови с последующим изготовлением PRP/ПОРФТ аутологичной;
- приём нестероидных противовоспалительных и других средств, влияющих на агрегацию тромбоцитов [5].

Известно, что использование PRP/ПОРФТ с или без применения аутодермопластики при лечении ожоговых ран может оказывать благоприятный эф-

фект на сроки и качество заживления обожжённой кожи [1, 4, 6]. PRP/ПОРФТ аллогенная может рассматриваться как альтернатива закрытия остаточных ожоговых ран, заменив кожный трансплантат, особенно при дефиците донорских ресурсов. Применение PRP/ПОРФТ обосновывается наличием в её составе растворимых факторов, которые оказывают обезболивающее (за счёт трофического действия на нервные волокна), противовоспалительное (за счёт стимуляции образования M2-макрофагов и выделения противовоспалительных цитокинов), ранозаживляющее (стимуляция пролиферации мезенхимальных стволовых клеток, кожных фибробластов и кератиноцитов), ангиогенное (стимуляция пролиферации и миграции эндотелиальных клеток и перицитов), хондрогенное (стимуляция роста хондроцитов), остеогенное (стимуляция пролиферации и дифференцировки остеогенно-дифференцируемых клеток), ремодулирующее (нормализация трофики тканей, синтеза коллагена), антибактериальное (вместе с белками плазмы крови) действие [7–11].

Применение PRP/ПОРФТ аллогенной для лечения термических ожогов у детей рассмотрено и одобрено на заседании Этического комитета УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Минска (Протокол № 1–11/922 от 01.02.2024 г.) с обязательным обеспечением конфиденциальности и подписанным письменным согласием законного представителя пациента на переливание крови и применение компонентов крови в течение всего периода оказания медицинской помощи в УЗ ГК БСМП (Приложение к постановлению Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 82 от 13.05.2023 г.). Для терапии использовали совместимую с пациентом по АВ0-принадлежности PRP/ПОРФТ аллогенную производства ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» Министерства здравоохранения Республики Беларусь, промышленно выпускаемую как изделие медицинского назначения, получаемое из периферической крови здоровых доноров крови. PRP/ПОРФТ аллогенная приготовлена из сырья, прошедшего контроль и получившего отрицательный результат на наличие маркеров вирусов гепатита В, С и ВИЧ.

## КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР 1

Мальчик С., 15 лет, получил термический ожог в результате воспламенения одежды, пропитанной бензином. В течение часа после получения травмы доставлен в УЗ «Узденская центральная районная больница», где находился в отделении реанимации в течение 3 часов. Затем переведён в УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Минска (УЗ ГК БСМП) в отделение реанимации и интенсивной терапии для ожоговых больных. Диагноз: Термический ожог пламенем головы, шеи, туловища, верхних и нижних конечностей, промежности S = 66 % (41 %)/I–II–IIIА–IIIБ–IV степени (1–2–3-я степень по МКБ-10). Термоингаляционная травма. Ожоговая болезнь.

На рисунке 1 (фотофиксация при поступлении пациента в УЗ ГК БСМП) изображён пациент с ожоговыми ранами в области головы, шеи, туловища, верхних и нижних конечностей, промежности. На площади 15 % – формирующийся плотный некротический струп грязно-серого цвета, также имелись ожоговые раны на площади 18 % с бледным сосочковым слоем и отсутствием капиллярного пульса. Общая площадь ожоговых ран – 66 % поверхности тела.

В связи с наличием циркулярно-расположенных ожогов, признаков ангионевротических ишемических нарушений, нарастающего отёка правой верхней конечности в первые сутки после получения травмы выполнена декомпрессионная некрофасциотомия. На 5-е сутки от момента получения травмы выполнена некрэктомия с одномоментной аутодермопластикой расщеплёнными кожными трансплантатами в области переднебоковой поверхности туловища на площади 8 % поверхности тела. На рисунке 2 показаны этапы закрытия раневой поверхности. Последующее хирургическое лечение ожоговых ран заключалось в выполнении частых хирургических обработок ран, перевязок, этапных некрэктомий с последующим закрытием раневых поверхностей свободными расщепленными аутологичными кожными трансплантатами. Всего пациенту было выполнено 18 хирургических операций.

Через 2 месяца пациент был переведён из отделения реанимации в детское ожоговое отделение. Сохраняются мозаично расположенные кровоточащие гранулирующие раны IIIБ степени, общей площадью 2 %, по передней и задней поверхности туловища, подмышечных впадин, верхних конечностей в местах лизиса и на стыках кожных трансплантатов. На рисунке 3 (а, б) показано, что имеется выраженный дефицит донорских ресурсов для взятия кожных трансплантатов и последующей аутодермопластики, и следует отметить, что кожные трансплантаты были взяты повторно из одних и тех же мест с интервалом минимум 3 недели.

Одним из наиболее приемлемых вариантов для закрытия оставшихся 2 % ожоговых ран был предложен новый вариант лечения с использованием PRP/ПОРФТ

аллогенной. При наличии в области ожоговых ран гипергрануляций нами вводилась PRP/ПОРФТ инъекционно из 4 точек радиально в область каждой ожоговой раны до видимой имбибиции тканей, и затем вся раневая поверхность обрабатывалась PRP/ПОРФТ до полного покрытия раны.

Таким образом, с целью стимуляции эпителизации инъекционно из 4 точек радиально в область каждой ожоговой раны (суммарный объём парентерального введения – до 4 мл за одну перевязку) и путем наружного нанесения до полного покрытия ожоговых ран (4–6 мл) четырежды поэтапно с интервалом 2–3 суток между перевязками обработаны оставшиеся ожоговые раны. Общий объём использованной PRP/ПОРФТ в течение всего периода лечения – 32 мл. На рисунках 4 и 5 показаны результаты местного использования PRP/ПОРФТ аллогенной в динамике. Через 12 суток после начала лечения PRP/ПОРФТ наступила полная эпителизация ожоговой поверхности (рис. 4г, 5в). Через 3 месяца от момента получения травмы пациент выписан в удовлетворительном состоянии на диспансерное наблюдение хирурга, травматолога и педиатра поликлиники по месту жительства с разработкой индивидуального плана консервативной реабилитации.

## КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР 2

Девочка Л., 16 лет, получила ожог после того, как потеряла сознание во время приготовления еды и на неё упала горячая сковорода, которая в течение нескольких минут лежала у неё на руке. Через 2 часа после получения травмы доставлена бригадой скорой медицинской помощи в приёмное отделение УЗ ГК БСМП г. Минска, где была госпитализирована в детское ожоговое отделение. Диагноз при поступлении: Термический контактный ожог верхних конечностей S=3 %/I–II–IIIАБ степени (1–2–3-я степень по МКБ-10).

На 3-и сутки от момента получения ожоговой травмы в области левого предплечья с переходом на тыльную поверхность левой кисти на площади до 2 % сосочковый слой дермы бледный, с отсутствием капиллярно-



**РИС. 1.** Мальчик С., 15 лет, получил термический ожог плечом, 2-е сутки после травмы



**FIG. 1.** Patient S., a 15-years-old boy, received a thermal burn from a flame, day 2 after the injury



**а**



**б**



**в**



**г**

**РИС. 2.**

Этапы закрытия раневой поверхности у пациента С.: **а** – ожоговые раны IIIБ–IV степени с плотно-фиксированным некротическим струпом грязно-серого цвета, с участками тромбированных сосудов; **б** – произведено иссечение участков сформировавшегося некротического струпа на площади до 8% в пределах жизнеспособных тканей (подкожная жировая клетчатка, апоневроз мышц передней брюшной стенки); **в** – закрытие раневой поверхности кожными аутотрансплантатами, **г** – полное приживление трансплантатов после свободной пластики расщеплёнными перфорированными кожными трансплантатами (аутодермопластики ожоговых ран)

**FIG. 2.**

Stages of closure of burn wounds in Patient S.: **a** – IIIB–IV degree burn wounds with tightly fixed necrotic eschar of dirty gray color, with areas of thrombosed vessels; **b** – excision of areas of formed necrotic eschar over an area of up to 8% within viable tissues (subcutaneous fat, aponeurosis of the muscles of the anterior abdominal wall); **v** – closure of the wound surface with skin autografts, **g** – complete engraftment of transplants after free plastic surgery with split perforated skin grafts (autodermoplasty of burn wounds)



**РИС. 3.**

Вид донорских ран через 2 недели после повторного взятия аутотрансплантатов кожи у пациента С.



**FIG. 3.**

View of the donor wounds after two weeks of the repeated collection of skin autografts from Patient S.



**а**



**б**



**в**



**г**

**РИС. 4.**

**а** – лизис трансплантата кожи в области правой подмышечной впадины, вид ожоговой раны перед началом применения PRP/ПОРФТ аллогенной; **б** – результат в динамике, после 1-й обработки PRP/ПОРФТ; **в** – результат после трёх обработок PRP/ПОРФТ; **г** – результат через 12 дней от начала лечения PRP/ПОРФТ аллогенной (4 обработки)

**FIG. 4.**

**а** – lysis of the skin graft in the area of the right axilla, view of burn wound before starting the use of PRP allogeneic; **б** – the result in dynamics, after the first PRP treatment; **в** – the result after three PRP treatments; **г** – the result 12 days after the start of allogeneic PRP treatment (4 treatments)

**а****РИС. 5.**

**а** – частичный лизис трансплантатов кожи пациента С. по задней поверхности туловища, сохраняются мозаично расположенные кровоточащие гранулирующие раны; **б** – результат после двух обработок PRP/ПОРФТ показывает уменьшение размеров и количества ожоговых ран; **в** – результат через 12 дней от начала лечения PRP/ПОРФТ (после 4 обработок PRP/ПОРФТ)

**б****FIG. 5.**

**а** – partial lysis of Patient's S. skin grafts along the posterior surface of the body, mosaic bleeding granulating wounds remain; **б** – the result after two PRP treatments shows a decrease in the size and number of burn wounds; **в** – result 12 days after the start of PRP treatment (after 4 PRP treatments)

**в**

го пульса – раны III степени (2–3-я степень по МКБ-10) (рис. 6а). Пациентке проводились ежедневные перевязки с использованием растворов антисептиков и мазевых повязок.

На 6-е сутки от момента получения ожоговой травмы по тыльной поверхности левой кисти с переходом на лучезапястный сустав и предплечье ожоговые раны покрыты налётом фибрина с участками влажного некротического струпа (рис. 6б). На 13-и сутки от момента получения ожоговой травмы сохраняются раны общей площадью до 2 % поверхности тела с серозно-геморрагическим отделяемым, без чёткого отграничения поверхностного и глубокого ожогов и без явлений краевой эпителизации, дно ран представлено мозаично-расположенными участками грануляционной ткани с налётами фибрина. Раны путём наружного нанесения обработаны PRP/ПОРФТ аллогенной (2 мл) с последующим наложением асептической повязки «Д4-сетчатая» (ЧУП «Радмедтех», Республика Беларусь) с раствором хлоргексидина (рис. 6в). Раны путём наружного нанесения четырежды по 2 мл с интервалом 2 суток обрабатывались PRP/ПОРФТ аллогенной. На рисунке 6 (г, д) показаны результаты местного использования PRP/ПОРФТ аллогенной однократно в динамике на 15-е и 19-е сутки. Через 8 суток от начала применения PRP/ПОРФТ наступи-

ла эпителизация ожоговой поверхности (рис. 6е). Общий объём использованной PRP/ПОРФТ – 8 мл. На 21-е сутки от момента получения травмы пациентка выписана домой в удовлетворительном состоянии.

**КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР 3**

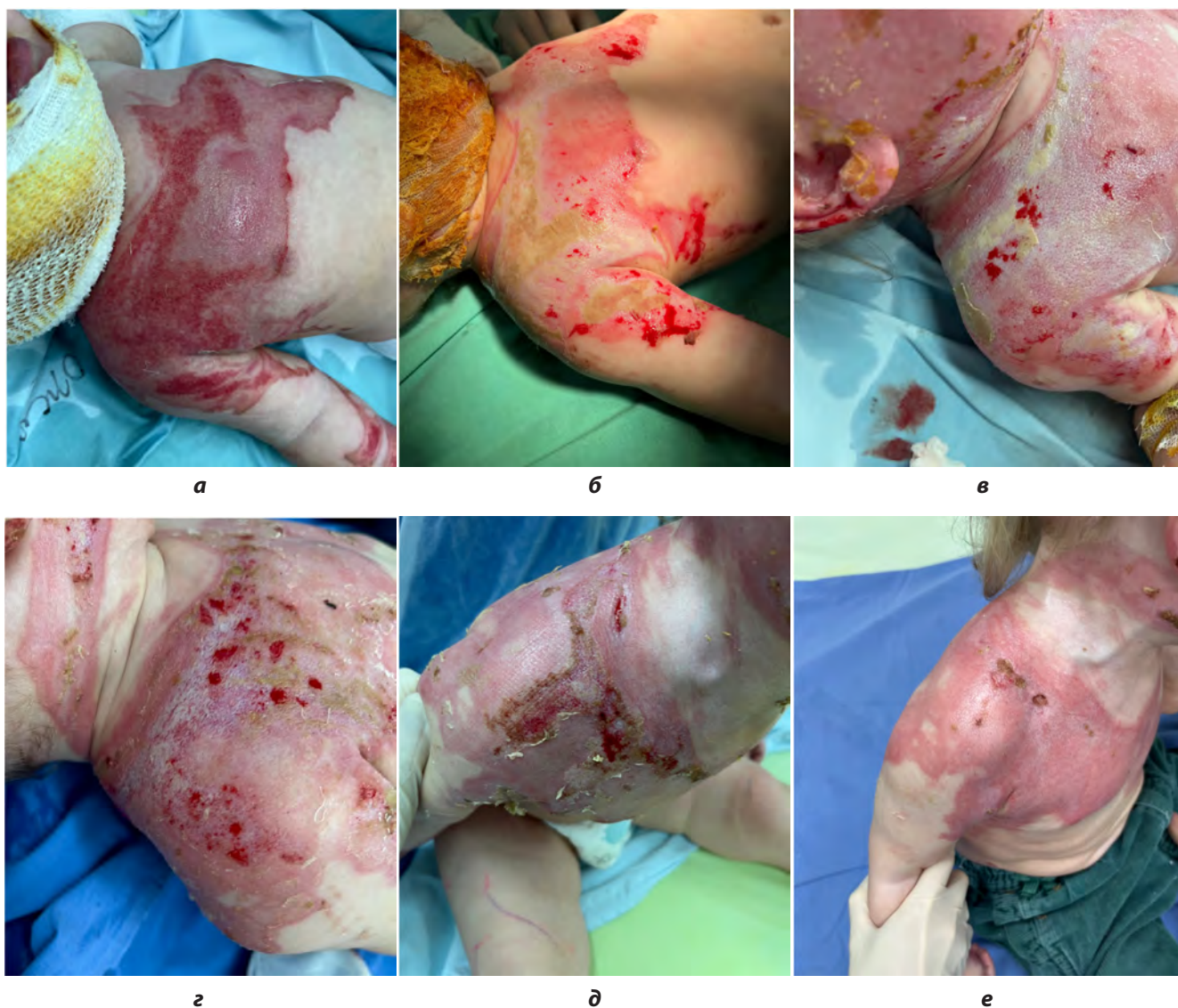
Девочка К., 1 год, получила ожог в результате того, что опрокинула на себя ёмкость с горячей жидкостью (чайник с кипятком). В течение часа была госпитализирована в отделение реанимации УЗ «Солигорская детская городская больница», где находилась 1 сутки, затем переведена в детское ожоговое отделение УЗ ГК БСМП г. Минска. Диагноз при поступлении: Термический ожог горячей жидкостью лица, головы, туловища, правой верхней конечности S=24 %/I–II–III степени (1–2–3-я степень по МКБ-10). Ожоговая болезнь.

На 3-и сутки от момента получения ожоговой травмы дно ран бледно-розовое, с налётами фибрина, к центру поражения в области правого предплечья, плеча, надплечья, передней и задней поверхности туловища на площади до 7 % поверхности тела сосочковый слой дермы бледный и багровый, с отсутствием капиллярного пульса – раны III степени (рис. 7а).



**РИС. 6.**  
 Девочка Л., 16 лет, получила термический контактный ожог о горячую сковороду: **а** – 3-е сутки после травмы; **б** – 6-е сутки от момента получения ожоговой травмы; **в** – 13-е сутки от момента получения травмы, фотофиксация ожоговой раны перед первым нанесением PRP/ПОРФТ аллогенной; **г** – 15-е сутки от момента получения травмы, перевязка выполнена через 2-е суток после первого нанесения PRP/ПОРФТ; **д** – 19-е сутки от момента получения травмы, результат 3 нанесений PRP/ПОРФТ аллогенной; **е** – 21-е сутки от момента получения травмы

**FIG. 6.**  
 Patient L., a 16-years-old girl, received a thermal contact burn from a hot frying pan: **a** – day 3 after the injury; **б** – day 6 from the moment of burn injury; **в** – day 13 from the moment of injury, photo of a burn wound before the first application of allogeneic PRP; **г** – day 15 from the moment of injury, the dressing was performed 2 days after the first application of PRP; **д** – day 19 from the moment of injury, the result of 3 applications of allogeneic PRP; **е** – day 21 from the moment of injury



**РИС. 7.**  
 Девочка К., 1 год, получила термический ожог горячей жидкостью: **а** – 3-и сутки после травмы; **б** – 6-е сутки от момента получения ожоговой травмы; **в** – 10-е сутки после травмы; **г** – 14-е сутки от момента получения травмы, фотофиксация ожоговой раны перед первым нанесением PRP/ПОРФТ аллогенной; **д** – 16-е сутки после травмы, перевязка выполнена через 2-е суток после первого нанесения PRP/ПОРФТ; **е** – 19-е сутки от момента получения травмы, результат 2 нанесений PRP/ПОРФТ аллогенной

**FIG. 7.**  
 Patient K., a 1-year-old girl, received a thermal burn with hot liquid: **a** – day 3 after the injury; **б** – day 6 from the moment of burn injury; **в** – day 10 after the injury; **г** – day 14 from the moment of injury, photofixation of a burn wound before the first application of allogeneic PRP; **д** – day 16 after the injury, the dressing was performed 2 days after the first application of PRP; **е** – day 19 from the moment of injury, the result of 2 applications of allogeneic PRP

На 6-е сутки от момента получения ожоговой травмы в области правого плеча, надплечья, передней и задней поверхности туловища на площади до 5 % поверхности тела ожоговые раны с участками формирования влажного некротического струпа, по периферии поражения дно ран бледно-розовое с налётами фибрина, капиллярный пульс резко ослаблен (рис. 7б). На 10-е сутки после травмы сохраняются ожоговые раны общей площадью до 5 % в области грудной клетки с переходом на правое надплечье и плечо с серозно-геморрагическим отделяемым, дно ран покрыто налётами фибрина с участками влажного некротического струпа (рис. 7в). 14-е сутки по-

сле травмы – ожоговые раны общей площадью до 4 % поверхности тела с серозно-геморрагическим отделяемым, дно ран представлено участками грануляционной ткани с налётами фибрина (рис. 7г). С целью стимуляции эпителизации раны путём наружного нанесения обработаны PRP/ПОРФТ аллогенной (4 мл) с последующим наложением асептической повязки «Д4-сетчатая» (ЧУП «Радмедтех», Республика Беларусь) и мазью «Меколь». Перевязка выполнена через 2-е суток после первого нанесения PRP/ПОРФТ, раны путём наружного нанесения повторно обработаны PRP/ПОРФТ аллогенной (2 мл) (рис. 7д). Эпителизация ожоговых ран наступи-

ла на 5-е сутки после начала применения PRP/ПОРФТ (рис. 7е). Общий объём использованной PRP/ПОРФТ – 6 мл. На 19-е сутки после получения травмы ребёнок выписан домой в удовлетворительном состоянии.

## ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведённые клинические примеры впервые показывают эффективность PRP/ПОРФТ аллогенной в лечении термических ожогов различной этиологии у детей. Известно, что использование PRP/ПОРФТ с или без применения аутодермопластики при лечении ожоговых ран может оказывать благоприятный эффект на сроки и качество заживления обожжённой кожи [1, 4, 6].

Характерными особенностями лечения пациентов с обширными и глубокими ожогами являются дефицит донорских ресурсов, необходимость выполнения нескольких аутодермопластик и неоднократное использование одних и тех же донорских мест после их заживления. При ожогах 3-й степени (МКБ-10) с площадью поражения от 15 % поверхности тела возникает дефицит донорских ресурсов аутокожи. А при глубоких ожогах свыше 20 % поверхности тела дефицит становится особенно ярко выраженным. В связи с этим неосложнённый процесс заживления ран донорских участков кожи, а также их своевременное заживление становятся особенно важными требованиями для реконвалесценции этой группы пациентов. Дефицит донорских ресурсов заставляет прибегать к повторному срезанию трансплантатов с одного и того же донорского места, что приводит к высокому риску нагноения и образования рубцов [12].

Применение PRP/ПОРФТ аллогенной позволяет сократить сроки эпителизации ожоговых ран IIIАБ степени (2–3-я степень МКБ-10) и в определённых случаях не прибегать к хирургическому вмешательству по восстановлению повреждённого кожного покрова, либо сократить объём и количество хирургических операций у пациентов с большой площадью ожоговых ран при дефиците донорских ресурсов. При ретроспективном анализе записей в историях болезней пяти пациентов, находившихся на лечении в детском ожоговом отделении УЗ ГК БСМП г. Минска (2020–2023 гг.) по поводу термического ожога пламенем со схожей площадью и глубиной поражения, у всех пяти пациентов отсутствовала эпителизация остаточных (от 1 до 4 %) мозаично расположенных гранулирующих ран в местах лизиса и на стыках кожных трансплантатов. После консервативного лечения в течение 2–3 недель и подготовки донорских участков для взятия аутодермопластик им была выполнена заключительная операция по закрытию оставшихся ожоговых ран – свободная пластика расщеплёнными перфорированными кожными трансплантатами.

Несмотря на то, что в представленных клинических случаях раны имели признаки глубокого ожога IIIБ степени (3-я степень по МКБ-10), применение PRP/ПОРФТ аллогенной в качестве дополнительного компонента консервативной терапии позволило достичь эпителизации ожоговых ран в срок до 3 недель, что соответству-

ет срокам заживления поверхностных ожоговых ран и при этом избежать хирургической операции в виде различных видов кожной пластики. Все пациенты при использовании данного изделия медицинского назначения не отмечали какой-либо дискомфорт. PRP/ПОРФТ аллогенная безопасна при использовании и не вызывает аллергические и иные нежелательные реакции.

## Благодарности

Авторы благодарят коллектив детского ожогового отделения УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Минска за помощь в сборе клинического материала и написании статьи.

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zheng W, Zhao DL, Zhao YQ, Li ZY. Effectiveness of platelet rich plasma in burn wound healing: A systemic review and meta-analysis. *J Dermatol Treat.* 2022; 33(1): 131-137. doi: 10.1080/09546634.2020.1729949
- Даминов Ф.А., Карабаев Х.К., Хурсанов Ё.Э. Принципы местного лечения ожоговых ран у тяжелообожжённых (обзор литературы). *Research Focus.* 2022; 1(3): 133-142. [Daminov F.A., Karabaev Kh.K., Khursanov E.E. Principles of local treatment of burn wounds in severely burned patients (literature review). *Research Focus.* 2022; 1(3): 133-142. (In Russ.)]. doi: 10.5281/zenodo.7431296
- Фисталь Э.Я., Самойленко Г.Е., Хачатрян С.Е., Фисталь Н.Н. Тактика лечения дермальных ожогов у детей. *Скорая медицинская помощь.* 2006; 7(3): 216-217. [Fistal EYa, Samoilenko GE, Khachatryan SE, Fistal NN. Tactics of treatment of dermal burns in children. *Emergency Medical Care.* 2006; 7(3): 216-217. (In Russ.)].
- Kao YC, Lin DZ, Lee SL, Chen C, Wang HJ, Chiu WK. Assisted therapy with platelet-rich plasma for burn patients: A meta-analysis and systemic review. *Burns.* 2021; 47: 1012-1023. doi: 10.1016/j.burns.2020.11.005
- Ясюкевич А.С., Загородный Г.М., Потапнев М.П., Гулевич Н.П., Пучко А.А. Показания, безопасность, результаты клинического использования аутологичной плазмы, обогащённой растворимыми факторами тромбоцитов, и дальнейшие перспективы её изучения. *Прикладная спортивная наука.* 2021; 1(13): 100-109. [Yasyukevich AS, Zagorodny GM, Potapnev MP, Gulevich NP, Puchko AA. Indications, safety, results of clinical use of autologous plasma enriched with soluble platelet factors and further prospects for its study. *Prikladnaya sportivnaya nauka.* 2021; 1(13): 100-109. (In Russ.)].
- Владимирова О.В., Григорова А.Н., Гобеджишвили В.В., Минаев С.В., Владимиров В.И., Бурковская О.Г. *Способ аутодермопластики расщеплённым кожным лоскутом для восстановления кожного покрова при ожогах:* Патент № 2753136 Рос. Федерация; СПК А61В 17/00 (2021.05); патентообладатель Владимирова О.Г. № 2020133968, заявл. 15.10.2020; опубл. 11.08.2021. 2021; (23). [Vladimirova OV, Grigorova AN, Gobedzhishvili VV, Minaev SV, Vladimirov VI, Burkovskaya OG.

*Method of autodermoplasty with a split skin flap for restoration of the skin in case of burns.* Patent No. 2753136 of the Russian Federation. 2021; (23). (In Russ.).

7. Drago L, Bortolin M, Vassena C, Romanò CL, Taschieri S, Del Fabbro M. Plasma components and platelet activation are essential for the antimicrobial properties of autologous platelet-rich plasma: An *in vitro* study. *PLoS One*. 2014; 9(9): e107813. doi: 10.1371/journal.pone.0107813

8. Cohn CS, Lockhart E, McCullough JJ. The use of autologous platelet-rich plasma in the orthopedic setting. *Transfusion*. 2015; 55(7): 1812-1820. doi: 10.1111/trf.13005

9. Knezevic NN, Candido KD, Desai R, Kaye AD. Is platelet-rich plasma a future therapy in pain management? *Med Clin North Am*. 2016; 100(1): 199-217. doi: 10.1016/j.mcna.2015.08.014

10. Piccin A, Di Piero AM, Canzian L, Primerano M, Corvetta D, Negri G, et al. Platelet gel: A new therapeutic tool with great potential. *Blood Transfus*. 2017; 15(4): 333-340. doi: 10.2450/2016.0038-16

11. Потапнев М.П., Кривенко С.И., Богдан В.Г., Космачева С.М., Шляга О.Л., Карпенко Ф.Н. Плазма крови, обогащённая растворимыми факторами тромбоцитов: получение, стандартизация, медицинское применение. *Здравоохранение (Минск)*. 2018; 10: 38-44. [Potapnev MP, Krivenko SI, Bogdan VG, Kosmacheva SM, Shlyaga OL, Karpenko FN. Platelet-rich derived plasma: Manufacture and medical application. *Zdravookhranenie (Minsk)*. 2018; 10: 38-44. (In Russ.)].

12. Dhaliwal K, Lopez N. Hydrogel dressings and their application in burn wound care. *Br J Community Nurs*. 2018; 23(9): S24-S27. doi: 10.12968/bjcn.2018.23.sup9.s24

#### Сведения об авторах

**Шепетько Наталья Михайловна** – детский хирург ожогового отделения (детского), УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи», e-mail: shepetjko.natasha@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-9784-3755>

**Потапнев Михаил Петрович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клеточных биотехнологий, ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», e-mail: mpotapnev@yandex.by, <https://orcid.org/0000-0002-6805-1782>

**Дегтярёв Юрий Григорьевич** – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой детской хирургии, Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения, УО «Белорусский государственный медицинский университет», e-mail: dzehtyarov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2696-4989>

**Зеленко Игорь Николаевич** – заведующий ожоговым отделением (детским), УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи», e-mail: doobsmp@tut.by, <https://orcid.org/0009-0007-6914-0748>

#### Information about the authors

**Natallia M. Shapetska** – Pediatric Surgery, City Clinical Emergency Hospital, e-mail: shepetjko.natasha@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-9784-3755>

**Michael P. Potapnev** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head the Department of Cellular Biotechnologies, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, e-mail: mpotapnev@yandex.by, <https://orcid.org/0000-0002-6805-1782>

**Yury G. Degtyarev** – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Pediatric Surgery, Institute for Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel, Belorussian State Medical University, e-mail: dzehtyarov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2696-4989>

**Ihar N. Zelianko** – Head of the Pediatric Burn Department, City Clinical Emergency Hospital, e-mail: doobsmp@tut.by, <https://orcid.org/0009-0007-6914-0748>

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

### ВЛИЯНИЕ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ СЕВЕРО-ЗАПАДА РОССИИ И ЭКЗОГЕННОГО МЕЛАТОНИНА НА ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС СИРИЙСКОГО ХОМЯКА (*MESOCRICETUS AURATUS*)

Антонова Е.П.<sup>1</sup>,  
Баишникова И.В.<sup>1</sup>,  
Кижина А.Г.<sup>1</sup>,  
Илюха В.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии,  
ФИЦ «Карельский научный центр РАН»  
(185910, г. Петрозаводск,  
ул. Пушкинская, 11, Россия)

<sup>2</sup> ФГБУН Институт биологии  
внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН  
(152742, Ярославская обл.,  
Некоузский р-н, п. Борок, 109, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Антонова Екатерина Петровна,  
e-mail: antonova88ep@mail.ru

#### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Среди факторов окружающей среды, влияющих на рост частоты возникновения психоэмоциональных состояний, большое значение придаётся световому режиму. Однако механизмы регуляции поведения млекопитающих в нестандартных световых условиях и роль гормона мелатонина в этом процессе до конца не исследованы.

**Цель исследования.** Оценить воздействие специфических световых условий Севера и мелатонина на поведение *Mesocricetus auratus*.

**Методы.** Животные были разделены на 4 группы: LD (контроль), NL (световые условия Севера), а также LD + mel и NL + mel (мелатонин, 100 мкг/животное). Исследование поведенческих реакций, уровня эмоционального и тревожно-фобического состояния животных проводили в установках «Открытое поле» и «Тёмная камера с отверстиями».

**Результаты.** Содержание *M. auratus* в NL оказало негативное влияние на их поведение – выявлено снижение двигательной активности (горизонтальной и вертикальной) и «норкового рефлекса» (обследования отверстий), увеличение количества реакций замирания и груминга и времени первого выглядывания из верхнего отверстия. Показано, что мелатонин способствовал увеличению ориентировочно-исследовательской активности и снижению количества актов тревожности в NL + mel по сравнению с NL; противоположное воздействие гормона на данные показатели наблюдалось в LD + mel.

**Заключение.** Полученные результаты указывают на важную роль фотопериода и мелатонина в регуляции поведения сезонно размножающихся видов.

**Ключевые слова:** млекопитающие, мелатонин, световой режим, открытое поле, поведение

Статья поступила: 17.04.2024

Статья принята: 26.09.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

**Для цитирования:** Антонова Е.П., Баишникова И.В., Кижина А.Г., Илюха В.А. Влияние фотопериодических условий Северо-Запада России и экзогенного мелатонина на психоэмоциональный статус сирийского хомяка (*Mesocricetus auratus*). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 251-260. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.27

## EFFECT OF NORTH-WESTERN PHOTOPERIOD AND EXOGENOUS MELATONIN ON THE PSYCHOEMOTIONAL STATE OF THE SYRIAN HAMSTERS (*MESOCRICETUS AURATUS*)

Antonova E.P.<sup>1</sup>,  
Baishnikova I.V.<sup>1</sup>,  
Kizhina A.G.<sup>1</sup>,  
Ilyukha V.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biology,  
Karelian Research Centre  
of the Russian Academy of Sciences  
(Pushkinskaya str. 11, Petrozavodsk 185910,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> Papanin Institute for Biology of Inland  
Waters, Russian Academy of Sciences  
(109, Borok 152742, Nekouzsky District,  
Yaroslavl Region, Russian Federation)

Corresponding author:  
Ekaterina P. Antonova,  
e-mail: antonova88ep@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** Among the environmental factors that influence the increase in the frequency of occurrence of psychoemotional states, great importance is attributed to the light conditions. However, the mechanisms of behaviour regulation in the mammals in non-standard light conditions and the role of melatonin in this process have not been fully studied.

**The aim of the study.** To assess the effects of specific northern light conditions and melatonin on the behavior of *Mesocricetus auratus*.

**Methods.** The animals were divided into 4 groups: LD (control), NL (northern light conditions), and LD + mel and NL + mel (melatonin, 100 µg/animal). The study of behavioral reactions, the level of emotional and phobic anxiety state of animals was carried out in the "Open field" and "Dark chamber with holes" installations.

**Results.** Keeping *M. auratus* in NL had a negative effect on their behavior – a decrease in motor activity (horizontal and vertical) and the "hole-exploratory behavior", an increase in the number of freezing and grooming reactions and the time of the first peeking out of the upper hole were revealed. It was shown that melatonin contributed to an increase in exploratory activity and a decrease in the number of anxiety acts in NL + mel group compared to NL group; the opposite effect of the hormone on these parameters was observed in LD + mel group.

**Conclusion.** The obtained results indicate the important role of photoperiod and melatonin in regulating the behavior of seasonally breeding species.

**Key words:** mammals, melatonin, light conditions, open field, behavior

Received: 17.04.2024  
Accepted: 26.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Antonova E.P., Baishnikova I.V., Kizhina A.G., Ilyukha V.A. Effect of north-western photoperiod and exogenous melatonin on the psychoemotional state of the Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 251-260. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.27

## ОБОСНОВАНИЕ

Одним из активно исследуемых гормонов эпифиза мозга является мелатонин, играющий существенную роль в реакции организма на трансформацию световых условий и, как результат, модулирующий метаболические и поведенческие процессы [1, 2]. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что этот гормон участвует в регуляции психоэмоциональных и психопатологических состояний у млекопитающих [3–6] посредством влияния на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему [4, 5]. В экспериментах на грызунах было показано, что экзогенный мелатонин, корректирующий сезонные и суточные ритмы, оказывает седативное действие [4, 6, 7]. Возможно, поэтому среди факторов окружающей среды, влияющих на рост частоты возникновения психоэмоциональных и психопатологических состояний, большое значение придаётся световому режиму [5, 8]. Показано, что нестандартные световые условия оказывают значительное воздействие на циркадные ритмы, провоцируя разбалансировку физиологических процессов в организме млекопитающих и развитие светового десинхроноза [9–11]. В частности, у человека световой десинхроноз может приводить к раздражительности, частой смене настроения и психоэмоциональным расстройствам (депрессивное, сезонное аффективное и биполярное) [4, 6, 12].

Известно, что млекопитающие на Севере подвергаются влиянию множества природных факторов. Среди них специфический (нестандартный) световой режим. Проблема светового десинхроноза очень актуальна для северных территорий, особенно для прибывающего из южных областей населения. Исследование, проведённое в Северной Европе, выявило рост заболеваемости сезонным аффективным расстройством в странах с более короткой продолжительностью световой фазы дня [8]. Существует предположение [5], что фотопериодические условия воздействуют на пинеальную железу, секретирующую мелатонин в кровь, тем самым вызывая сезонные изменения в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, что в свою очередь может являться патофизиологическим механизмом возникновения сезонного аффективного расстройства. Необходимо отметить, что изменение циркадных ритмов у грызунов также приводит к депрессивно-подобным симптомам и тревоге [4, 6, 13].

В последние годы большое внимание уделяется изучению влияния светового режима на поведенческие реакции. Доминирующее число экспериментов в этой области исследований осуществляется в световых условиях, отличающихся от природного фотопериода (круглосуточное освещение или световая депривация). Между тем информация об уровне эмоционального и тревожно-фобического состояния грызунов в световых условиях Севера встречается очень редко [14, 15].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования было изучение влияния фотопериодических условий Северо-Запада России (NL, northern light: снижение продолжительности световой фазы дня с 19:36 ч свет/4:24 ч темнота до 12 ч свет/12 ч темнота, характер-

ное для Республики Карелия (г. Петрозаводск) в период с 25.06.2018 до 25.09.2018) и экзогенного мелатонина (100 мкг/животное) на некоторые параметры поведения сирийского хомяка (*Mesocricetus auratus*). Выбор объекта исследования был обусловлен особенностями биологии этого вида. Эволюционное формирование *M. auratus* как вида происходило в световых условиях, значительно отличающихся от таковых на Севере, что делает возможным оценку воздействия «экстремального» фотопериода NL в модельных экспериментах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены с соблюдением международных принципов Директивы Евросоюза 2010/63/EU о гуманном отношении к животным и «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Опыты проводились на самках и самцах сирийского хомяка, полученных из питомника лабораторных животных ООО «КролИнфо» (Московская область, Россия). Все животные содержались в стандартных помещениях вивария ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» (г. Петрозаводск) площадью 25 м<sup>2</sup> в индивидуальных клетках размером 42 × 26 × 18,5 см при температуре 23 ± 1 °С и влажности в диапазоне от 45 до 55 %, в качестве подстилочного материала использовали древесную стружку. Хомяки получали стандартный готовый лабораторный корм (ГОСТ Р50258-92; ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», Россия) и фильтрованную водопроводную воду без ограничений. Животные (6,5 мес.) были разделены на две группы и помещены в условия стандартного регулярно чередующегося освещения 12 ч свет/12 ч темнота (контроль – LD) или освещения, характерного для Республики Карелия (г. Петрозаводск) – 19:36 ч свет/4:24 ч темнота (опыт – NL). После адаптации к световым режимам (14 сут.) экспериментальные группы были разделены на подгруппы (в каждой по 4 самца и 4 самки): хомяки 1-й подгруппы получали питьевую воду без мелатонина; хомяки 2-й подгруппы получали 5 раз в неделю с питьевой водой в ночное время мелатонин (100 мкг/животное) (LD + mel, NL + mel). При экспериментальном моделировании фотопериодических условий г. Петрозаводска проводилось ежедневное изменение светового режима. Исследование проводили с периода летнего солнцестояния 25 июня (NL, 19:36 ч свет/4:24 ч темнота) до периода осеннего равноденствия – 25 сентября (NL, 12 ч свет/12 ч темнота) (уменьшение световой фазы суточного цикла). К концу эксперимента световые режимы LD и NL полностью соответствовали друг другу как по продолжительности дня, так и по времени начала световой фазы (рис. 1). Условия содержания животных и схема эксперимента подробно описаны ранее [16].

Препарат мелатонин (Sigma-Aldrich, США), растворённый в этаноле, добавляли в питьевую воду в концентрации 10 мг/л, конечная концентрация этанола составляла < 0,01 % для всех экспериментальных групп. Свежие растворы готовились 2 раза в неделю: в вечернее



нее (t 1 верх) и боковое (t 1 бок) отверстия, а также общее количество таких реакций (N верх и N бок соответственно). Кроме того, учитывали латентный период первого «полувыхода» (t 1 полувыход) и выхода (t 1 выход) животного через боковое отверстие за тестовый период.

Полученные данные обработаны общепринятыми статистическими методами, используя пакеты программ MS Excel (Microsoft Corp., США) и Prism 7 (GraphPad Software, США), и представлены в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (25 %; 75 %). Из-за ограниченного количества образцов ( $n = 8$ ) использовали критерий Краскела – Уоллиса (Kruskal – Wallis H-test) с post-hoc тестом по Манна – Уитни, поправку FDR (false discovery rate). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Влияние световых режимов на исследуемые показатели

В результате попарного сравнения показателей самок и самцов не обнаружено статистически значимых различий, поэтому данные были объединены для последующего анализа. Содержание *M. auratus* в фотопериоде Карелии (NL) приводило к изменению показателей ориентировочно-исследовательской активности в установке «Открытое поле»: наблюдалось снижение ГДА (минимальные значения через 1 и 3 месяца эксперимента;  $N = 18,94, p < 0,001$  и  $N = 13,27, p < 0,01$  соответственно), ВДА (через 1 месяц;  $N = 17,23; p < 0,001$ ) и частоты обследования отверстий (через 1 месяц;  $N = 7,88; p < 0,05$ ) (рис. 2), а также увеличение реакций замирания и груминга (максимальные значения через 1 месяц;  $N = 16,90,$

$p < 0,001$  и  $N = 25,01, p < 0,001$  соответственно) по сравнению с контролем (LD) (табл. 1). Необходимо отметить, что у хомяков всех экспериментальных групп не зафиксировано наличия актов дефекаций и уринаций при тестировании.

В тестовой установке «Тёмная камера с отверстиями» показано, что у NL-хомяков через месяц эксперимента время первого выглядывания из верхнего отверстия и первого «полувыхода» из бокового отверстия было больше (максимальные значения;  $N = 9,18, p < 0,05$  и  $N = 11,26, p < 0,05$  соответственно), чем у LD-животных (табл. 2).

### Влияние экзогенного мелатонина на исследуемые показатели

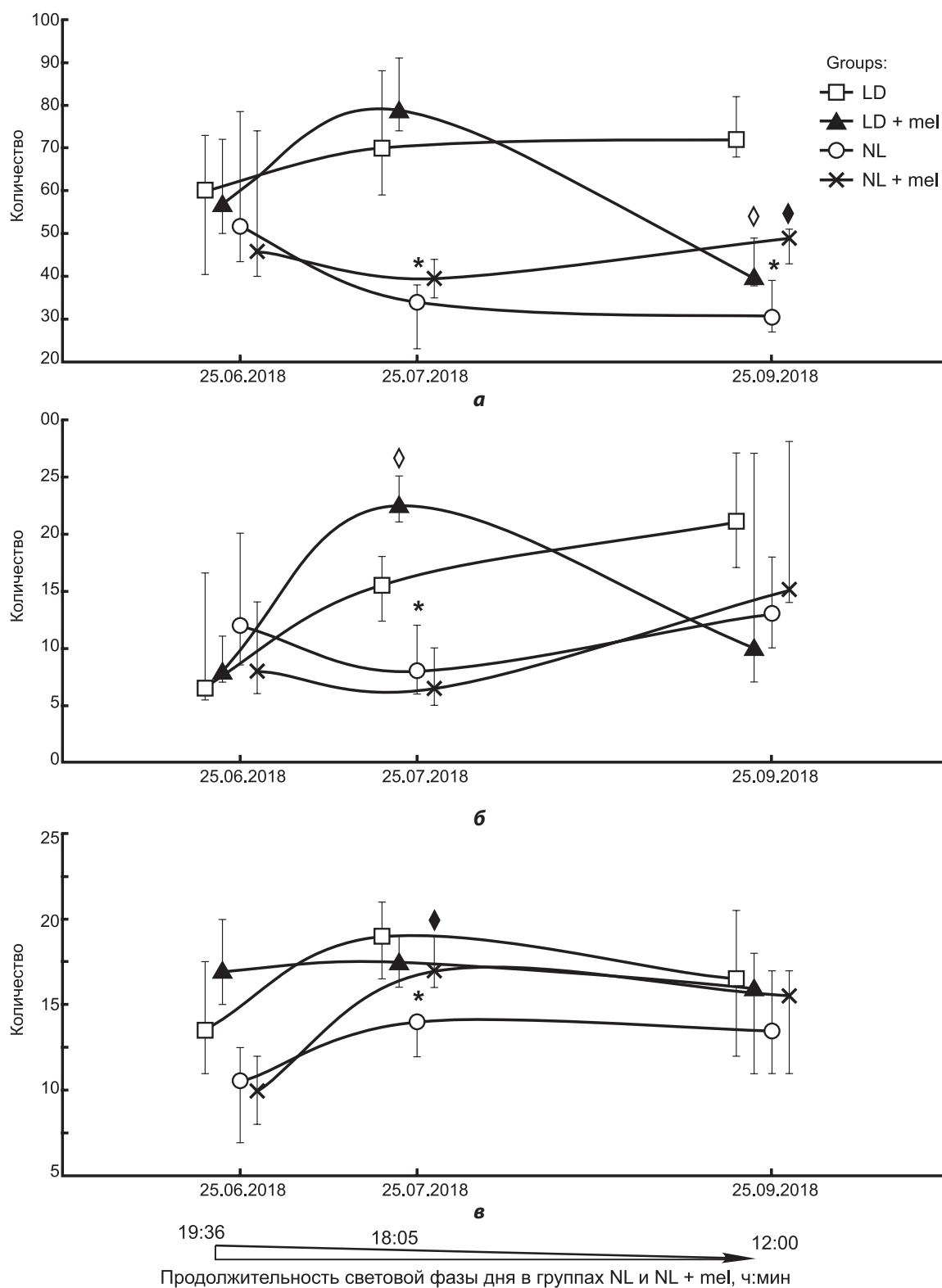
Применение мелатонина в световых условиях Севера вызвало увеличение ГДА (через 3 мес.) и количества обследований отверстий (через 1 мес. эксперимента) (рис. 2), снижение количества реакций замирания и груминга (через 1 мес.) (табл. 1), а также латентного периода первого заглядывания в верхнее отверстие (через 1 мес.) по сравнению с группой NL ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). У животных группы LD + mel обнаружено снижение ГДА (через 3 мес.), увеличение ВДА (максимальные значения через 1 мес., затем снижение до контрольных значений) ( $p < 0,05$ ) (рис. 2) и реакций груминга (максимальные значения через 3 мес.;  $N = 11,44; p < 0,001$ ) (табл. 1), а также сокращение времени латентного периода первого заглядывания в боковое отверстие (минимальные значения через 1 мес.;  $N = 7,87; p < 0,05$ ) (табл. 2) по сравнению с LD-животными. Также необходимо подчеркнуть, что только у животных группы LD + mel обнаружено статистически значимое возрастное снижение ГДА ( $N = 13,58; p < 0,01$ ) и ВДА ( $N = 7,74; p < 0,05$ ) к концу эксперимента (рис. 2).

ТАБЛИЦА 1  
МЕДИАНЫ ЗНАЧЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИРИЙСКИХ ХОМЯКОВ В ТЕСТЕ «ОТКРЫТОЕ ПОЛЕ»

TABLE 1  
MEDIANS VALUES OF INDICATORS OF THE SYRIAN HAMSTERS IN THE "OPEN FIELD" TEST

Возраст	Показатели	Экспериментальные группы			
		LD	LD + mel	NL	NL + mel
7 месяцев	Реакция замирания	0	0	0	0
	Реакция груминга	1 (1; 2)	1 (1; 1)	1,5 (1; 2)	2 (1; 2)
8 месяцев	Реакция замирания	0	1 (0,5; 1)	2 (1; 2)	1 (0,5; 1)
	Реакция груминга	1 (1; 1)	1 (1; 2)	4 (2; 4)	3 (2; 3)
10 месяцев	Реакция замирания	0	0	0	0
	Реакция груминга	1 (1; 1)	2 (2; 4) <sup>o</sup>	1,5 (1; 2)	1 (1; 2)

Примечание. \* – различия статистически значимы между животными групп LD- и NL одинакового возраста ( $p < 0,05$ ); <sup>o</sup> – различия статистически значимы между животными групп LD и LD + mel одинакового возраста ( $p < 0,05$ ).



**РИС. 2.**

Влияние световых режимов и мелатонина на горизонтальную двигательную активность (а), вертикальную двигательную активность (б) и количество обследований отверстий (в) в тесте «Открытое поле»: \* – различия статистически значимы между животными групп LD и NL одинакового возраста ( $p < 0,05$ ); ◇ – различия статистически значимы между животными групп LD и LD + mel одинакового возраста ( $p < 0,05$ ); ◆ – различия статистически значимы между животными групп NL и NL + mel одинакового возраста ( $p < 0,05$ )

**FIG. 2.**

Effect of light condition and melatonin on horizontal motor activity (a), vertical motor activity (б) and the number of explored holes (в) in the “Open field” test: \* – statistically significant differences between animals of LD and NL groups of the same age ( $p < 0.05$ ); ◇ – statistically significant differences between animals of LD and LD + mel groups of the same age ( $p < 0.05$ ); ◆ – statistically significant differences between animals of NL and NL + mel groups of the same age ( $p < 0.05$ )

**ТАБЛИЦА 2**  
**МЕДИАНЫ ЗНАЧЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИРИЙСКИХ**  
**ХОМЯКОВ В ТЕСТЕ «ТЁМНАЯ КАМЕРА С ОТВЕРСТИЯМИ»**

**TABLE 2**  
**MEDIAN VALUES OF INDICATORS OF THE SYRIAN**  
**HAMSTERS IN THE "DARK BOX WITH HOLES" TEST**

Параметры	Группы			
	LD	LD + mel	NL	NL + mel
<b>7 месяцев</b>				
t 1 верх, с	75,0 (49,0; 86,5)	34,0 (27,0; 67,0)	105,0 (29,0; 123,0)	30,5 (24,0; 59,0)
N верх	6,0 (3,5; 8,5)	7,5 (3,0; 9,5)	6,0 (3,0; 8,0)	4,0 (1,5; 6,0)
t 1 бок, с	16,0 (6,5; 33,5)	31,5 (5,5; 55,0)	32,0 (13,5; 41,0)	12,0 (6,5; 46,0)
N бок	9,5 (6,0; 13,5)	8,0 (5,5; 10,5)	8,5 (4,0; 10,0)	4,5 (3,0; 5,5)
t 1 полувыход, с	112,0 (73,0; 191,0)	104,0 (81,5; 161,5)	70,0 (70,0; 77,0)	95,0 (36,0; 169,5)
t 1 выход, с	167,0 (164,0; 170,0)	138,5 (125,0; 143,5)	162,5 (117,0; 183,0)	112,5 (84,0; 192,0)
<b>8 месяцев</b>				
t 1 верх, с	21,5 (18,0; 25,0)	25,5 (12,0; 96,0)	43,5 (31,0; 84,0)*	13,0 (12,0; 18,0)♦
N верх	6,0 (4,0; 7,0)	4,5 (3,0; 7,0)	5,5 (3,0; 6,0)	5,0 (4,0; 10,0)
t 1 бок, с	25,0 (18,0; 28,0)	7,0 (3,0; 8,0)°	23,5 (9,0; 43,0)	33,0 (16,0; 46,0)
N бок	6,5 (5,0; 9,0)	6,5 (4,0; 7,0)	8,0 (6,0; 9,0)	5,0 (3,0; 7,0)
t 1 полувыход, с	35,0 (34,0; 51,0)	25,0 (12,0; 48,0)	103,0 (78,0; 138)*	79,5 (74,0; 107,0)
t 1 выход, с	94,0 (86,0; 192,0)	116,0 (81,0; 131,0)	139,5 (94,0; 185,0)	99,0 (86,5; 168,0)
<b>10 месяцев</b>				
t 1 верх, с	20,0 (13,0; 22,0)	28,5 (17,0; 36,0)	28,5 (21,0; 36,0)	26,0 (21,0; 32,0)
N верх	4,0 (3,0; 5,0)	3,0 (1,0; 5,0)	4,5 (1,0; 6,0)	2,5 (1,0; 5,0)
t 1 бок, с	4,0 (3,0; 6,0)	8,5 (8,0; 19,0)	11,0 (5,0; 26,0)	6,0 (6,0; 30,0)
N бок	5,0 (4,0; 7,0)	4,5 (3,0; 6,0)	4,0 (3,0; 5,0)	3,5 (2,0; 6,0)
t 1 полувыход, с	29,5 (23,0; 70,0)	50,0 (34,0; 65,0)	75,0 (46,0; 90,0)	51,5 (27,0; 102,0)
t 1 выход, с	119,0 (51,0; 200,0)	72,0 (48,0; 100,0)	102,0 (85,0; 110,0)	44,0 (40,0; 86,0)

**Примечание.** t 1 верх – латентный период первого заглядывания в верхнее отверстие; t 1 бок – латентный период первого заглядывания в боковое отверстие; N верх – общее количество реакций заглядывания в верхнее отверстие; N бок – общее количество реакций заглядывания в боковое отверстие; t 1 полувыход – латентный период первого «полувыхода»; t 1 выход – латентный период первого выхода животного через боковое отверстие за тестовый период; \* – различия статистически значимы между животными групп LD и NL одинакового возраста ( $p < 0,05$ ); ° – различия статистически значимы между животными групп LD и LD + mel одинакового возраста ( $p < 0,05$ ); ♦ – различия статистически значимы между животными групп NL и NL + mel одинакового возраста ( $p < 0,05$ )

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Многочисленные исследования указывают на то, что у млекопитающих на Севере происходят перестройки всех видов обмена веществ и гормональной регуляции функций: отмечаются изменения ритма мелатонина и тиреоидных гормонов, сокращение репродуктивного периода, ухудшение настроения, когнитивных способностей и циклов «сон – бодрствование», возникновение сезонных аффективных расстройств и системной десинхронизации [11, 12, 17, 18]. Одним из ключевых факторов среды, вызывающих эти изменения, является специфический фотопериодизм. В NL-режиме было выявлено снижение исследовательской активности (ГДА, ВДА и частота обследования отверстий), а также увеличение уровня тревожности (реакции замиранья (фризин-

га) и груминга) по сравнению со стандартными условиями освещения (рис. 2; табл. 1). Обитание *M. auratus* в NL привело к увеличению времени первого выглядывания из верхнего отверстия и первого «полувыхода» из бокового отверстия по сравнению с LD (табл. 2). Вполне вероятно, что обнаруженные изменения связаны с «экстремальным» (для этого вида) снижением световой фазы суток в NL (> 7 ч за 3 месяца эксперимента). Значительные изменения фотопериодических условий могут приводить к росту активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, которая является ключевым регулятором стрессовой реакции [13, 19]. При нарушении циркадного ритма секреции глюкокортикоидов у крыс, мышей и хомяков наблюдается преимущественно повышение их концентрации в крови [13, 20, 21]. Помимо контроля циркадной секреции глюкокортикоидов с помо-

щью гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, ряд авторов отводят определённую роль в этом процессе пинеальному гормону – мелатонину [6, 17]. Перенос *M. auratus* из режима 16 ч свет/8 ч темнота в режим 8 ч свет/16 ч темнота приводит к увеличению уровня мелатонина, а также агрессивности животных [22]. Важно отметить, что различия в агрессивном поведении между группами сирийских хомяков не коррелировали с изменениями уровня тестостерона. Авторы [17, 18] связывают рост агрессии с гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой осью и изменением секреции следующих гормонов: адренкортикотропного (АКТГ), дегидроэпиандростерона и кортикостерона. Что касается сезонного ритма глюкокортикоидов, то в естественных условиях концентрации АКТГ и кортикостерона в сыворотке крови сирийских хомяков были выше зимой, чем летом [6, 23].

В длительных экспериментах на лабораторных крысах (*Rattus norvegicus*) показано, что при содержании крыс в условиях Севера наблюдается увеличение двигательной активности и количества психоэмоциональных проявлений по сравнению с LD-животными [15]. По всей вероятности, это связано с видовыми особенностями и различиями в сезонной активности видов. *Rattus norvegicus* отличаются высокой активностью в течение года, при этом *M. auratus* проявляют сезонность (наблюдается снижение двигательной активности, угасание репродуктивной функции, факультативная гипбернация) [24].

Воздействие мелатонина на поведение сирийских хомяков зависело от фотопериода. Мелатонин способствовал увеличению ориентировочно-исследовательской активности и снижению количества реакций фризинга и груминга в группе NL + mel (рис. 2; табл. 1). На данный момент проведено достаточно много экспериментов по воздействию мелатонина на эмоционально-поведенческие реакции различных животных. Во многих работах на млекопитающих (лабораторные крысы и мыши, сирийские хомяки, кошки, свиньи) отмечается седативное влияние мелатонина на поведение животного, проявляющееся в снижении показателей ориентировочно-исследовательской активности и психоэмоциональных проявлений [5, 7, 25, 26]. Вполне вероятно, что механизм такого действия заключается в рецепторопосредованном (через МТ1-рецептор) влиянии мелатонина на глутамат- и ГАМК-ергическую системы [25]. Необходимо отметить, что в экспериментах на *R. norvegicus* введение мелатонина как в группе LD, так и в группе NL приводило к снижению двигательной активности и количества психоэмоциональных проявлений по сравнению с контролем [14].

В нашем исследовании обнаружено противоположное действие мелатонина на уровень тревожности в LD + mel, при этом у сирийских хомяков только этой группы наблюдалось снижение двигательной активности в течение эксперимента. В результате оценки физиологического состояния животных из данного эксперимента [16] выявлено, что применение экзогенного мелатонина в LD-режиме вызывало интенсификацию метаболизма, снижение кормопотребления и массы тела,

а также рост активности пищеварительных ферментов в поджелудочной железе по сравнению с контрольными животными. Известно, что мелатонин, действуя через связанные с МТ1- и МТ2-рецепторами сигнальные пути, регулирует функцию поджелудочной железы, влияя на биосинтез гормонов (глюкагон и инсулин) [27]. Механизм такого действия заключается в активации энтеропанкреатического рефлекса и повышении секреции холецистокинина [27]. Холецистокинин в свою очередь участвует в регуляции аппетита и массы тела, а также пищевого поведения у млекопитающих [28]. Интересно, что применение холецистокинина подавляло активность хомяков (*Phodopus sungorus*) при поиске пищи [28]. На сегодняшний день влияние холецистокинина на эмоционально-поведенческие реакции, тревожность и индукцию агрессивного поведения у млекопитающих изучено мало [28].

Показано [18], что у сирийских хомяков введение экзогенного мелатонина (фотопериоды LD 14:10 и LD 10:14) приводило к росту уровня активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и агрессии (схожие изменения наблюдались при переносе *M. auratus* из длинного фотопериода в короткий). Мелатонин также усиливал агрессивное поведение у калифорнийских хомяков (*Peromyscus californicus*), при этом данный эффект лишь частично блокировался неселективным антагонистом мелатониновых рецепторов – лизиндолом [29]. Авторы предполагают [29], что мелатонин может оказывать влияние на поведение грызунов как через рецептор-зависимые, так и через рецептор-независимые механизмы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Содержание *M. auratus* в фотопериодических условиях Севера оказало влияние на изученные параметры поведения – выявлено снижение исследовательской активности (горизонтальной и вертикальной двигательной активности и количества обследований отверстий), увеличение количества реакций замиранья и груминга (установка «Открытое поле»), а также увеличение времени первого выгладывания из верхнего отверстия (установка «Тёмная камера с отверстиями»). Применение гормона мелатонина в группе NL + mel (100 мкг мелатонина в день на животное) привело к увеличению уровня ориентировочно-исследовательской активности и снижению тревожности. У сирийских хомяков, содержащихся в стандартных условиях освещения, добавление мелатонина в ночное время способствовало увеличению уровня тревожности. Полученные результаты подчёркивают важность условий освещения и указывают на значительную роль эндогенной мелатонин-ергической системы в регуляции поведенческих и физиологических ритмов у млекопитающих. Прикладная значимость результатов исследования определяется их использованием при разработке рекомендаций по предотвращению негативного последствия нестандартного фотопериода (полярный день) на организм млекопитающих.

### Соблюдение этических стандартов

Исследования проводились в полном соответствии с «Руководством по содержанию и уходу за лабораторными животными» и «Правилами надлежащей лабораторной практики» (приказ Минздрава России № 199н от 01.04.2016). Все процедуры на животных были одобрены независимым Комитетом по биоэтике Института биологии ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (протокол № 06 от 03.06.2018) в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС Европейского парламента.

Настоящая работа не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов исследований.

### Источники финансирования

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (FMEN-2022-0003).

### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

### Благодарности

Авторы выражают признательность сотрудникам лаборатории экологической физиологии животных Института биологии ФИЦ «Карельский научный центр РАН» (Калинина С.Н., Хижкин Е.А., Морозов А.В., Печорина Э.Ф., Михеева В.О.) за оказанную помощь при проведении данного исследования.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pevet P, Klosen P, Felder-Schmittbuhl MP. The hormone melatonin: Animal studies. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2017; 31(6): 547-559. doi: 10.1016/j.beem.2017.10.010
2. Reiter RJ, Sharma R. Central and peripheral actions of melatonin on reproduction in seasonal and continuous breeding mammals. *Gen Comp Endocrinol.* 2021; 300: 113620. doi: 10.1016/j.ygcn.2020.113620
3. Manchia M, Squassina A, Pisanu C, Congiu D, Garzilli M, Guiso B, et al. Investigating the relationship between melatonin levels, melatonin system, microbiota composition and bipolar disorder psychopathology across the different phases of the disease. *Int J Bipolar Disord.* 2019; 7: 27. doi: 10.1186/s40345-019-0163-y
4. Kholghi G, Eskandari M, Shokouhi Qare Saadlou MS, Zarrindast MR, Vaseghi S. Night shift hormone: How does melatonin affect depression? *Physiol Behav.* 2022; 252: 113835. doi: 10.1016/j.physbeh.2022.113835
5. Li W, Li T, Liu L, Ma S. Seasonal photoperiodic influence of pineal melatonin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis-hippocampal-receptor in male rats. *J Traditional Chin Med Sci.* 2022; 9(2): 143-152. doi: 10.1016/j.jtcms.2022.03.005
6. de Leeuw M, Verhoeve SI, van der Wee NJA, van Hemert AM, Vreugdenhil E, Coomans CP. The role of the circadian system in the etiology of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 2023; 153: 105383. doi: 10.1016/j.neubiorev.2023.105383
7. Li B, Hsieh YR, Lai WD, Tung TH, Chen YX, Yang CH, et al. Melatonin ameliorates neuropsychiatric behaviors, gut microbiome, and microbiota-derived metabolites in rats with chronic sleep deprivation. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(23): 16820. doi: 10.3390/ijms242316820
8. Cools O, Hebbrecht K, Coppens V, Roosens L, De Witte A, Morrens M, et al. Pharmacotherapy and nutritional supplements for seasonal affective disorders: A systematic review. *Expert Opin Pharmacother.* 2018; 19(11): 1221-1233. doi: 10.1080/14656566.2018.1501359
9. Palma-Gómez M, Osnaya I, Balderas A, Ortega D, Escobar C. Constant light during lactation programs circadian and metabolic systems. *Chronobiol Int.* 2018; 35(8): 1153-1167. doi: 10.1080/07420528.2018.1465070
10. Nelson RJ, Chbeir S. Dark matters: Effects of light at night on metabolism. *Proc Nutr Soc.* 2018; 77(3): 223-229. doi: 10.1017/S0029665118000198
11. Touitou Y, Reinberg A, Touitou D. Association between light at night, melatonin secretion, sleep deprivation, and the internal clock: Health impacts and mechanisms of circadian disruption. *Life Sci.* 2017; 173: 94-106. doi: 10.1016/j.lfs.2017.02.008
12. Bazhanova ED. Desynchronization: Types, main mechanisms, role in the pathogenesis of epilepsy and other diseases: A literature review. *Life (Basel).* 2022; 12(8): 1218. doi: 10.3390/life12081218
13. Tapia-Osorio A, Salgado-Delgado R, Angeles-Castellanos M, Escobar C. Disruption of circadian rhythms due to chronic constant light leads to depressive and anxiety-like behaviors in the rat. *Behav Brain Res.* 2013; 252: 1-9. doi: 10.1016/j.bbr.2013.05.028
14. Виноградова И.А., Анисимов В.Н. *Световой режим Севера и возрастная патология*. Петрозаводск: ПетроПресс; 2012. [Vinogradova IA, Anisimov VN. *Light conditions of the North and age-related pathology*. Petrozavodsk: PetroPress; 2012. (In Russ.).]
15. Анисимов В.Н., Виноградова И.А., Букалев А.В., Попович И.Г., Забежинский М.А., Панченко А.В., и др. Световой десинхроноз и риск злокачественных новообразований у лабораторных животных: состояние проблемы. *Вопросы онкологии*. 2014; 60(2): 15-27. [Anisimov VN, Vinogradova IA, Bukalev AV, Popovich IG, Zabezhinsky MA, Panchenko AV, et al. Light-induced desynchronization and risk of malignant tumors in laboratory animals: State of the problem. *Problems in Oncology*. 2014; 60(2): 15-27. (In Russ.).]
16. Antonova EP, Ilyukha VA, Kalinina SN. Effect of Northwest Russia's photoperiodic conditions and exogenous melatonin on physiological and biochemical parameters in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Moscow University Biological Sciences Bulletin.* 2020; 75(3): 117-124. doi: 10.3103/S0096392520030013
17. Munley KM, Dutta S, Jasnow AM, Demas GE. Adrenal MT<sub>1</sub> melatonin receptor expression is linked with seasonal variation in social behavior in male Siberian hamsters. *Horm Behav.* 2022; 138: 105099. doi: 10.1016/j.yhbeh.2021.105099
18. Paribello P, Manchia M, Bosia M, Pinna F, Carpiniello B, Comai S. Melatonin and aggressive behavior: A systematic review of the literature on preclinical and clinical evidence. *J Pineal Res.* 2022; 72(4): e12794. doi: 10.1111/jpi.12794
19. Goncharova N, Chigarova O, Oganyan T. Age-related and individual features of the HPA axis stress responsiveness under constant light in nonhuman primates. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023; 13: 1051882. doi: 10.3389/fendo.2022.1051882

20. Bedrosian TA, Galan A, Vaughn CA, Weil ZM, Nelson RJ. Light at night alters daily patterns of cortisol and clock proteins in female Siberian hamsters. *J Endocrinol.* 2013; 25: 590-596. doi: 10.1111/jne.12036
21. Wilson AL, Downs CT. Light interference and melatonin affects digestion and glucocorticoid metabolites in striped mouse. *Biol Rhythm Res.* 2015; 6: 929-939. doi: 10.1080/09291016.2015.1066546
22. Gutzler SJ, Karom M, Erwin WD, Albers HE. Photoperiodic regulation of adrenal hormone secretion and aggression in female Syrian hamsters. *Horm Behav.* 2009; 56(4): 481-489. doi: 10.1016/j.yhbeh.2009.08.007
23. Han JG, Yang ZC, Zhang N, Liu XY, Guo XZ. Study on the physiological mechanism of "kidney corresponding with winter" from the changes of hormone on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in winter and summer. *China J Tradit Chin Med Pharm.* 2016; 31(1): 42-45.
24. Dantas-Ferreira RF, Dumont S, Gourmelen S, Cipolla-Neto J, Simonneaux V, Pévet P, et al. Food-anticipatory activity in Syrian hamsters: Behavioral and molecular responses in the hypothalamus according to photoperiodic conditions. *PLoS One.* 2015; 10(5): e0126519. doi: 10.1371/journal.pone.0126519
25. Zhang L, Guo HL, Zhang HQ, Xu TQ, He B, Wang ZH, et al. Melatonin prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: Role of oxidative stress and balance between GABAergic and glutamatergic transmission. *Am J Transl Res.* 2017; 9(5): 2231-2242.
26. Kwak MJ, Chae KS, Kim JN, Whang KY, Kim Y. Dietary effects of melatonin on growth performance by modulation of protein bioavailability and behavior in early weaned rats and pigs. *J Anim Sci Technol.* 2023; 65(5): 1053-1064. doi: 10.5187/jast.2023.e44
27. Jaworek J, Leja-Szpak A, Nawrot-Porąbka K, Szklarczyk J, Kot M, Pierzchalski P, et al. Effects of melatonin and its analogues on pancreatic inflammation, enzyme secretion, and tumorigenesis. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(5): 1014. doi: 10.3390/ijms18051014
28. Moran KM, Delville Y. A hamster model for stress-induced weight gain. *Horm Behav.* 2024; 160: 105488. doi: 10.1016/j.yhbeh.2024.105488
29. Laredo SA, Orr VN, McMackin MZ, Trainor BC. The effects of exogenous melatonin and melatonin receptor blockade on aggression and estrogen-dependent gene expression in male California mice (*Peromyscus californicus*). *Physiol Behav.* 2014; 128: 86-91. doi: 10.1016/j.physbeh.2014.01.039

#### Сведения об авторах

**Антонова Екатерина Петровна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, руководитель лаборатории экологической физиологии животных, Институт биологии, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», e-mail: antonova88ep@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4740-2141>

**Баишниковая Ирина Валерьевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных, Институт биологии, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», e-mail: iravbai@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5064-3731>

**Кижина Александра Геннадьевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных, Институт биологии, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», e-mail: golubewa81@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3042-8617>

**Илюха Виктор Александрович** – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории экологической физиологии животных, Институт биологии, ФИЦ «Карельский научный центр РАН»; старший научный сотрудник, ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, e-mail: ilyukha.62@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7085-4154>

#### Information about the authors

**Ekaterina P. Antonova** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Head of the Laboratory of Animal Ecophysiology, Institute of Biology, Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, e-mail: antonova88ep@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4740-2141>

**Irina V. Baishnikova** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Animal Ecophysiology, Institute of Biology, Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, e-mail: iravbai@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5064-3731>

**Aleksandra G. Kizhina** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Animal Ecophysiology, Institute of Biology, Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, e-mail: golubewa81@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3042-8617>

**Viktor A. Ilyukha** – Dr. Sc. (Biol.), Chief Research Officer at the Laboratory of Animal Ecophysiology, Institute of Biology, Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences; Senior Research Officer; Papanin Institute for Biology of Inland Waters, Russian Academy of Sciences, e-mail: ilyukha.62@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7085-4154>

## ЭПИДЕМИОЛОГИЯ EPIDEMIOLOGY

### АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ГРИППОМ И ОСТРЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ В УСЛОВИЯХ ПЛАНОВОЙ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГРИППА

Баянова Т.А.<sup>1</sup>,  
Зарва И.Д.<sup>1</sup>,  
Кравченко Н.А.<sup>1</sup>,  
Стукова Е.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного восстания, 1, Россия)

<sup>2</sup> ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области» (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 51, Россия)

Автор, ответственный за переписку:  
Кравченко Наталья Александровна,  
e-mail: tasha\_v\_gorode@mail.ru

#### РЕЗЮМЕ

**Обоснование.** Острые инфекции верхних дыхательных путей (ОИВДП) и грипп, сохраняя высокую эпидемиологическую, социальную и экономическую значимость, оказывают значительное влияние на общественное здравоохранение стран и отдельных регионов.

**Цель исследования.** Изучить влияние вакцинации против гриппа на проявления эпидемического процесса гриппа и острых инфекций верхних дыхательных путей в Иркутской области.

**Материалы и методы.** Эпидемиологический анализ заболеваемости ОИВДП и гриппом, анализ летальности от гриппа и влияния вакцинации на эти инфекции выполнены по сплошным выборкам статистических данных Управления Роспотребнадзора по Иркутской области за период 2003–2022 гг. (формы 2, 5).

**Результаты.** Интенсивность эпидемического процесса ОИВДП среди совокупного населения, детей и взрослых за период наблюдения характеризовалась неравномерным течением с тенденцией к росту. В динамике заболеваемости ОИВДП детей и взрослых по периодам сравнения прослеживаются разнонаправленные тенденции. Заболеваемость гриппом совокупного населения имела неуклонную тенденцию к снижению, темп убыли составил –8,4 %. При этом наблюдаются значительные изменения интенсивности эпидемического процесса по периодам сравнения. В структуре заболевших ОИВДП увеличилась доля взрослого населения, в структуре заболевших гриппом – доля детей. Показаны значительные изменения эпидемических сезонов гриппа. С начала плановой вакцинации против гриппа в регионе ежегодно увеличивалось число привитых – с 23,6 до 61,7 % от численности населения. На фоне проведения прививочной кампании против гриппа установлено статистически значимое снижение заболеваемости ОИВДП среди совокупного населения и детей до 14 лет ( $p < 0,01$ ).

**Заключение.** В Иркутской области сохраняется эпидемиологическое неблагополучие по изучаемым инфекциям. Увеличение регламентируемых показателей охвата населения профилактическими прививками против гриппа (75 % и более) будет способствовать снижению заболеваемости.

**Ключевые слова:** заболеваемость, грипп, острые инфекции верхних дыхательных путей, вакцинация, прогноз

**Для цитирования:** Баянова Т.А., Зарва И.Д., Кравченко Н.А., Стукова Е.С. Анализ заболеваемости гриппом и острыми инфекциями верхних дыхательных путей в условиях плановой вакцинации против гриппа. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 261-271. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.28

Статья поступила: 15.04.2024

Статья принята: 26.09.2024

Статья опубликована: 22.11.2024

## ANALYSIS OF THE INCIDENCE OF INFLUENZA AND ACUTE UPPER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS UNDER CONDITIONS OF ROUTINE INFLUENZA VACCINATION

Bayanova T.A.<sup>1</sup>,  
Zarva I.D.<sup>1</sup>,  
Kravchenko N.A.<sup>1</sup>,  
Stukova E.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk State Medical University  
(Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003,  
Russian Federation)

<sup>2</sup> Center for Hygiene and Epidemiology  
in the Irkutsk Region (Trilissera str. 51,  
Irkutsk 664047, Russian Federation)

Corresponding author:  
**Natalya A. Kravchenko,**  
e-mail: tasha\_v\_gorode@mail.ru

### ABSTRACT

**Background.** Acute upper respiratory tract infections and influenza, while maintaining high epidemiological, social and economic significance, have a major effect on the public health of countries and individual regions.

**The aim.** To study the impact of influenza vaccination on the manifestations of the epidemic process of influenza and acute upper respiratory tract infections in the Irkutsk region.

**Materials and methods.** Epidemiological analysis of the incidence of acute upper respiratory tract infections and influenza, analysis of influenza mortality and the impact of vaccination on these infections were performed using continuous samples of statistical data from the Directorate of Rospotrebnadzor in the Irkutsk Region for the period of 2003–2022 (forms 2, 5).

**Results.** The intensity of the epidemic process of acute upper respiratory tract infections among the general population, children and adults during the observation period was characterized by an uneven course with a tendency towards increase. The dynamics of the incidence of acute upper respiratory tract infections in children and adults demonstrates multidirectional trends over the compared periods. The incidence of influenza in the general population had a steady downward trend, the decrease rate was –8.4%. At the same time, there are significant changes in the intensity of the epidemic process in the compared periods. The proportion of adults increased in the structure of cases of acute upper respiratory tract infections, and the proportion of children increased in the structure of cases of influenza. Significant changes in the epidemic seasons of influenza are shown. Since the beginning of routine influenza vaccination in the region, the number of vaccinated people has increased annually – from 23.6 to 61.7% of the population. Against the background of the influenza vaccination campaign, a statistically significant decrease in the incidence of acute upper respiratory tract infections among the general population and children under 14 years of age was registered ( $p < 0.01$ ).

**Conclusion.** In the Irkutsk region, the epidemiological disadvantage for the studied infections persists. Increasing the regulated indicators of population coverage with preventive influenza vaccinations (75% and more) will help reduce the incidence rate.

**Key words:** incidence, influenza, acute upper respiratory tract infections, vaccination, prognosis

Received: 15.04.2024  
Accepted: 26.09.2024  
Published: 22.11.2024

**For citation:** Bayanova T.A., Zarva I.D., Kravchenko N.A., Stukova E.S. Analysis of the incidence of influenza and acute upper respiratory tract infections under conditions of routine influenza vaccination. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(5): 261-271. doi: 10.29413/ABS.2024-9.5.28

## ВВЕДЕНИЕ

Инфекции дыхательных путей в структуре инфекционной патологии занимают ведущее место, среди них доминируют острые инфекции верхних дыхательных путей (ОИВДП) и грипп [1]. ОИВДП объединяет большое число самостоятельных нозологических форм бактериальной, вирусной и другой этиологии [2]. Сохраняя высокую эпидемиологическую, социальную и экономическую значимость, эта группа инфекций оказывает значительное влияние на общественное здравоохранение стран и отдельных регионов [3]. На территории Российской Федерации (РФ) в 2022 г. отмечалось превышение среднесезонного показателя (СМП) по ОИВДП и по гриппу в 1,4 и 1,6 раза соответственно. Экономический ущерб составил около 940 млрд руб., занимая первое ранговое место по величине экономической значимости среди инфекционных заболеваний. Прирост общего экономического ущерба за счёт увеличения случаев ОИВДП превысил 200 млрд руб. [4].

Грипп входит в группу ОИВДП и отличается широким спектром клинических проявлений и последствий. В истории эпидемиологии инфекционных болезней грипп известен как причина серьёзных эпидемий и пандемий, регистрируемых в XIX–XX веках [5]. Сезонный грипп остаётся глобальной проблемой общественного здравоохранения и значительной причиной смертности во всём мире, особенно среди тех, кто восприимчив к тяжёлому или осложнённому течению. Инфекция распространена повсеместно и проявляется в виде спорадических случаев, эпидемических вспышек, сезонных эпидемий и пандемий [6]. В 2019 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) включила пандемию гриппа в перечень 10 проблем общественного здравоохранения [7].

Вакцинация остаётся ведущим доступным и экономически оправданным методом специфической профилактики гриппа, целью которой является не только снижение заболеваемости, развития осложнений и смертности, но и ограничение риска формирования нового пандемического варианта [3]. Охват профилактическими прививками в соответствии с Постановлением № 9 от 21.06.2023 среди населения РФ должен составлять не менее 60 %, среди приоритетных групп риска для вакцинации – не менее 75 % [8]. Для достижения данного показателя важной составляющей является приверженность вакцинации среди разных групп населения [9].

Территория Иркутской области остаётся неблагополучной по заболеваемости гриппом и ОИВДП: показатель заболеваемости превышает среднероссийский более чем в 2 раза [4]. В регионе изучены изменения заболеваемости острыми респираторными инфекциями в начале эпидемии инфекции COVID-19 и их связь с внебольничными пневмониями [10]. При этом актуальным является анализ особенностей эпидемиологии ОИВДП и гриппа в многолетней динамике на фоне проводимой вакцинации против гриппа.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить проявления эпидемического процесса гриппа и острых инфекций верхних дыхательных путей в условиях плановой вакцинации против гриппа в Иркутской области.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено с одобрения этического комитета ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 1 от 07.03.2022). Эпидемиологический анализ заболеваемости ОИВДП и гриппом в Иркутской области проведён по сплошным выборкам статистических данных Управления Роспотребнадзора (УРПН) за период 2003–2022 гг. (формы 2, 5). Анализ уровней заболеваемости ОИВДП и гриппом проведён в трёх группах населения: совокупное, детское (до 14 лет) и взрослое (18 лет и старше). Заболеваемость ОИВДП и гриппом среди сравниваемых групп населения представлена за два периода: 2003–2012 гг. и 2013–2022 гг. Более подробно уровни заболеваемости ОИВДП и гриппом, в том числе влияние вакцинации на заболеваемость этими инфекциями, изучены за период 2012–2020 гг. Период 2021–2022 гг. не включён в анализ по причине изменения числа зарегистрированных случаев ОИВДП и их статистического учёта. Летальность при гриппе рассчитана по данным отчётной формы 2 УРПН по Иркутской области.

Динамика недельной заболеваемости во время эпидемических сезонов гриппа с 2014 по 2023 г. изучена по данным еженедельного мониторинга гриппа и острых респираторных вирусных инфекций, проводимого ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», и оценивалась по показателям наглядности и удельного веса случаев, которые рассчитывались для каждого эпидемического сезона отдельно.

Анализ распределения данных для выбора методов оценки корреляционных связей и математического моделирования выполнялся с помощью графических методов: гистограмм, boxplot, QQ-графиков, статистического метода Шапиро – Уилка и расчёта коэффициента асимметрии. Установлены левосторонняя асимметрия и отсутствие нормального распределения данных. Для оценки и прогнозирования эффекта влияния охвата вакцинацией против гриппа совокупного населения на заболеваемость ОИВДП была использована статистическая модель – регрессия Пуассона. Статистическая значимость взаимосвязи между независимой и зависимой переменными определялась на уровне  $p < 0,001$ . Линейное уравнение:  $Y = e(10,35 - 2,3 \times 10^{-7} \times X)$ , где:  $Y$  – ожидаемый уровень заболеваемости острыми респираторными инфекциями (ОРИ) совокупного населения;  $e$  – основание натурального логарифма;  $X$  – количество сделанных вакцинаций против гриппа. Далее выполнялся расчёт для прогнозирования уровня заболеваемости ОРИ совокупного населения при охвате вакцинацией населения против гриппа на уровнях 75, 85 и 95 %.

Для расчёта корреляционных связей использован непараметрический метод Спирмена при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ . Для оценки статистической значимости различий относительных показателей рассчитаны доверительные интервалы (ДИ) с уровнем значимости 95 % (95% ДИ). Стандартная ошибка средней, среднегодовой темп прироста/убыли, ДИ, коэффициент корреляции между числом привитых против гриппа и числом заболевших гриппом и ОИВДП, регрессия Пуассона рассчитаны с применением языка программирования Python и библиотек numpy, statsmodels. Графическая обработка данных выполнена с помощью программы MS Excel 2010 (Microsoft Corp., США).

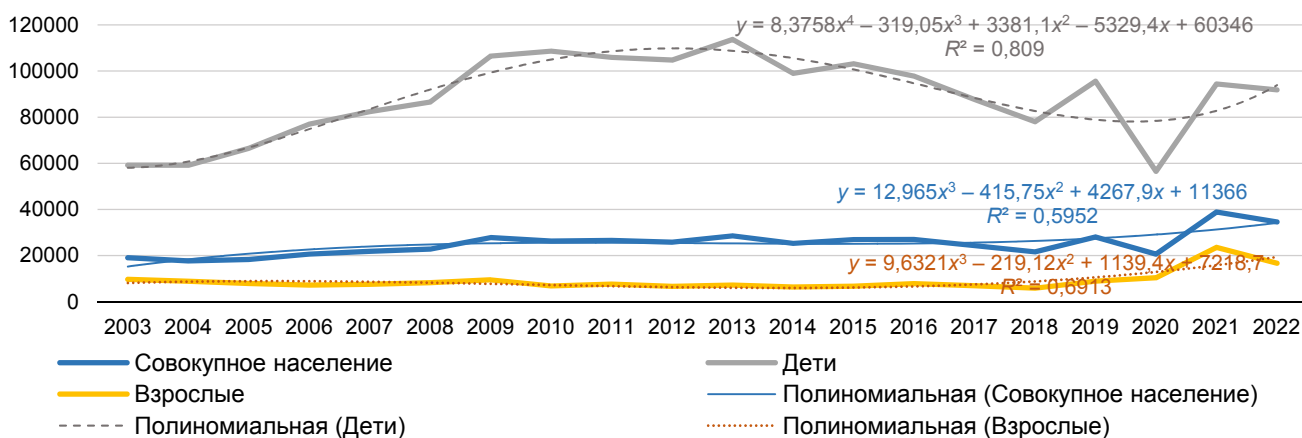
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Интенсивность эпидемического процесса ОИВДП среди совокупного населения, детей и взрослых за период наблюдения характеризовалась неравномерным течением с тенденцией к росту. Среднегодовой показатель среди сравниваемых групп составил 25107,3 [22799,4÷27415,2], 88707,6 [80947,8÷96467,4] и 8977,1 [7111,0÷10843,2] на 100 тыс. соответственно (рис. 1). В динамике заболеваемости ОИВДП детей и взрослых по периодам сравнения прослеживаются разнонаправленные тенденции. Так, период 2003–2012 гг. у детей характеризовался ростом уровня заболеваемости (темп прироста ( $T_{пр.}$ ) = 2,8 %); период 2013–2022 гг. – незначительной тенденцией к снижению (темп убыли ( $T_{убыли}$ ) = –1,0 %), причём за 2012–2020 гг.  $T_{убыли}$  был более выражен и составил –3,3 % (рис. 1; табл. 1). У взрослых, напротив, за 2003–2012 гг. регистрировалось снижение заболеваемости ( $T_{убыли}$  = –1,8 %), за 2013–2022 гг. наблюдалась выраженная тенденция к росту ( $T_{пр.}$  = 4,2 %). Период 2020–2022 гг. имел свои особенности, связанные с учётом и регистрацией вследствие распространения инфекции COVID-19. Так, в 2020 г. был зарегистриро-

ван минимальный уровень заболеваемости среди детей за весь период наблюдения – 56530,0 [56393,8÷56666,2] с ростом в 2021 г. до уровня 2019 г. В динамике заболеваемости взрослого населения в 2020–2022 гг. регистрировался рост показателя по сравнению с предшествующим периодом 2003–2019 гг. в 2,2 раза – 16848,7 [9380,1÷24317,3] против 7587,9 [7064,2÷8111,6] на 100 тыс.

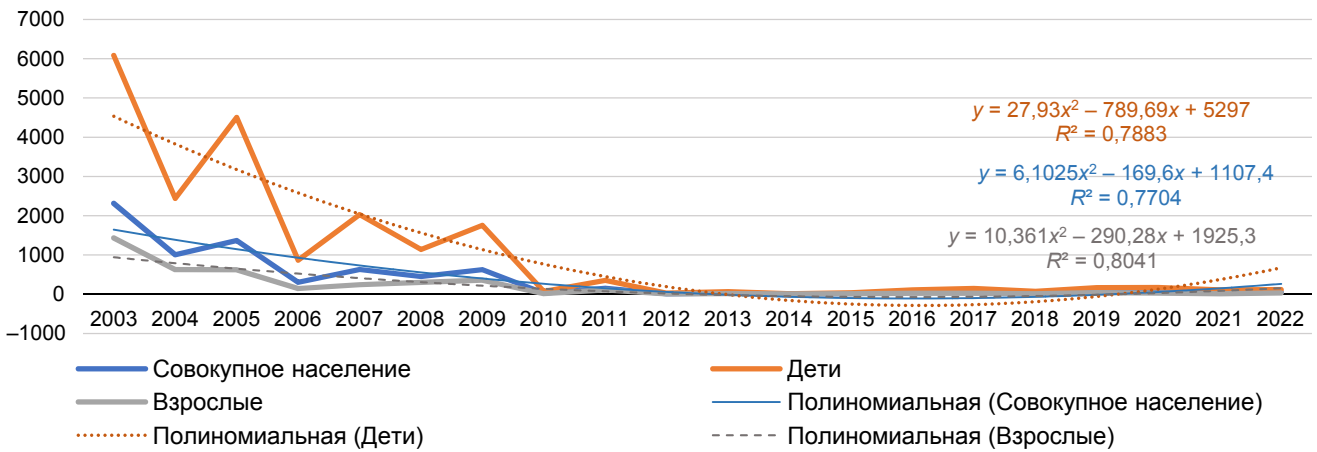
Заболеваемость гриппом совокупного населения за период наблюдения имела неуклонную тенденцию к снижению, темп снижения составил –8,4 %. С 2010 г. СМП составил 45,1 [15,1÷75,1] на 100 тыс. Заболеваемость по возрастным группам (дети и взрослые) имела однонаправленные тенденции к снижению (рис. 2). При этом наблюдаются значительные изменения интенсивности эпидемического процесса по периодам сравнения (рис. 3; табл. 1). Так, период 2003–2012 гг. характеризовался выраженной тенденцией к снижению среди сравниваемых групп:  $T_{убыли}$  составил –23,2÷–24,3 % при СМП 1926,3 [695,7÷3156,9] и 385,2 [119,0÷651,4] на 100 тыс. соответственно. В 2013–2022 гг. отмечено неравномерное распределение показателей заболеваемости. Уровень заболеваемости варьировал среди совокупного населения в пределах 6,8–50,6 на 100 тыс.; среди детей – 11,2–170,5 на 100 тыс., среди взрослых – 5,4–40,2 на 100 тыс. при СМП 39,9 [23,6÷56,2], 100,2 [66,5÷133,9] и 19,4 [11,8÷27,0] на 100 тыс. соответственно.

Возрастная структура заболевших ОИВДП за период наблюдения претерпела значительные изменения. Так, до распространения инфекции COVID-19 удельный вес детей до 14 лет и взрослых составлял 41,2 и 58,8 %; в 2020–2022 гг. их удельный вес составил 35,1 и 64,9 % соответственно. В возрастной структуре заболевших гриппом доля детей и взрослых до 2020 г. составляла 55,7 и 44,3 %; в 2020–2022 гг. – 63,8 и 36,2 % соответственно. Таким образом, в структуре заболевших ОИВДП увеличилась доля взрослого населения, в структуре заболевших гриппом – доля детей.



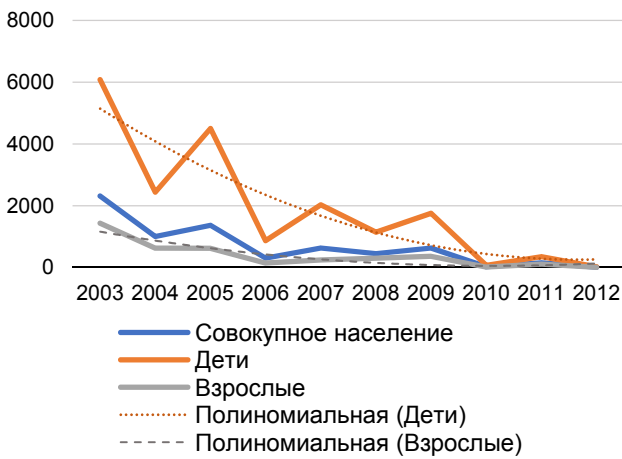
**РИС. 1.** Заболеваемость острыми инфекциями верхних дыхательных путей разных групп населения Иркутской области в динамике с 2003 по 2022 г. (на 100 тыс. населения)

**FIG. 1.** Dynamics of incidence of acute upper respiratory tract infections in different population groups of the Irkutsk region from 2003 to 2022 (per 100,000 population)



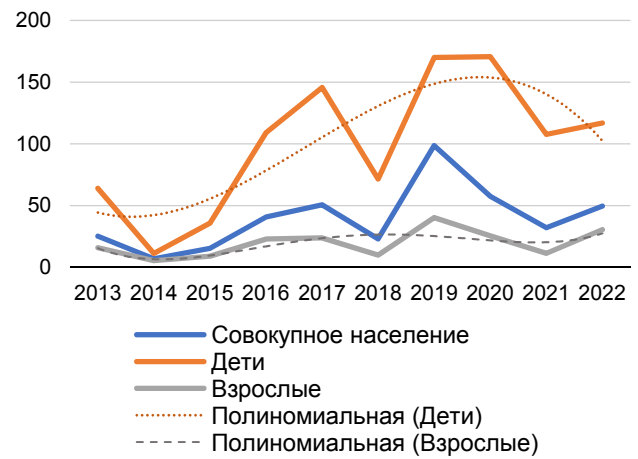
**РИС. 2.** Заболеваемость гриппом разных возрастных групп населения Иркутской области в динамике с 2003 по 2022 г. (на 100 тыс. населения)

**FIG. 2.** Dynamics of incidence of influenza in different age groups of the population of the Irkutsk region from 2003 to 2022 (per 100,000 population)



**а**

**РИС. 3.** Заболеваемость гриппом среди разных групп населения в периоды высокой (а) и низкой (б) интенсивности эпидемического процесса (на 100 тыс. населения)



**б**

**FIG. 3.** Incidence of influenza in different population groups during periods of high (а) and low (б) intensity of the epidemic process (per 100,000 population)

Удельный вес гриппа в структуре ОИВДП в разные годы и среди сравниваемых групп населения существенно отличался. Так, среди совокупного населения доля гриппа за 2003–2022 гг. составила 1,2 %, при этом наблюдались значительные различия по периодам (табл. 1). Доля гриппа в период 2020–2022 гг. статистически значимо не отличалась от предшествовавшего периода ( $p > 0,5$ ).

В динамике по годам с ростом заболеваемости гриппом отчётливо прослеживалось снижение уровня заболеваемости ОИВДП среди детей и совокупного населения. Отмечена обратная умеренная корреляционная связь, наиболее выраженная среди детей до 14 лет ( $\rho = -0,68$ ;  $p < 0,05$ ).

В регионе случаи смерти от гриппа за период наблюдения были зарегистрированы в 2017–2019 и 2021–

2022 гг.: показатель колебался от 0,2 до 1,6 %, причём максимальный уровень летальности был зарегистрирован среди совокупного населения в 2021 г. (1,6 %). В 2019 г. случаи смерти от гриппа были зарегистрированы в том числе среди детей до 17 лет, показатель составил 0,2 %.

Анализ 8 эпидемических сезонов гриппа с 2014 по 2023 гг. показал значительные изменения сроков их начала и окончания и продолжительности в периоды до и на фоне распространения инфекции COVID-19 (рис. 4). Продолжительность эпидемических сезонов 2014–2015 – 2018–2019 гг. составляла в среднем 24 недели (21–26 недель) с началом на 50–52-й неделе и окончанием на 22–26-й неделе. Количество циркулирующих штаммов варьировало от 2 до 3 с преобладанием в разные годы гриппа А и В (табл. 2). Эпидемический се-

ТАБЛИЦА 1

**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ГРИППОМ И ОСТРЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ СРЕДИ РАЗНЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ В СРАВНЕНИИ ПО ПЕРИОДАМ (СРЕДНЕМОГОЛЕТНИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ С УЧЁТОМ 95% ДИ И СРЕДНЕГОДОВОЙ ТЕМП ПРИРОСТА)**

TABLE 1

**INCIDENCE OF INFLUENZA AND ACUTE UPPER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS IN DIFFERENT POPULATION GROUPS COMPARED BY PERIODS (LONG-RUN ANNUAL AVERAGE WITH 95% CI AND ANNUAL AVERAGE RATE OF INCREASE)**

Возрастные группы	ОИВДП						Грипп		
	2003–2012		2013–2022		2003–2012		2013–2022		Среднегодовой темп прироста (убыли), %
	Среднегодовой темп прироста (убыли), %	Удельный вес гриппа, %	Среднегодовой темп прироста (убыли), %	Удельный вес гриппа, %	Среднегодовой темп прироста (убыли), %	Среднегодовой темп прироста (убыли), %			
Дети 0–17 лет	85649,2 [73250,2÷98048,2]	2,8 2,4	91766,0 [82147,1÷101384,9]	-1,0 0,7	1926,3 [695,6÷3157,0]	-23,2	100,2 [66,5÷133,9]	3,0	
Взрослые 18 лет и старше	7957,9 [7302,7÷8613,1]	-1,8 0,3	9996,2 [6451,3÷13541,1]	4,2 0,07	385,2 [0÷828,6]	-24,3	19,4 [12,6÷26,3]	3,2	
Совокупное население	22642,2 [20326,1÷25958,3]	1,4 2,3	27572,4 [24117,4÷31027,2]	0,9 0,1	688,2 [422,0÷954,4]	-23,6	39,6 [23,3÷55,9]	3,3	

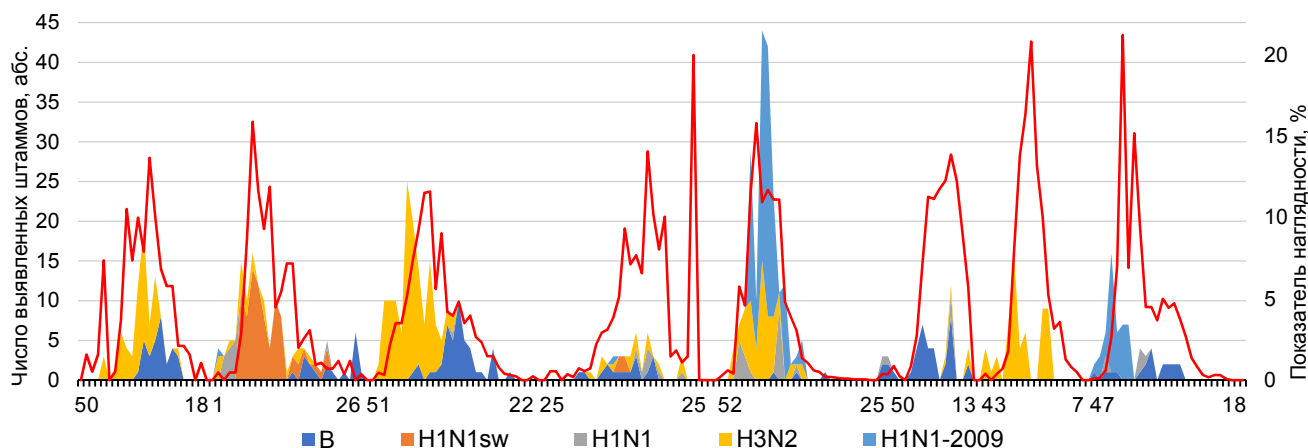


РИС. 4.

Продолжительность регистрации случаев гриппа в 2014–2023 гг. в динамике (%)

FIG. 4.

Dynamics of duration of reporting influenza cases in 2014–2023 over time (%)

зон 2020–2021 гг. характеризовался ранним началом (43-я неделя) и окончанием (49-я неделя) с продолжительностью 7 недель. Количество циркулирующих штаммов и преобладающий штамм определить не удалось вследствие отсутствия достоверных данных по числу обследований на патогены гриппа и ОРВИ. Сезон 2021–2022 гг. имел общие черты с предыдущим: раннее начало (43-я неделя), раннее окончание (7-я неделя), продолжительность составила 17 недель, циркулировал один штамм – грипп А (H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>), удельный вес которого составил 98,3 %. В эпидемическом сезоне 2022–2023 гг. отмечались признаки допандемического распределения забо-

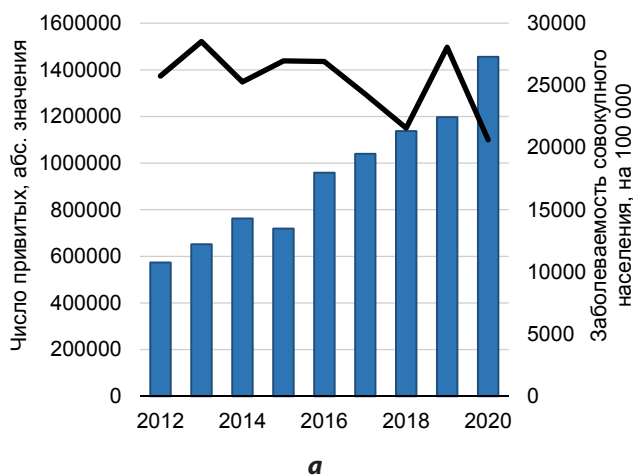
леваемости гриппом: начало на 47-й неделе, окончание на 18-й неделе, продолжительность составила 24 недели, отмечалась циркуляция 3 штаммов вируса гриппа с преобладанием гриппа А (H<sub>1</sub>N<sub>1-2009</sub>).

Изменения были отмечены по неделе максимального числа выявленных случаев гриппа и удельного веса. Так, эпидемические сезоны 2019–2020 гг. и 2021–2022 гг. характеризовались меньшей продолжительностью; 2021–2022 гг. – неделей максимального уровня заболеваемости; 2022–2023 гг. – наибольшим удельным весом случаев в неделю максимального уровня заболеваемости за период наблюдения (21,2 %).

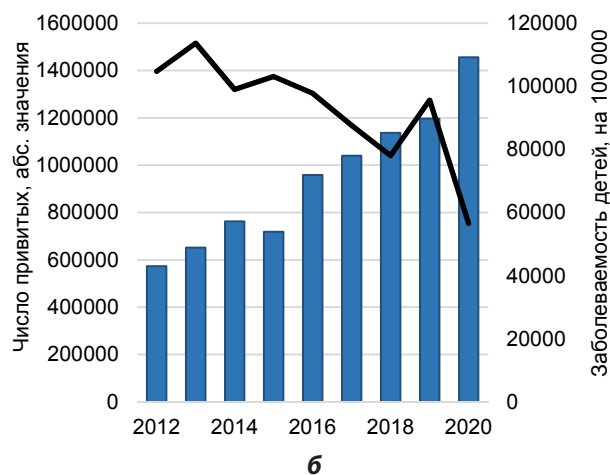
**ТАБЛИЦА 2**  
**ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИДЕМИЧЕСКИХ СЕЗОНОВ ГРИППА**  
**В ДИНАМИКЕ С 2014 ПО 2023 г.**

**TABLE 2**  
**CHARACTERISTICS OF EPIDEMIC INFLUENZA SEASONS**  
**OVER TIME FROM 2014 TO 2023**

Эпидемические сезоны	Продолжительность (недели)	Неделя максимального уровня заболеваемости	Удельный вес случаев (%)	Ведущий циркулирующий штамм (тип; %)
2014–2015	21	9	13,7	Грипп А (H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> ; 14,4 %)
2015–2016	25	8	16,0	Грипп А (H <sub>1</sub> N <sub>1sw</sub> ; 68,3 %)
2016–2017	23	7	11,6	Грипп А (H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> ; 73,6 %)
2017–2018	26	17	14,1	Грипп В (39 %)
2018–2019	26	6	15,8	Грипп А (H <sub>1</sub> N <sub>1-2009</sub> ; 58,9 %)
2019–2020	16	10	13,8	Грипп В (78,7 %)
2020–2021	7	–	–	–
2021–2022	17	51	20,8	Грипп А (H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> ; 98,3 %)
2022–2023	24	52	21,2	Грипп А (H <sub>1</sub> N <sub>1-2009</sub> ; 62,1 %)



**РИС. 5.**  
*Динамика заболеваемости острыми инфекциями верхних дыхательных путей совокупного населения (а) и детей (б) и число привитых против гриппа*



**FIG. 5.**  
*Dynamics of the incidence of acute upper respiratory tract infections in the general population (а) and among children (б) and the number of people vaccinated against influenza*

С начала плановой вакцинации против гриппа в регионе ежегодно увеличивалось число привитых с 23,6 до 61,7% от численности населения. При этом между числом привитых и уровнем заболеваемости гриппом в изучаемых группах наблюдались прямые корреляционные зависимости. Так, среди совокупного населения, детей и взрослых отмечена статистически значимая прямая корреляционная связь:  $\rho = 0,98$ ,  $\rho = 0,98$  и  $\rho = 0,73$  ( $p < 0,05$ ) соответственно.

В то же время на фоне проведения прививочной кампании против гриппа установлено статистически значимое снижение заболеваемости ОИВДП среди совокупного населения и детей до 14 лет (рис. 5). Так, показатель заболеваемости совокупного населения с 2012 по 2020 г. снизился в 1,2 раза

с 25761,9 [25706,8÷25817,0] до 20628,9 [20578,5÷20679,3]; среди детей – в 1,9 раза с 104733,4 [104667,8÷104799,0] до 56530,0 [56393,8÷56666,2] на 100 тыс.; различия статистически значимы ( $p < 0,01$ ). Между числом привитых против гриппа и заболеваемостью ОИВДП совокупного населения и детей отмечены обратные корреляционные зависимости:  $\rho = -0,5$  и  $\rho = -0,93$  ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Прогнозируемые уровни заболеваемости ОРИ совокупного населения и детей при увеличении охвата населения профилактическими прививками получены при построении модели Пуассона. Показано, что с увеличением охвата населения до уровня, рекомендуемого для групп риска (75 %) и более, наблюдается статистически значимое снижение заболеваемости ОИВДП ( $p < 0,001$ ) (табл. 3).

**ТАБЛИЦА 3**  
**ПРОГНОЗИРУЕМЫЕ УРОВНИ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ**  
**ОСТРЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ**  
**ПУТЕЙ ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ ПРИ РАЗНОМ ОХВАТЕ**  
**ПРОФИЛАКТИЧЕСКИМИ ПРИВИВКАМИ ПРОТИВ ГРИППА**  
**(МОДЕЛЬ ПУАССОНА)**

Охват вакцинацией против гриппа (%)	Прогнозируемый уровень заболеваемости ОИВДП детского населения с учётом 95% ДИ (на 100 тыс. населения)	Прогнозируемый уровень заболеваемости ОИВДП совокупного населения с учётом 95% ДИ (на 100 тыс. населения)
75	52149,7 [52083,6÷52215,8]	21038,1 [21011,6÷21064,6]
85	44568,8 [44503,0÷44634,6]	19933,8 [19907,8÷19959,7]
95	38090,0 [38025,7÷38154,2]	18877,4 [18861,9÷18912,8]
СМП	92910,34 [92876,4÷92944,3]	25334,2 [25306,0÷25362,5]

**TABLE 3**  
**PREDICTED INCIDENCE RATES OF ACUTE UPPER**  
**RESPIRATORY TRACT INFECTIONS IN CHILDREN**  
**AND ADULTS WITH DIFFERENT COVERAGE OF PREVENTIVE**  
**INFLUENZA VACCINATION (POISSON REGRESSION)**

## ОБСУЖДЕНИЕ

Проявления эпидемического процесса ОИВДП в Иркутской области характеризовались высокой интенсивностью и неравномерным распределением среди разных возрастных групп населения по годам. Заболеваемость ОИВДП в регионе среди совокупного населения и взрослых имела устойчивую тенденцию к росту, в отличие от детского населения, где на протяжении последних десяти лет прослеживалось снижение уровня заболеваемости ( $T_{\text{убыли}} = -1,0\%$ ). Высокие уровни заболеваемости ОИВДП разных групп населения характерны для РФ в целом и отдельных субъектов [4]. Похожие результаты получены по материалам Свердловской, Новосибирской, Ростовской областей, Алтайского края и др. [11–14]. В работах [12, 15] региональные различия в уровнях заболеваемости объясняются в том числе климатогеографическими, демографическими и социально-экономическими особенностями региона, что, безусловно, нуждается в более детальном изучении в разрезе субъекта РФ.

Снижение заболеваемости гриппом в условиях проводимой плановой вакцинации аналогично общероссийским тенденциям [16]. При этом за 2013–2022 гг. рост уровня заболеваемости происходил более медленными темпами, среднегодовой темп прироста составил 3,3 % в сравнении с предшествовавшим периодом интенсивного снижения уровня заболеваемости (среднегодовой  $T_{\text{убыли}} = -23,6\%$ ). Данное распределение показателей регистрировалось на фоне улучшения микробиологического мониторинга за циркуляцией возбудителей ОИВДП в рамках сигнального эпидемиологического надзора за гриппом, введённого на территории РФ с эпидемического сезона 2010–2011 гг. [17].

Особенности эпидемиологии инфекций дыхательных путей, незрелость иммунной системы и, как следствие, более высокая восприимчивость объясняют превалирование заболеваемости детского населения ОИВДП и гриппом [18]. В Иркутской области прослеживаются аналогичные тенденции. Показано, что заболеваемость детей ОИВДП и гриппом превышала заболеваемость взрослого населения более чем в 3 раза.

Инфекция COVID-19 существенно обострила эпидемиологическую ситуацию по группе инфекций дыхательных путей. На фоне распространения SARS-CoV-2 наблюдались значительные изменения как в циркуляции патогенов [16], так и в структуре и в уровнях заболеваемости. Вовлечение в эпидемический процесс ОИВДП взрослых объясняется патогенетическими особенностями COVID-19 в начале пандемии [19]. Увеличение заболеваемости гриппом детей и увеличение их удельного веса наблюдалось на фоне смены штамма COVID-19, а также вследствие увеличения числа лабораторных исследований [20]. В 2021 г. зарегистрировано снижение уровня заболеваемости гриппом среди сравниваемых групп населения. В литературе описаны разные феномены, объясняющие подавляющее действие SARS-CoV-2 на вирусы гриппа и их конкурирующее взаимодействие [21]. При этом имеются работы, в которых антагонизм между этими двумя паразитарными системами в популяции исключается [22].

По литературным данным, удельный вес лабораторно подтверждённых случаев гриппа в структуре ОИВДП у госпитализированных больных не превышает 12,5–39 % [17, 20]. По результатам проведённого исследования, за период наблюдения доля лабораторно подтверждённого гриппа существенно не менялась и находилась в пределах 0,4–1,2 %. Показано, что с увеличением выявленных случаев гриппа снижается число ОИВДП ( $\rho = -0,68; p < 0,05$ ).

Анализ эпидемических сезонов гриппа продемонстрировал их отличия в многолетней динамике и на фоне распространения COVID-19. Данные изменения имеют важное эпидемиологическое и прогностическое значение. Об этом свидетельствуют результаты исследования, проведённого в 2023 г. коллективом авторов [3], где представлены апробированные новые критерии раннего выявления старта эпидемий гриппа, в которые заложено изучение характеристик эпидемических сезонов.

Тяжёлое течение гриппа и развитие осложнений, способность возбудителя к быстрому распространению и инфицированию больших групп людей затруд-

няют проведение лечебных и профилактических мероприятий, и вакцинопрофилактика остаётся наиболее эффективным из них [22]. В РФ для иммунизации против гриппа применяют широкий перечень вакцинных препаратов отечественного производства [8, 16, 21]. Для успешной реализации программ вакцинации необходимо усилить работу по формированию приверженности среди разных возрастных, социальных и профессиональных групп населения. Имеющиеся данные проведённых социологических исследований демонстрируют непопулярность вакцинации против гриппа [9].

Период, характеризующийся высокой интенсивностью эпидемического процесса гриппа в многолетней динамике, имел значительные изменения в подходах к вакцинации населения. В регионе отмечалось увеличение числа привитых до 61,7 % от численности населения. Однако между числом привитых и уровнями заболеваемости гриппом отмечалась прямая корреляционная связь. При этом на фоне проводимой вакцинации отмечено статистически значимое снижение заболеваемости ОИВДП. Вакцинация от гриппа в предэпидемический период уменьшает сезонную заболеваемость инфекций дыхательных путей другой этиологии за счёт активации врождённого иммунитета и повышает резистентность к другим острым респираторным инфекциям, что имеет высокую социально-экономическую значимость [18, 21, 22].

При построении модели линейной регрессии показано, что с увеличением охвата прививками против гриппа совокупного населения до рекомендуемого для групп риска (75 %) и выше (до 95 %), как и против вакциноуправляемых инфекций в целом, заболеваемость ОИВДП будет снижаться более значительно, что необходимо учитывать при планировании профилактических мероприятий.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В Иркутской области отмечена тенденция к росту заболеваемости ОИВДП и гриппом среди населения. Распространение инфекции COVID-19 существенно усугубило эпидемиологическую ситуацию: изменились возрастная структура заболевших, уровни заболеваемости и характеристики эпидемических сезонов. На фоне проводимой вакцинации против гриппа продемонстрировано значительное снижение заболеваемости ОИВДП среди совокупного населения и детей. Прогнозные расчёты свидетельствуют о необходимости увеличения регламентированных показателей охвата населения профилактическими прививками против гриппа.

Для эффективного планирования профилактических и противоэпидемических мероприятий необходимо своевременно регистрировать изменения в проявлениях эпидемических процессов изучаемых инфекций, в том числе развивающихся в условиях чрезвычайных ситуаций (пандемия COVID-19).

## Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Calderaro A, Buttrini M, Farina B, Montecchini S, De Conto F, Chezzi C. Respiratory tract infections and laboratory diagnostic methods: A review with a focus on syndromic panel-based assays. *Microorganisms*. 2022; (10): 1856. doi: 10.3390/microorganisms10091856
2. Li J, Song CL, Wang T, Ye YL, Du JR, Li SH, et al. Etiological and epidemiological characteristics of severe acute respiratory infection caused by multiple viruses and *Mycoplasma pneumoniae* in adult patients in Jinshan, Shanghai: A pilot hospital-based surveillance study. *PLoS One*. 2021; 16(3): e0248750. doi: 10.1371/journal.pone.0248750
3. Карпова Л.С., Пелих М.Ю., Волик К.М., Поповцева Н.М., Столярова Т.П., Лиознов Д.А. Оценка эффективности новых критериев раннего выявления старта и интенсивности эпидемий гриппа в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2023; 22(6): 4-18. [Karpova LS, Pelikh MYu, Volik KM, Popovtseva NM, Stolyarova TP, Lioznov DA. Evaluating the effectiveness of new criteria for early detection of the start and intensity of influenza epidemics in Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2023; 22(6): 4-18. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2023-22-6-4-18
4. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2023. [On the sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2022: State report. Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Protection and Welfare; 2023. (In Russ.)].
5. Monto AS, Fukuda K. Lessons from influenza pandemics of the last 100 years. *Clin Infect Dis*. 2020; 70(5): 951-957. doi: 10.1093/cid/ciz803
6. Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. Rethinking next-generation vaccines for coronaviruses, influenza viruses, and other respiratory viruses. *Cell Host Microbe*. 2023; 31(1): 146-157. doi: 10.1016/j.chom.2022.11.016
7. World Health Organization. *Ten threats to global health in 2019*. URL: <https://www.who.int/news-room/spotlight/ten-threats-to-global-health-in-2019> [date of access: 17.07.2024].
8. О мероприятиях по профилактике гриппа, острых респираторных вирусных инфекций и новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в эпидемическом сезоне 2023–2024 годов: Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 9 от 21.06.2023. [On measures to prevent influenza, acute respiratory viral infections and the new coronavirus infection (COVID-19) in the 2023–2024 epidemic season: Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation No. 9 dated June 21, 2023. (In Russ.)].
9. Петрова А.Г., Баянова Т.А., Ваняркина А.С., Рычкова Л.В. Мнение врачей о вакцинации: опасения и ожидания. *Журнал инфектологии*. 2020; 12(2): 104-112. [Petrova AG, Bayanova TA, Vanyarkina AS, Rychkova LV. Views of the physicians of different

specialities on the vaccination: Concerns and expectations. *Journal Infectology*. 2020; 12(2): 104-112. (In Russ.).

10. Кравченко Н.А., Казанова В.Б., Хакимова М.И., Гаврилова Т.А., Зайкова З.А., Ботвинкин А.Д. Динамика заболеваемости и этиологической структуры острых респираторных инфекций накануне и в первый год распространения COVID-19 в Иркутской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(3): 50-62. [Kravchenko NA, Kazanova VB, Khakimova MI, GavriloVA TA, Zaikova ZA, Botvinkin AD. Dynamics of morbidity and etiological structure of acute respiratory infections on the eve and in the first year of COVID-19 in the Irkutsk Region. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022; 21(3): 50-62. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2022-21-3-50-62

11. Слободенюк А.В., Бессергенева И.К., Косова А.А. Эпидемический процесс гриппа и ОРВИ в многолетней динамике и в условиях пандемии COVID-19 в Екатеринбурге. *Вестник УГМУ*. 2023; (3): 61-73. [Slobodenyuk AV, Bessergeneva IK, Kosova AA. The epidemic process of influenza and ARVI in long-term dynamics and in the context of the COVID-19 pandemic in Ekaterinburg. *Bulletin of USMU*. 2023; (3): 61-73. (In Russ.)].

12. Блох А.И., Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Егорова О.Ф., Манохина Х.А., Абдрашитова Л.В., и др. Анализ причин и условий формирования высокой заболеваемости острыми респираторными инфекциями (ОРИ) населения Алтайского края (Сообщение 1. Особенности многолетней и внутригодовой динамики заболеваемости ОРИ в 2011–2021 гг.). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2023; 22(6): 33-43. [Blokh AI, Pen'evskaya NA, Rudakov NV, Egorova OF, Manokhina KhA, Abdrashitova LV, et al. Analysis of the causes and conditions for the formation of a high incidence of acute respiratory infections (ARI) in the population of the Altai Krai (Part 1. Features of long-term and intra-annual dynamics of ARI incidence in 2011–2021). *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2023; 22(6): 33-43. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2023-22-6-33-43

13. Слись С.С., Ковалев Е.В., Кононенко А.А., Сергиенко О.В., Янович Е.Г., Водопьянов А.С., и др. Особенности многолетней динамики заболеваемости населения Ростовской области острыми респираторными вирусными инфекциями и гриппом. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО*. 2021; (1): 63-70. [Slis SS, Kovalev EV, Kononenko AA, Sergienko OV, Yanovich EG, Vodopyanov AS, et al. Features of long-term incidence rates of acute viral upper respiratory tract infections and influenza in the population of the Rostov Region. *Public Health and Life Environment – PH&LE*. 2021; (1): 63-70. (In Russ.)]. doi: 10.35627/2219-5238/2021-334-1-63-70

14. Курская О.Г., Аношина А.В., Леонова Н.В., Симкина О.А., Комиссарова Т.В., Есикова Е.Ю., и др. Этиология гриппоподобных заболеваний у населения Новосибирска во время эпидемического сезона 2018–2019 гг. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11(4): 723-736. [Kurskaya OG, Anoshina AV, Leonova NV, Simkina OA, Komissarova TV, Esikova EY, et al. Etiology of influenza-like illnesses in the population of Novosibirsk city in the 2018–2019 epidemic season. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11(4): 723-736. (In Russ.)]. doi: 10.15789/2220-7619-EOI-1439

15. Пшеничная Н.Ю., Журавлев Г.Ю., Лизинфельд И.А., Акимкин В.Г., Морозова Н.С., Малеев В.В. Влияние численности населения и географических факторов на заболеваемость острыми респираторными инфекциями в I полугодии 2020 г. в регионах Российской Федерации в период пандемии

COVID-19. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2021; 11(2): 6-12. [Pshenichnaya NYu, Zhuravlev GYu, Lizinfeld IA, Akimkin VG, Morozova NS, Maleyev VV. The impact of population size and geographical factors on the incidence of acute respiratory infections in the first half of 2020 in the regions of the Russian Federation during the COVID-19 pandemic. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2021; 11(2): 6-12. (In Russ.)].

16. Игнатова Г.Л., Антонов В.Н. Актуальность профилактики гриппа и пневмококковой инфекции в период продолжающейся пандемии COVID-19. *Consilium Medicum*. 2021; 23(3): 275-279. [Ignatova GL, Antonov VN. The actuality of preventing influenza and pneumococcal infection during the ongoing COVID-19 pandemic. *Consilium Medicum*. 2021; 23(3): 275-279. (In Russ.)]. doi: 10.26442/20751753.2021.3.200765

17. Соминина А.А., Смородинцева Е.А., Столяров К.А., Мельникова А.А. Совершенствование системы надзора за гриппом в Российской Федерации: основные результаты сигнального надзора за гриппом и другими острыми респираторными вирусными инфекциями. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(1): 7-15. [Sominina AA, Smorodintseva EA, Stolyarov KA, Mel'nikova AA. Enhancement of the influenza surveillance system in the Russian Federation: The main results of the sentinel surveillance for influenza and other acute respiratory viral infections. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2017; 16(1): 7-15. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-7-15

18. Булгакова В.А., Селимзянова Л.Р., Привалова Т.Е., Юсупова Д.А. Вакцинопрофилактика гриппа у детей раннего возраста – обзор фактических данных. *Лечащий врач*. 2022; 10(25): 55-61. [Bulgakova VA, Selimzyanova LR, Privalova TE, Yusupova DA. Immunisation of young children against influenza – evidence review. *Lechaschi Vrach*. 2022; 10(25): 55-61. (In Russ.)]. doi: 10.51793/OS.2022.25.10.009

19. Бурцева Е.И., Панова А.Д., Колобухина Л.В., Игнатьева А.В., Кириллова Е.С., Бреслав Н.В., и др. Эпидемический сезон 2021–2022 годов. Частота ко-инфекции респираторными вирусными патогенами. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2023; 28(2): 67-77. [Burtseva EI, Panova AD, Kolobukhina LV, Ignatjeva AV, Kirillova ES, Breslav NV, et al. Epidemic season 2021–2022: Frequency of co-infection by respiratory viral pathogens. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2023; 28(2): 67-77. (In Russ.)]. doi: 10.17816/EID321873

20. Гужов Д.А., Елпаева Е.А., Егорова М.А., Едер В.А., Барановская И.Л., Клотченко С.А., и др. Эпидемиологические и клинические характеристики острых респираторных инфекций в Санкт-Петербурге в эпидемические сезоны 2017–2018 гг. и 2018–2019 гг. *Журнал инфектологии*. 2020; 12(4): 65-71. [Guzhov DA, Elpaeva EA, Egorova MA, Eder VA, Baranovskaya IL, Klotchenko SA, et al. Epidemiological and clinical features of acute respiratory infections occurring in St. Petersburg during the 2017–2018 and 2018–2019 epidemic seasons. *Journal Infectology*. 2020; 12(4): 65-71. (In Russ.)]. doi: 10.22625/2072-6732-2020-12-4-65-71

21. Ерофеева М.К., Максакова В.Л., Шахланская Е.В., Бузицкая Ж.В., Крайнова Т.И., Стукова М.А. Профилактическая эффективность гриппозных вакцин в современных условиях (обзор литературы). *Фарматека*. 2020; (1): 7-13. [Erofeeva MK, Maksakova VL, Shakhlan'skaya EV, Buzitskaya ZhV, Krainova TI,

Stukova MA. Preventive efficacy of influenza vaccines in modern conditions (literature review). *Farmateka*. 2020; (1): 7-13. (In Russ.]. doi: 10.18565/pharmateca.2020.1.7-13

22. Шахтагинская Ф.Ч., Намазова-Баранова Л.С., Федосеев М.В., Калюжная Т.А. Актуальные вопросы вакцинопро-

филактики гриппа. *Вопросы современной педиатрии*. 2021; 20(4): 333-337. [Shakhtakhtinskaya FCh, Namazova-Baranova LS, Fedoseenko MV, Kaliuzhnaia TA. Topical issues of influenza vaccine prevention. *Current Pediatrics*. 2021; 20(4): 333-337. (In Russ.]]. doi: 10.15690/vsp.v20i4.2291

#### Сведения об авторах

**Баянова Татьяна Александровна** – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: bayanova\_tanya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4289-3460>

**Зарва Иван Дмитриевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ivan\_zarva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4225-5998>

**Кравченко Наталья Александровна** – ассистент кафедры эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tasha\_v\_gorode@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9839-6629>

**Стукова Екатерина Сергеевна** – врач-эпидемиолог, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», e-mail: katya.stu.med@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-6406-3353>

#### Information about the authors

**Tatiana A. Bayanova** – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Epidemiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: bayanova\_tanya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4289-3460>

**Ivan D. Zarva** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Epidemiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: ivan\_zarva@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4225-5998>

**Natalya A. Kravchenko** – Teaching Assistant at the Department of Epidemiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: tasha\_v\_gorode@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9839-6629>

**Ekaterina S. Stukova** – Epidemiologist, Center for Hygiene and Epidemiology in the Irkutsk Region, e-mail: katya.stu.med@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0002-6406-3353>

---

Формат А4 (60x84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 05.11.2024.  
Подписано в печать 19.11.2024, дата выхода в свет 22.11.2024.  
Печ. л. 34. Усл. печ. л. 31,6. Уч. изд. л. 29,8. Зак. 040-24. 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



