ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)
16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Том 9
№ 6
2024



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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Том 9
№ 6
2024

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

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

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

Журнал включён в Реферативный журнал и базу данных 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

© ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 2024 г.
© Оригинал-макет РИО ИНЦХТ, 2024 г.

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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 9
N 6
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*); Belokrinitskaya T.E., Dr. Sc. (Med.), Professor (*Russia, Chita*); Bokhan N.A., Member of RAS (*Russia, Tomsk*); Byvaltsev V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (*Russia, Irkutsk*); Danchinova G.A., Dr. Sc. (Biol.) (*Russia, Irkutsk*); Dubrovina V.I., Dr. Sc. (Biol.) (*Russia, Irkutsk*); Dygai A.M., Member of RAS (*Russia, Tomsk*); 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*); Epshtein 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

© Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, 2024
© Compart perfomed by Publishing Department of ISCST, 2024

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА
EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА К № 6 (2024)

Колесников Сергей Иванович

Академик РАН

Итоговый выпуск журнала Acta biomedica scientifica в 2024 году представляет особую ценность как средство обмена научными знаниями и достижениями, в том числе с зарубежными специалистами.

В текущем выпуске журнала опубликована статья авторов из Индии. M.V. Patil и соавт. представили материал о лечении ран модифицированным гелем куркумина и наночастиц меди на основе ксантановой камеди. Гель показал значительную антибактериальную и ранозаживляющую активность за счёт синергического действия *Tinospora cordifolia*, куркумина и наночастиц Cu^{++}.

Хотелось бы также отметить статью, представленную авторами из Института биофизики будущего и Института биофизики клетки РАН. Авторами изучалось геропротекторное действие 10 биологически активных веществ (БАВ), из лекарственных растений Алтайского края России и их влияние на накопление кишечного аутофлуоресцентного материала (ИАМ) с использованием модели *Caenorhabditis elegans*. Установлено, что накопление ИАМ обратно пропорционально продолжительности жизни. Таким образом, исследованные БАВ могут служить основой для разработки геропротекторных препаратов.

В выпуск вошли статьи наших постоянных авторов, ведущих свою деятельность в области хирургии. Представили свои исследования несколько коллективов ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». В работе Е.Е. Чепурных и соавт. исследовано влияние препарата «Серогард» на АТФ-азную активность и показатели перекисного окисления в ткани печени при экспериментальном перитоните. С.Н. Ларионовым и соавт. оценена эффективность лазерной нуклеопластики и радиочастотной нейромодуляции корешковых нервов и ганглиев в лечении дискогенных поясничных радикулопатий. А.П. Животенко и соавт. исследовали зону ламинэктомии и трансформацию эпидурального фиброза при использовании оригинальных гелей в эксперименте.

Опубликован также и ряд других исследований и обзоров литературы данного направления. Так интересный материал представлен авторами из Волгограда (Маскин С.С. и соавт.), которые доказали недостаточную эффективность вакуумной лапаростомии по сравнению с программированной релапаротомией при распространённом гнойном перитоните и абдоминальном сепсисе. Данные позволяют значительно сократить экономическую нагрузку на здравоохранение по данному направлению.

Наш постоянный раздел – офтальмология – также пополнился новыми исследованиями. Авторами из Иркутска (Швец Л.В., Юрьева Т.Н.) по данным структурной оптической когерентной томографии выявлены дегенеративные изменения проводящих путей зрительного анализатора у пациентов с рассеянным склерозом даже при отсутствии жалоб и клинически выраженных нарушений зрительных функций.

Ещё одна статья офтальмологов из трёх городов России – Иркутск, Санкт-Петербург и Пушкин – описывает факторы риска возникновения нежелательных геморрагических явлений во время выполнения регионарного обезболивания при хирургическом лечении патологии сетчатки у больных сахарным диабетом, находящихся на программном гемодиализе.

Здоровье детей разных возрастов – одна из основных проблем системы здравоохранения, особенно на фоне пандемии COVID-19, когда возникает всё больше вопросов о его последствиях. Коллективом авторов ФГБНУ «На-

учный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (Иркутск) сделана попытка выявить прогностические критерии течения инфекционного процесса по оценке уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов и особенностям иммунного реагирования у новорождённых в острый период новой коронавирусной инфекции. Выявлено угнетение системы врождённого иммунитета, что требует дальнейших исследований в этом направлении и повышенного внимания педиатров к данной категории детей.

Актуальны для здравоохранения не только COVID-19, но и другие инфекционные заболевания. Исследования клещевых инфекций представлены в двух статьях. Это авторы из п. Кольцово Новосибирской области и г. Улан-Удэ (Карташов М.Ю. и соавт.), которые дали молекулярно-генетическую характеристику вариантов *YGTV*, обнаруженных в клещах *Dermacentor nuttalli* Ol. на территории Бурятии, а также авторы из Иркутска (Сунцова О.В. и соавт.), исследовавшие иксодовых клещей как переносчиков и возбудителей бабезиозов человека и животных.

Это далеко не полный список статей, представленных в номере. Более подробно со всеми работами можно ознакомиться на сайте журнала.

В завершение работы над выпуском и года в целом от лица всего коллектива хотел бы пожелать нашим авторам и рецензентам в Новом, 2025, году здоровья, благополучия, новых перспектив и открытий в Вашей научной деятельности!

Большое спасибо всем авторам за помощь в создании журнала и особенная благодарность – рецензентам, которые существенно улучшают качество публикаций и помогают создавать в нашем журнале добрую рабочую атмосферу.

С Новым годом! Новых плодотворных исследований и находок!

Для цитирования: Колесников С.И. Предисловие главного редактора к № 6 (2024). *Acta biomedica scientifica.* 2024; 9(6): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.1

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 6, 2024

Sergey I. Kolesnikov

Member of the RAS

The final issue of Acta biomedica scientifica in 2024 is of particular value as a means of exchanging scientific knowledge and achievements with colleagues, including foreign experts.

The current issue contains article of the authors from India. The work by M.V. Patil et al. presents data on the treatment of wounds using modified xanthan gum-based gel incorporating curcumin and a solution of copper nanoparticles. The gel showed significant antibacterial and wound-healing activity due to the synergistic action of *Tinospora cordifolia*, curcumin and Cu^{++} nanoparticles.

I would also like to draw your attention to the article presented by the researchers from the Institute of Future Biophysics and the Institute of Cell Biophysics of the RAS. The authors studied the geroprotective effect of 10 biologically active substances (BAS) isolated from medicinal plants of the Altai Region of Russia and their effect on the accumulation of intestinal autofluorescence material (IAM) using the *Caenorhabditis elegans* model. It has been established that IAM accumulation is inversely proportional to longevity. Thus, the studied BAS can serve as a basis for the development of geroprotective drugs.

The issue includes articles by our regular authors, who are engaged in surgical research. Several groups of authors from Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology presented the results of their research. The article by E.E. Chepurnykh et al. presents the study of the effect of the drug "Seroguard" on ATPase activity and peroxidation indices in liver tissue in experimental peritonitis. S.N. Larionov et al. assessed the effectiveness of laser nucleoplasty and radiofrequency neuromodulation of radicular nerves and ganglia in the treatment of discogenic lumbar radiculopathy. A.P. Zhivotenko et al. studied the laminectomy zone and transformation of epidural fibrosis using original gels in an experiment.

A number of other studies and literature reviews in this area have also been published. An interesting data is presented by the authors from Volgograd (Maskin S.S. et al.), who proved the insufficient effectiveness of vacuum-assisted laparostomy compared to planned relaparotomy in widespread purulent peritonitis and abdominal sepsis. The data allow us to significantly reduce the economic burden on healthcare in this area.

Our regular section – ophthalmology – has also been replenished with new studies. Authors from Irkutsk (Shvets L.V., Iureva T.N.) based on the structural optical coherence tomography data revealed degenerative changes in the pathways of the visual analyzer in patients with multiple sclerosis, even in the absence of complaints and clinically expressed visual impairment. Another article by ophthalmologists from Irkutsk, Saint Petersburg and Pushkin describes the risk factors for the occurrence of adverse hemorrhagic events during regional anesthesia in surgical treatment of retinal pathology in patients with diabetes mellitus undergoing programmed hemodialysis.

Children's health is one of the main problems of the healthcare system, especially against the background of the COVID-19 pandemic, when more and more questions arise about its consequences. A group of authors from the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Irkutsk) made an attempt to identify prognostic criteria for the course of the infectious process by assessing the level of pro- and anti-inflammatory cytokines and the characteristics of the immune response in newborns during

the acute period of a new coronavirus infection. Suppression of the innate immune system was revealed, which requires further research in this area and increased attention from pediatricians to this category of children.

Not only COVID-19, but also other infectious diseases are relevant for healthcare. Tick-borne infection studies are presented in two articles. These are authors from Koltsovo in the Novosibirsk Region and Ulan-Ude (Kartashov M.Yu. et al.), who gave a molecular genetic characterization of *YGTV* variants found in *Dermacentor nuttalli* Ol. ticks in Buryatia, and the authors from Irkutsk (Suntsova O.V. et al.), who studied ixodid ticks as carriers and causative agents of babesiosis in humans and animals.

This is not a complete list of articles presented in the issue. More detailed information about all the works can be found on the website of Acta biomedica scientifica.

To conclude the work on this issue and the year as a whole, on behalf of the entire team, I would like to wish our authors and reviewers health, well-being, new prospects and discoveries in your scientific work in the New Year of 2025! Many thanks to all the authors for their help in creating the journal and special thanks to the reviewers, who significantly improve the quality of publications and help to create a good working atmosphere in our journal.

Happy New Year! We wish you fruitful researches and discoveries!

For citation: Kolesnikov S.I. Editor-in-Chief's preface to Issue 6, 2024. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.1

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие главного редактора к № 6 (2024). *Колесников С.И.* 5

БИОХИМИЯ

Влияние ацетата меди на метаболизм гепатоцитов in vitro. *Трухан И.С., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А.* 12

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА

Эпигенетическая модуляция в медицине: регуляция генной экспрессии в контексте патогенеза и терапии. *Омаров М.А., Мулюков А.Р., Халитов Р.В., Сафаров С.И., Аюпова Г.У., Демьяненко О.Н., Бутенко В.В., Сафронова А.А., Зайнетдинова Р.Р., Янтурина О.Ю., Мирошников А.А.* 22

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

High seroprevalence to SARS-CoV-2 among healthcare and non-healthcare workers of the ophthalmology center. *Palyanova N.V., Chechenin M.G., Trunov A.N., Sobolev I.A., Shestopalov A.M.* 34

Провоспалительные и противовоспалительные цитокины у новорождённых детей в острый период новой коронавирусной инфекции. *Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Шолохов Л.Ф., Ахмедзянова М.Р., Семёнова Н.В., Новикова Е.А., Хархорина А.А., Колесникова Л.И.* 44

Прогнозирование риска развития лекарственного поражения печени при терапии ремдесивиром у пациентов с COVID-19 с помощью машинного обучения. *Шевчук Ю.В., Шамигулов И.И., Сычев И.В., Крюков А.В., Темирбулатов И.И., Мирзаев К.Б., Денисенко Н.П., Абдуллаев Ш.П., Тучкова С.Н., Вечорко В.И., Аверков О.В., Сычев Д.А.* 52

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Новые стратегии лечения инфекций, вызванных биоплёнкопродуцирующими *Klebsiella pneumoniae*. *Фадеева Т.В., Невежина А.В.* 63

Обнаружение и молекулярно-генетическая характеристика сегментированного флавиподобного вируса Янггоу в клещах *Dermacentor nuttalli* Ol. (1929) на территории Бурятии. *Карташов М.Ю., Ханхареев С.С., Кривошеина Е.И., Свирин К.А., Курушина В.Ю., Терновой В.А.* 76

CONTENTS

EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Editor-in-chief's preface to Issue 6, 2024. *Kolesnikov S.I.* 5

BIOCHEMISTRY

The effect of copper acetate on hepatocyte metabolism *in vitro*. *Trukhan I.S., Dremina N.N., Shurygina I.A.* 12

GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

Epigenetic modulation in medicine: Regulation of gene expression in the context of pathogenesis and therapy. *Omarov M.A., Mulyukov A.R., Khalitov R.V., Safarov S.I., Ayupova G.U., Demianenko O.N., Butenko V.V., Safronova A.A., Zainetdinova R.R., Ianturina O.Yu., Miroshnikov A.A.* 22

INFECTIOUS DISEASES

Высокая серопревалентность к SARS-CoV-2 среди медицинских и немедицинских работников офтальмологического центра. *Пальянова Н.В., Чеченин М.Г., Трунов А.Н., Соболев И.А., Шестопалов А.М.* 34

Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in neonates during the acute period of novel coronavirus infection. *Moskaleva E.V., Petrova A.G., Rychkova L.V., Sholokhov L.F., Akhmedzyanova M.R., Semenova N.V., Novikova E.A., Kharkhorina A.A., Kolesnikova L.I.* 44

Predicting the risk of developing drug-induced liver injury during remdesivir therapy in COVID-19 patients using machine learning. *Shevchuk Yu.V., Shamigulov I.I., Sychev I.V., Kryukov A.V., Temirbulatov I.I., Mirzaev K.B., Denisenko N.P., Abdullaev Sh.P., Tuchkova S.N., Vechorko V.I., Averkov O.V., Sychev D.A.* 52

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

New strategies for the treatment of infections caused by biofilm-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Fadeeva T.V., Nevezhina A.V.* 63

Detection and molecular genetic characterization of segmented flavi-like Yanggou virus in *Dermacentor nuttalli* Ol. (1929) ticks in Buryatia. *Kartashov M.Yu., Khankhareev S.S., Krivosheina E.I., Svirin K.A., Kurushina V.Yu., Ternovoi V.A.* 76

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Андрологические аспекты эффектов агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона в эксперименте и клинике. *Майбородин И.В., Шеплев Б.В.* 85

Использование актиграфии для оценки характеристик сна. *Трусов Г.А., Коробейникова А.В., Гетманцева Л.В., Бакоев С.Ю., Ломов А.Н., Кескинов А.А., Юдин В.С.* 100

Липокалин, связанный с желатиназой нейтрофилов, матриксные металлопротеиназы 2 и 9 в патогенезе острого повреждения почек при термических ожогах кожи. *Коновалова А.А.* 111

Современные представления о роли иммунного статуса и гемостаза в патогенезе сепсиса. *Осиков М.В., Телешева Л.Ф., Конашов А.Г., Гусев А.В., Конашов В.А.* 118

Содержание продуктов липопероксидации и активность супероксиддисмутазы в крови у женщин в зависимости от уровня фосфатидилэтанола в первом триместре беременности. *Новикова Е.А., Семёнова Н.В., Карачева А.Н., Никитина О.А., Марянян А.Ю., Баирова Т.А., Бельских А.В., Беляева Е.В., Самбялова А.Ю., Ершова О.А., Колесникова Л.И.* 130

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Andrological aspects of the effects of gonadotropin-releasing hormone agonists in experiment and clinic. *Maiborodin I.V., Sheplev B.V.*

Using actigraphy to assess sleep characteristics. *Trusov G.A., Korobeinikova A.V., Getmantseva L.V., Bakoev S. Yu., Lomov A.N., Keskinov A.A., Yudin V.S.*

Lipocalin associated with neutrophil gelatinase, matrix metalloproteinases 2 and 9 in the pathogenesis of acute kidney injury in thermal skin burns. *Konovalova A.A.*

Modern ideas of the role of the immune process and hemostasis in the pathogenesis of sepsis. *Osikov M.V., Telesheva L.F., Konashov A.G., Gusev A.V., Konashov V.A.*

Lipid peroxidation products and superoxide dismutase activity in women depending on the phosphatidylethanol level in the first trimester of pregnancy. *Novikova E.A., Semenova N.V., Karacheva A.N., Nikitina O.A., Marianian A.Yu., Bairova T.A., Belskikh A.V., Belyaeva E.V., Sambyalova A.Yu., Ershova O.A., Kolesnikova L.I.*

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ

Эффективность лазерной нуклеопластики и радиочастотной нейромодуляции в лечении дискогенной поясничной радикулопатии. *Ларионов С.Н. , Животенко А.П., Сороковиков В.А., Горбунов А.В., Потапов В.Э.* 138

NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

Efficacy of laser nucleoplasty and radiofrequency neuromodulation in the treatment of discogenic lumbar radiculopathy. *Larionov S.N., Zhivotenko A.P., Sorokovikov V.A., Gorbunov A.V., Potapov V.E.*

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Выявление предикторов риска возникновения нежелательных геморрагических явлений во время хирургических вмешательств на сетчатке у больных сахарным диабетом, находящихся на гемодиализе. *Олещенко И.Г., Маньков А.В., Заболотский Д.В., Кузьмин С.В.* 149

Оценка проводящих путей зрительного анализатора с помощью диффузно-тензорной МРТ и оптической когерентной томографии у пациентов с рассеянным склерозом. *Швец Л.В., Юрьева Т.Н.* 156

OPHTHALMOLOGY

Identification of risk predictors of undesirable hemorrhagic phenomena during retinal surgery in patients with diabetes mellitus on hemodialysis. *Oleshchenko I.G., Mankov A.V., Zabolotskii D.V., Kuzmin S.V.*

Assessment of the pathways of the visual analyzer using diffuse tensor MRI and optical coherence tomography in patients with multiple sclerosis. *Shvets L.V., Iureva T.N.*

ПЕДИАТРИЯ

Медицинские проблемы трудностей в обучении школьников. *Ткачук Е.А., Прохорова Ж.В., Черевикова И.А., Вотинева А.С., Рычкова Л.В.* 166

PEDIATRICS

Medical problems of learning difficulties in schoolchildren. *Tkachuk E.A., Prokhorova Zh.V., Cherevikova I.A., Votineva A.S., Rychkova L.V.*

ТРАВМАТОЛОГИЯ

Реконструкция верхней капсулы плечевого сустава при массивных разрывах сухожилий вращатель-

TRAUMATOLOGY

Reconstruction of the superior capsule of the shoulder joint in massive ruptures of the rotator cuff tendons

ной манжеты плеча (обзор литературы). *Слайковский Е.Н., Куклин И.А., Меньшова Д.В.* 176

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ

Mitigation of intestinal autofluorescence accumulation in *Caenorhabditis elegans* treated with plant-based natural products. *Salimon S.S., Marusich E.I., Leonov S.V., Pustovalova M.V.* 184

Modified xanthan gum-based gel of curcumin and copper nanoparticles prepared from *Tinospora cordifolia* for wound therapy. *Patil M.V., Singla N.* 195

ХИРУРГИЯ

Первые результаты сравнительного анализа по применению вакуум-ассистированной лапаростомии и программированной релапаротомии у больных с распространённым гнойным перитонитом в результате ургентной патологии и травмы живота. *Маскин С.С., Дербенцева Т.В., Александров В.В., Матюхин В.В., Карсанов А.М., Гольбрайх В.А., Климович И.Н., Фетисов Н.И., Пароваткин М.И., Надельнюк Я.В., Пономарев К.Э., Павлов А.В., Рашид А., Сигаев С.М., Бирюлев Д.С., Овсянникова М.П., Шмырев К.А., Подуруева-Милоевич В.Ю.* 204

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Болезнь Легга – Кальве – Пертеса: модификация экспериментальной модели и её морфологические критерии. *Сертакова А.В., Ульянов В.Ю., Садчиков Д.Д.* 218

Динамика АТФ-азной активности и показателей перекисного окисления липидов в ткани печени при экспериментальном перитоните при использовании препарата «Серогард». *Чепурных Е.Е., Богородская С.Л., Шурыгина И.А., Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Шурыгин М.Г.* 228

Тестирование перспективного геля для профилактики эпидурального фиброза в эксперименте на модели ламинэктомии. *Животенко А.П., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Гольдберг О.А., Ларионов С.Н., Сороковиков В.А.* 239

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Иксодовые клещи как переносчики возбудителей бабезиозов человека и животных в Прибайкалье. *Сунцова О.В., Рар В.А., Мельцов И.В., Лисак О.В., Дорощенко Е.К., Козлова И.В.* 249

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ

Ко дню рождения академика РАН Любови Ильиничны Колесниковой 258

(literature review). Slaykovskiy E.N., Kuklin I.A., Menshova D.V.

PHARMACOLOGY AND PHARMACY

Снижение накопления аутофлюоресценции кишечника у *Caenorhabditis elegans* при лечении натуральными продуктами на растительной основе. *Салимон С.С., Марусич Е.И., Леонов С.В., Пустовалова М.В.*

Использование геля на основе модифицированной ксантановой камеди с куркумином и наночастицами меди, полученными из *Tinospora cordifolia*, для лечения ран. *Патил М.В., Сингла Н.*

SURGERY

The first results of a comparative analysis of the use of vacuum-assisted laparostomy and planned relaparotomy in patients with widespread purulent peritonitis as a result of urgent pathology and abdominal trauma. *Maskin S.S., Derbentseva T.V., Aleksandrov V.V., Matyukhin V.V., Karsanov A.M., Golbraikh V.A., Klimovich I.N., Fetisov N.I., Parovatkin M.I., Nadelnyuk Ya.V., Ponomarev K.E., Pavlov A.V., Rachid A., Sigaev S.M., Biriulev D.S., Ovsyannikova M.P., Shmyrev K.A., Podurueva-Miloevich V.Yu.*

EXPERIMENTAL RESEARCHES

Legg – Calve – Perthes disease: Modification of the experimental design and its morphological criteria. *Sertakova A.V., Ulyanov V.Yu., Sadchikov D.D.*

Dynamics of ATPase activity and lipid peroxidation indicators in liver tissue in experimental peritonitis using the drug "Seroguard". *Chepurnykh E.E., Bogorodskaya S.L., Shurygina I.A., Rodionova L.V., Samoilova L.G., Shurygin M.G.*

Testing of a promising gel for the prevention of epidural fibrosis in an experiment on a laminectomy model. *Zhivotenko A.P., Shurygina I.A., Shurygin M.G., Goldberg O.A., Larionov S.N., Sorokovikov V.A.*

EPIDEMIOLOGY

Ixodes ticks as carriers of human and animal babesiosis agents in the Baikal region. *Suntsova O.V., Rar V.A., Meltsov I.V., Lisak O.V., Doroshchenko E.K., Kozlova I.V.*

HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES

On the birthday of the Member of the Russian Academy of Sciences Lyubov Kolesnikova

БИОХИМИЯ
BIOCHEMISTRY

ВЛИЯНИЕ АЦЕТАТА МЕДИ НА МЕТАБОЛИЗМ ГЕПАТОЦИТОВ *IN VITRO*

Трухан И.С.,
Дремина Н.Н.,
Шурыгина И.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Трухан Ирина Сергеевна,
e-mail: predel4@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Ионы меди необходимы для поддержания базовых физиологических процессов в организме млекопитающих. Однако их избыточное поглощение или накопление в клетках может приводить к развитию или обострению различных патологических процессов. Цитотоксическое и генотоксическое воздействие высоких концентраций соединений меди в настоящее время хорошо изучено на различных клеточных культурах, тогда как влияние нетоксичных количеств ионов меди на физиологические процессы в клетках, в том числе в ходе их культивирования, исследовано крайне слабо.*

Цель исследования*. Изучить влияние ионов меди на изменения внутриклеточного содержания митохондриальной цитохром-С-оксидазы и глутатионсинтетазы.*

Методы*. Была получена первичная культура гепатоцитов, которую в течение суток подвергали воздействию ацетатом меди в концентрации 200 мкг/мл в пересчёте на содержание меди. После фиксации образцы окрашивали иммуноцитохимически с использованием антител к субъединице I цитохром-С-оксидазы (CcO) и глутатионситетазе (GS).*

Результаты*. Было продемонстрировано статистически значимое увеличение интенсивности флуоресцентной окраски обоих анализируемых ферментов как после 6 ч, так и после 24 ч воздействия ионами меди, что свидетельствует об изменении их количества в клетках. При этом увеличение количества CcO было более интенсивным в первые 6 ч инкубации с микроэлементом, тогда как в последующие 18 ч изменения во внутриклеточном содержании CcO носили менее выраженный характер. В то же время повышение интенсивности флуоресцентной окраски GS было более активным и наблюдалось на протяжении всего времени культивирования.*

Заключение*. Из полученных результатов можно сделать выводы о том, что ионы меди в нетоксичной концентрации могут влиять на ключевые показатели жизнеспособности клеток в культуре, изменяя количество одного из основных ферментов энергетического обмена и фермента, обеспечивающего синтез важнейшего низкомолекулярного антиоксиданта глутатиона.*

Ключевые слова: *культура гепатоцитов, ацетат меди, цитохром-С-оксидаза, глутатионсинтетаза*

Статья поступила: 17.10.2024
Статья принята: 06.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Трухан И.С., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А. Влияние ацетата меди на метаболизм гепатоцитов *in vitro*. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 12-21. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.2

THE EFFECT OF COPPER ACETATE ON HEPATOCYTE METABOLISM *IN VITRO*

Trukhan I.S.,
Dremina N.N.,
Shurygina I.A.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
(Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Irina S. Trukhan,
e-mail: predel4@yandex.ru

ABSTRACT

Background. *Copper ions are necessary for maintaining basic physiological processes in the mammalian organism. However, their excessive absorption or accumulation in cells can lead to the development or exacerbation of various pathological processes. The cytotoxic and genotoxic effects of high concentrations of copper compounds are currently well studied in various cell cultures, whereas the effect of non-toxic amounts of copper ions on physiological processes in cells, including during their cultivation, has been extremely poorly studied.*

The aim of the study. *To investigate the effect of copper ions on changes in the intracellular amount of mitochondrial cytochrome C oxidase and glutathione synthetase.*

Materials and methods. *A primary culture of hepatocytes was obtained, which was exposed to copper acetate at a concentration of 200 μg/ml in terms of copper content for 24 hours. After fixation, the samples were stained immunocytochemically using antibodies to cytochrome C oxidase (CcO) subunit I and glutathione synthetase (GS).*

Results. *In hepatocyte culture, a significant increase in the intensity of fluorescent staining of the two analyzed enzymes was demonstrated both after 6 hours and after 24 hours of exposure to copper ions, which indicates a change in their number in cells. At the same time, the increase in the amount of CcO was more intense in the first 6 hours of incubation with a microelement, whereas in the next 18 hours, changes in the intracellular content of CcO were less pronounced. The increase in the intensity of the GS fluorescent stain was more active and was observed throughout the entire cultivation period.*

Conclusion. *From the results obtained, it can be concluded that copper ions in non-toxic concentrations are able to influence key indicators of cell viability in culture by changing the amount of one of the main energy metabolism enzymes and the enzyme that provides synthesis of the most important low-molecular antioxidant glutathione.*

Key words: *hepatocyte culture, copper acetate, cytochrome C oxidase, glutathione synthetase*

Received: 17.10.2024
Accepted: 06.12.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Trukhan I.S., Dremina N.N., Shurygina I.A. The effect of copper acetate on hepatocyte metabolism *in vitro*. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 12-21. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.2

ВВЕДЕНИЕ

Медь является одним из основных микроэлементов, необходимых млекопитающим для нормального развития. Известно, что взрослый человек потребляет в среднем от 0,6 до 1,6 мг меди в сутки при общем уровне всасывания элемента в кишечнике 20–75 %. При этом для взрослого человека безопасной суточной дозой этого микроэлемента считается 10–12 мг [1]. Благодаря способности находиться в двух окислительно-восстановительных состояниях ионы меди могут выполнять роль каталитических кофакторов для различных ферментов, к которым относятся цитохром-С-оксидаза, один из ключевых ферментов окислительного фосфорилирования; супероксиддисмутаза, тирозиназа и глутатионсинтетаза, участвующие в антиоксидантной защите клеток; фосфодиэстераза 3В, обеспечивающая липолиз; ферроксидаза, необходимая для поглощения железа; бета-гидроксилаза дофамина, катализирующая синтез норадреналина из дофамина; лизилоксидаза, участвующая в ремоделировании тканей [2]. Кроме того, активность некоторых ферментов, для выполнения каталитических функций которых Cu^{2+} не требуется, может модулироваться ионами меди. Примерами таких ферментов, активность которых связана с содержанием ионов меди в клетке, являются некоторые киназы, в том числе MAP2K1/MEK1 и MAP2K2 (mitogen-activated protein kinase 1, 2), ULK1 и ULK2 (unc-51 like autophagy activating kinase 1, 2), PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase 1), а также факторы транскрипции TP53/p53 [2]. Это свидетельствует о том, что данный микроэлемент необходим для основных физиологических процессов, обеспечивающих жизнедеятельность клетки, и его недостаток в организме может приводить к развитию патологических состояний.

Тем не менее, нарушение гомеостаза меди в сторону избыточного поглощения или накопления в клетках этого элемента также может стать причиной развития различных заболеваний или вызвать обострение патологических процессов. Так, высокое содержание ионов меди было обнаружено в бета-амилоидных бляшках, являющихся одним из основных признаков болезни Альцгеймера [3]. Высокие уровни меди в сыворотке крови были описаны при различных видах рака, таких как рак молочной железы, лёгких, печени, предстательной железы, полости рта, щитовидной железы, колоректальный рак [3]. Однако, несмотря на то, что поступление избыточных количеств меди может вызывать нарушение функций всех систем жизнедеятельности, органом, который несёт наибольшую токсическую нагрузку при патологическом накоплении меди в организме, является печень. Известно, что хронический медный токсикоз может приводить к дегенерации печени, циррозу и в наиболее тяжёлых случаях вызывать гибель пациента. Нарушения в функционировании печени и повреждения токсического характера также описаны при болезни Вильсона – Коновалова, генетическом заболевании, связанном с нарушением механизмов выведения меди из организма и характеризующимся преимущественным накоплением этого микроэлемента в печени [3, 4]. Это связано с тем, что печень в организме млекопитающих играет ключевую роль в перераспределении, депонировании и выведении данного элемента. В норме печень взрослого человека накапливает от 18 до 55 мкг меди на грамм сухого веса и наряду с мозгом и почками относится к органам, содержащим наибольшее количество этого элемента [1, 5]. При этом основным путём выведения меди в физиологических условиях является экскреция данного микроэлемента в составе желчи – на его долю приходится до 80 % меди, удаляемой печенью [6].

В настоящее время на различных культурах клеток, в том числе на гепатоцитах и клетках гепатомы, активно изучаются свойства соединений меди или нанокомпозитов на основе меди, связанные с цитотоксическими или генотоксическими эффектами [7, 8], способностью ионов меди запускать такие процессы, как окислительный стресс [7, 9, 10] стресс эндоплазматического ретикулума [7, 11], перекисное окисление липидов, приводящее к повреждению мембран [8, 9], агрегацию белков [5, 7, 8], нарушение активности митохондрий и митофагию [9–12], аутофагию [10, 11], апоптоз, купроптоз и другие виды клеточной гибели [7, 9, 12, 13]. В работах исследователей по всему миру особое внимание уделяется возможности применения соединений на основе меди для борьбы с раковыми заболеваниями, что определяется их цитотоксическими свойствами в отношении карциномных клеток [13, 14]. При этом практически отсутствуют исследования, затрагивающие влияние нетоксичных количеств ионов меди на физиологические процессы, происходящие в клетках, в том числе в ходе их культивирования.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследование влияния ионов меди на изменения внутриклеточного содержания митохондриальной цитохром-С-оксидазы, играющей основную роль в окислительном фосфорилировании, и глутатионсинтетазы, обеспечивающей синтез антиоксиданта глутатиона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1. Выделение первичной культуры гепатоцитов крысы

Первичная культура гепатоцитов была получена перфузионным методом с некоторыми модификациями [15, 16]. Для этого был проведён острый эксперимент на крысе линии Wistar весом 200 г (самец), содержавшейся в условиях вивария. Эксперимент был выполнен в соответствии с правилами гуманного обращения с животными. Исследование одобрено комитетом по этике ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (протокол № 9 от 16.12.2021). Все оперативные вмешательства проводились в асептических условиях, в качестве наркоза внутримышечно использовали 0,7 мл 5%-го раствора телазола в фосфатном буфере

(PBS, phosphate-buffered saline) и хлороформ ингаляционно до потери двигательной активности, но с сохранением сократительной активности сердечной мышцы. Перфузию печени проводили через воротную вену 1 мл раствора гепарина (Lek, Беларусь) в количестве 500 ед. в 0,9%-м NaCl, затем раствором буфера Кребса-Рингера с ЭДТА без кальция (pH=7,2–7,4; 37 °C) общим объёмом 210 мл со скоростью 30 мл/мин. Далее вводили 120 мл раствора коллагеназы 0,07 % (Sigma-Aldrich, США) в буфере Хэнкса с ионами кальция и магния (HBSS, Hanks' balanced salt, Sigma-Aldrich, США) при температуре 37 °C. После удаления печень переносили в охлаждённый до 4 °C буфер Хэнкса, печёночную капсулу вскрывали, извлечённые клетки фильтровали через клеточный фильтр с размерами пор 70 мкм (Corning, BioCoat, США) и промывали с последующим центрифугированием в буфере Хэнкса при 50 g и 4 °C в течение 5 мин. Клетки ресуспендировали в питательной среде William's E без глутамина (Gibco; Thermo Fisher Scientific, США) в сочетании с 10%-й эмбриональной бычьей сывороткой (FBS, fetal bovine serum; Sigma-Aldrich, США) и дополненной составом Primary Hepatocyte Maintenance Supplements (Gibco; Thermo Fisher Scientific, США), содержавшим Dexamethasone (0,14 мкл 10 мМ раствора на 1 мл среды) и Cell Maintenance Coctail-B (GlutaMAX™, HEPES, пенициллин-стрептомицин, инсулин, трансферрин, комплекс селена, BSA и линолевая кислота, 40 мкл на 1 мл среды. Культуру гепатоцитов инкубировали при температуре 37 °C, влажности 90 % и 5 % CO_2 в BioStation CT (Nikon, Япония). Клетки вводили в эксперимент в течение 24 ч после выделения.

2. Инкубация культуры гепатоцитов крысы с $CuAc_2$

Через 2 ч после замены питательной среды и удаления погибших гепатоцитов к клеткам в культуральную среду добавили раствор ацетата меди ($CuAc_2$) до конечной концентрации 200 мкг/мл в пересчёте на содержание меди (концентрация подобрана в ходе предварительных исследований на токсичность). Эксперимент проводили в трёх повторностях. Контролем служила культура гепатоцитов без добавления $CuAc_2$, в культуру вносили соответствующее количество питательной среды. Через 6 и 24 ч из соответствующих лунок удаляли питательную среду, клетки фиксировали 70%-м спиртом в течение 1 часа.

3. Иммунофлюоресцентные исследования

Иммуноцитохимическое окрашивание фиксированных клеток проводили с первичными антителами к субъединице I цитохром-С-оксидазы (Invitrogen, США; Cat. № NA-0589) и глутатионситетазе (Abcam, Великобритания; Cat. № ab133592) в разведении 1:200 в течение часа и с вторичными антителами Alexa Fluor 568 Goat Anti-Mouse IgG (H+L) (Invitrogen, США; Cat. № NA-11031) и Alexa Fluor 488 Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) (Invitrogen, США; Cat. № NA-11034) в разведении 1:300 в течение 0,5 часа. Ядра окрашивали при помощи Hoechst (Invitrogen, США; Cat. № NH-3570) в разведении 1:300.

Интенсивность окраски на препаратах оценивали при помощи программного обеспечения Nis-Elements AR 5.00 (Nikon, Япония), при этом анализировали не менее 8 изображений для каждого образца. Статистический анализ проводили в среде программирования R с использованием критерия Уилкоксона – Манна – Уитни.

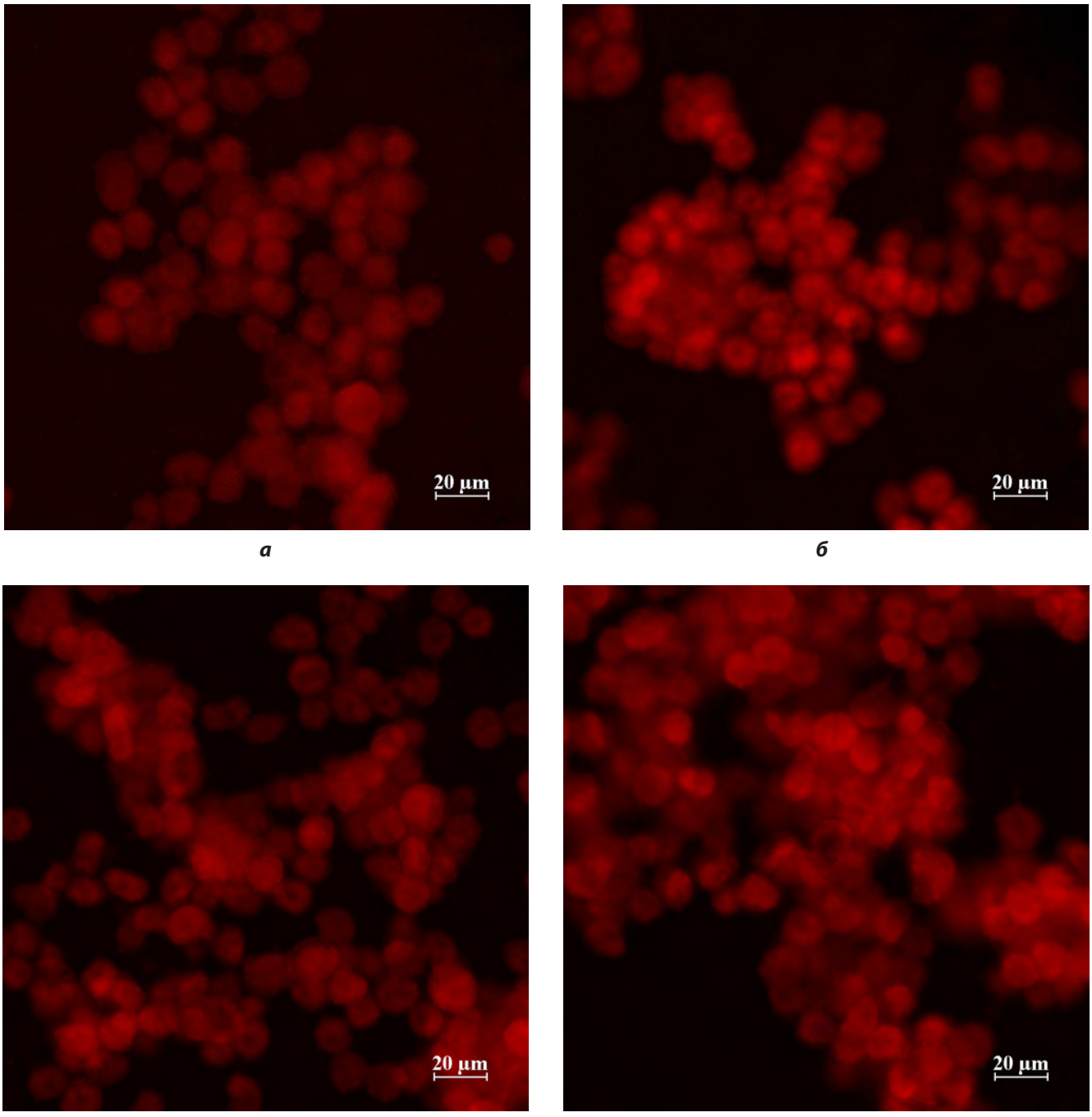
Исследование проведено на оборудовании из ЦКП «Диагностические изображения в хирургии» ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии».

РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве объектов для изучения внутриклеточных изменений, происходящих в гепатоцитах в условиях насыщенной ионами меди среды, были выбраны ферменты цитохром-С-оксидаза и глутатионситетаза. Это объясняется тем, что, с одной стороны, медь для данных ферментов является кофактором и, следовательно, оказывает непосредственное влияние на уровень их активности, а с другой стороны, изменения в содержании данных ферментов превосходно отражают наиболее важные показатели жизнеспособности клеток, такие как интенсивность энергетического обмена и способность к антиоксидантной защите.

Первый анализируемый фермент цитохром-С-оксидаза представляет собой митохондриальную гемедную терминальную оксидазу, выполняющую роль конечного акцептора в цепи переноса электронов, необходимого для производства аденозинтрифосфата и восстановления молекулярного кислорода в процессе окислительного фосфорилирования [6]. В нашем исследовании иммуоцитохимическое окрашивание с применением специфичных антител позволило продемонстрировать повышение интенсивности флуоресценции CcO в гепатоцитах под действием ионов меди в концентрации 200 мкг/мл (рис. 1, 2). Для работы была выбрана наибольшая нетоксичная концентрация, подобранная в ходе предварительных исследований на токсичность (данные не приводятся). При этом статистически значимое увеличение количества визуализируемого фермента по сравнению с контрольными образцами наблюдалось как после 6 часов инкубации клеток с ацетатом меди, так и после 24 часов культивирования с данным микроэлементом (рис. 2). В первом случае зафиксированное повышение интенсивности флуоресценции в среднем составило 25 %, после инкубации клеток с $CuAc_2$ на протяжении суток – 23 % по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

Из графика, представленного на рисунке 3, видно, что повышение интенсивности флуоресцентной окраски в основной группе наблюдается на протяжении всего эксперимента. При этом в сравнении с контрольной группой можно судить о том, что увеличение количества фермента под действием ионов меди было более интенсивным в первые 6 ч инкубации с микроэлементом, тогда как в последующие 18 ч изменения во внутриклеточном содержании CcO носили менее выраженный характер и соответствовали таковым в контрольных образцах (рис. 3). Наблюдаемое незначительное повышение CcO (в пределах 10 %) в культивируемых гепатоцитах в кон-



а ***б***

в ***г***

РИС. 1.
*Иммунофлуоресцентная окраска (Alexa Fluor 568) субъединицы I цитохром-С-оксидазы после 6 ч (**а**, **в**) и 24 ч (**б**, **г**) инкубации в контрольных образцах (**а**, **б**) и образцах, обработанных ацетатом меди в концентрации 200 мкг/мл (**в**, **г**)*

FIG. 1.
*Immunofluorescence staining (Alexa Fluor 568) of cytochrome C oxidase subunit I after 6 hours (**а**, **в**) and 24 hours (**б**, **г**) of incubation in control samples (**а**, **б**) and samples treated with copper acetate at a concentration of 200 µg/ml (**в**, **г**)*

трольной группе может объясняться стимулирующим действием питательной среды в сочетании с FBS, богатой как аминокислотами, витаминами и нуклеотидами, так и активными молекулами, способными модулировать экспрессию ядерных и митохондриальных генов [17, 18].

Второй исследуемый в данной работе фермент глутатионсинтетаза участвует в синтезе внутриклеточного антиоксиданта глутатиона, обеспечивая присоединение глицина к γ-глутамилцистеину [19]. Нами установлено, что интенсивность флуоресцентной окраски, соответствующей количеству GS в культивируемых гепатоцитах, также возрастала на протяжении всего времени инкубации с ацетатом меди (рис. 4, 5), демонстрируя в среднем повышение на 30 % в первые 6 ч воздействия на клетки $CuAc_2$ и на 33 % в последующие 18 ч эксперимента в сравнении с контрольными образцами (рис. 5).

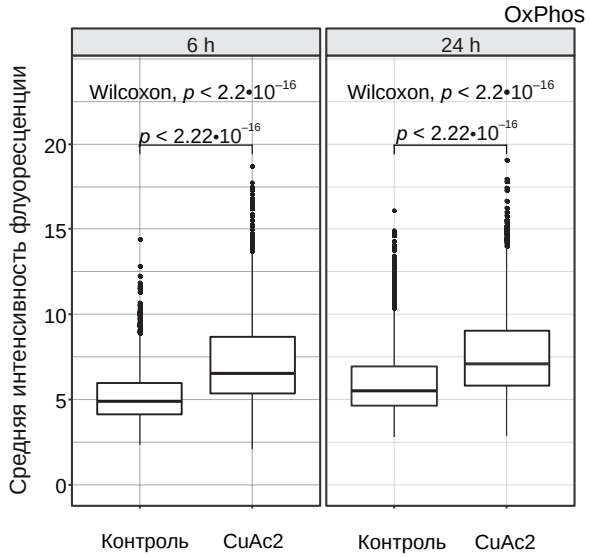


РИС. 2.

Изменения интенсивности флуоресцентной окраски цитохром-С-оксидазы в культуре гепатоцитов после 6 и 24 ч воздействия ацетатом меди в сравнении с контрольной группой: представлены медианы, 1-е и 3-и квартили; статистически значимыми считаются различия при p < 0,05

FIG. 2. *Changes in the intensity of the cytochrome C oxidase fluorescent staining in hepatocyte culture after 6 and 24 hours of exposure to copper acetate compared to the control group: the medians, first and third quartiles are presented; the differences are considered statistically significant at p < 0.05*

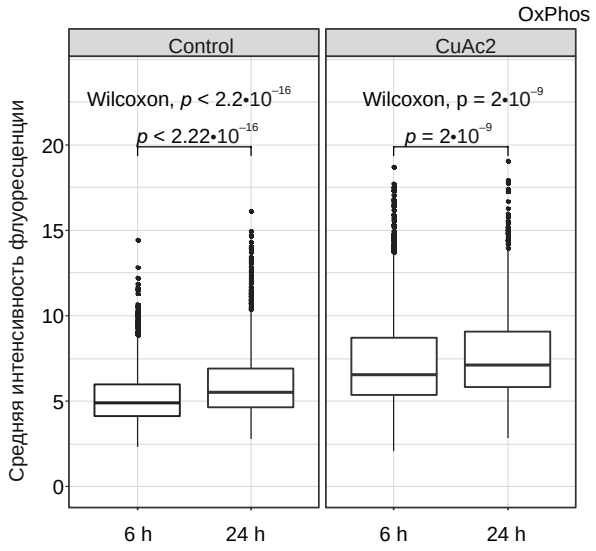
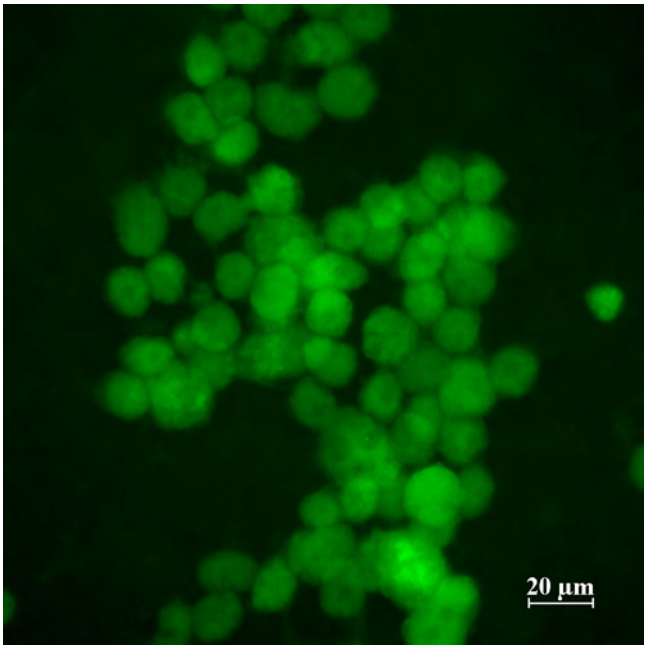


РИС. 3.

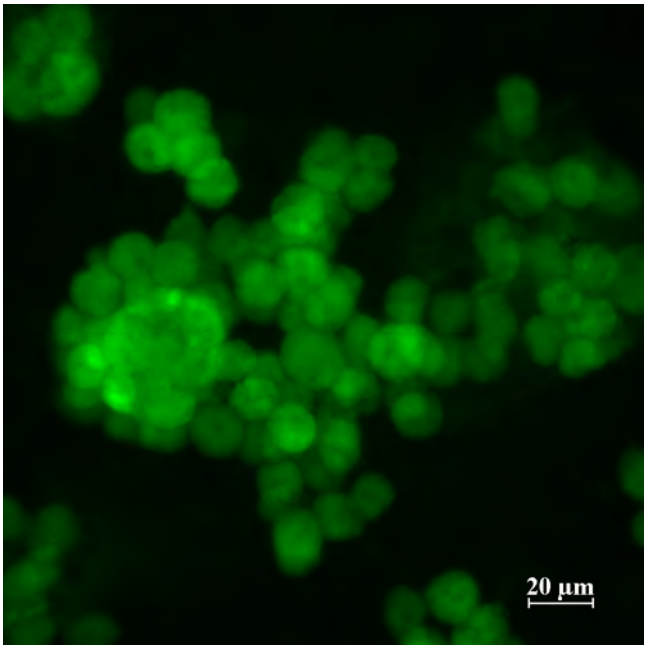
Изменения интенсивности флуоресцентной окраски цитохром-С-оксидазы в культуре гепатоцитов после 6 и 24 ч культивирования в контрольной группе и в образцах, инкубируемых с ацетатом меди: представлены медианы, 1-е и 3-и квартили; статистически значимыми считаются различия при p < 0,05

FIG. 3.

Changes in the intensity of the cytochrome C oxidase fluorescent staining in hepatocyte culture after 6 and 24 hours of cultivation in the control group and in the samples incubated with copper acetate: the medians, first and third quartiles are presented; the differences are considered statistically significant at p < 0.05



а



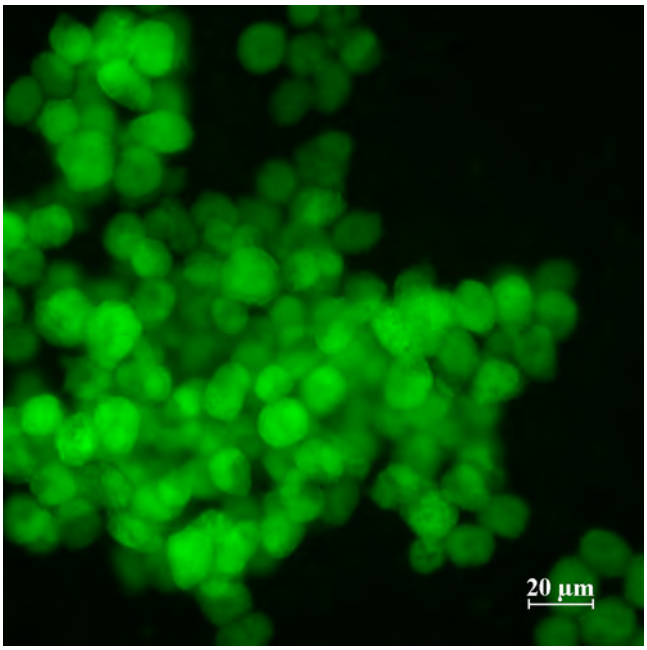
б

РИС. 4.

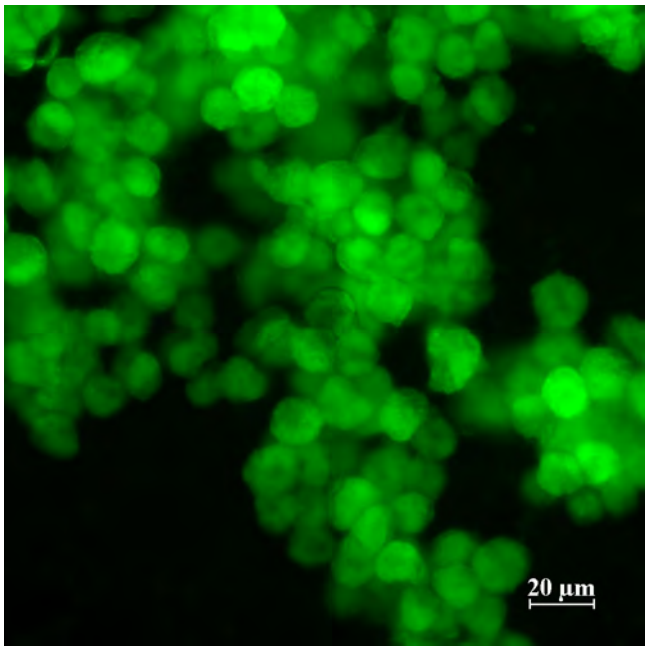
*Иммунофлуоресцентная окраска глутатионсинтетазы (Alexa Fluor 488) после 6 ч (**а**, **в**) и 24 ч (**б**, **г**) инкубации в контрольных образцах (**а**, **б**) и образцах, обработанных ацетатом меди в концентрации 200 мкг/мл (**в**, **г**)*

FIG. 4.

*Immunofluorescence staining of glutathione synthetase (Alexa Fluor 488) after 6 hours (**а**, **в**) and 24 hours (**б**, **г**) of incubation in control samples (**а**, **б**) and samples treated with copper acetate at a concentration of 200 µg/ml (**в**, **г**)*



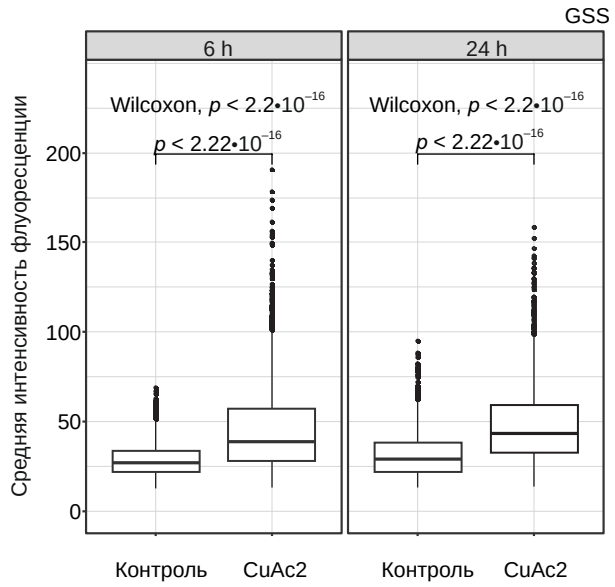
в



г

РИС. 4. *(продолжение)*
*Иммунофлуоресцентная окраска глутатионсинтетазы (Alexa Fluor 488) после 6 ч (**а**, **в**) и 24 ч (**б**, **г**) инкубации образцах, обработанных ацетатом меди в концентрации 200 мкг/мл (**в**, **г**)*

FIG. 4. *(continued)*
*Immunofluorescence staining of glutathione synthetase (Alexa Fluor 488) after 6 hours (**а**, **в**) and 24 hours (**б**, **г**) of incubation in samples treated with copper acetate at a concentration of 200 µg/ml (**в**, **г**)*



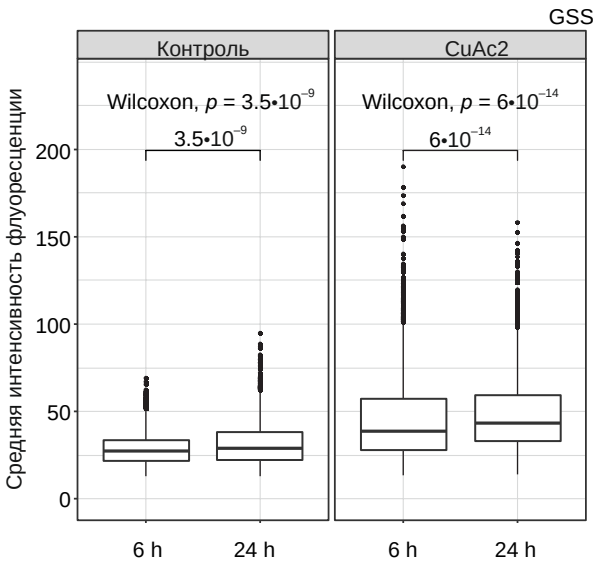


РИС. 5.
Изменения интенсивности флуоресцентной окраски глутатионсинтетазы в культуре гепатоцитов после 6 и 24 ч воздействия ацетатом меди в сравнении с контрольной группой: представлены медианы, 1-е и 3-и квартили; статистически значимыми считаются различия при p < 0,05

FIG. 5.
Changes in the intensity of the glutathione synthetase fluorescent staining in hepatocyte culture after 6 and 24 hours of exposure to copper acetate in comparison with the control group: the medians, first and third quartiles are presented; the differences are considered statistically significant at p < 0.05

РИС. 6.
Изменения интенсивности флуоресцентной окраски глутатионсинтетазы в культуре гепатоцитов после 6 и 24 ч культивирования в контрольной группе и в образцах, инкубируемых с ацетатом меди: представлены медианы, 1-е и 3-и квартили; статистически значимыми считаются различия при p < 0,05

FIG. 6.
Changes in the intensity of the glutathione synthetase fluorescent staining in hepatocyte culture after 6 and 24 hours of cultivation in the control group and in the samples incubated with copper acetate: the medians, first and third quartiles are presented; the differences are considered statistically significant at p < 0.05

Однако, несмотря на то, что повышение интенсивности флуоресцентной окраски на протяжении суток наблюдалось и в контрольных образцах, и в основной группе (рис. 6), в отличие от CcO, в экспериментальных образцах рост интенсивности окраски GS почти в 2 раза превышал аналогичный показатель в контрольной группе (11 % и 6,5 % соответственно). Известно, что экспрессия ферментов, участвующих в синтезе глутатиона, может положительно регулироваться аминокислотами, входящими в состав этого трипептида, а именно цистеином, глицином и глутамином [20, 21]. Все три аминокислоты входят в состав стандартных питательных сред, что может влиять на изменения в количестве визуализируемого в клетках фермента. В то же время тот факт, что рост интенсивности окраски в экспериментальной группе выше, чем в контрольных образцах, говорит о том, что в данном случае регуляция, зависимая от содержания кофактора фермента в среде, является более значимой для GS, чем регуляция, зависимая от количества субстрата.

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что изучение влияния ионов меди на жизнеспособность клеток в культуре проводят на разных типах клеток, среди которых, помимо часто анализируемых гепатоцитов [7, 9, 12], используют эпителиальные клетки почечных канальцев [11], клетки крови [8], а также половые клетки [10], выбор в качестве мишени воздействия гепатоцитов в данном исследовании, по мнению авторов, наиболее оправдан и продиктован рядом причин. Основной из них является исключительная роль печени в метаболизме и распределении меди. Тот факт, что поступающая с пищей медь в организме млекопитающих транспортируется сначала в печень, из которой она перераспределяется в другие органы, в том числе в связанном с церулоплазмином виде, и избыточные количества меди также направляются в печень, говорит о том, что гепатоциты способны сохранять жизнеспособность без утраты основных функций в условиях высокого содержания меди. Кроме того, гепатоциты в организме отвечают за детоксикацию эндогенных и ксенобиотических соединений, что предполагает достаточно высокую лабильность клеточных систем, отвечающих за активацию метаболизма и защиту от окислительного стресса, нередко сопровождающего как поступление токсичных веществ в клетку, так и интенсификацию окислительных процессов в митохондриях [6, 18, 19]. Это предполагает, что изменения в интенсивности ключевых процессов жизнедеятельности в активно метаболизирующих клетках будут достаточно заметными, чтобы выявить их при помощи методов иммунофлуоресцентного окрашивания и микроскопии.

В нашем исследовании на гепатоцитах было продемонстрировано индуцируемое ионами меди увеличение количества митохондриального фермента цитохром-С-оксидазы, что свидетельствует о повышении интенсивности окислительного фосфорилирования в клетках. Известно, что основным внутриклеточным пулом ионов меди являются митохондрии, при этом почти 25 % данного микроэлемента приходится на цитохром-С-оксидазу. Три атома металла связываются в каталитическом ядре CcO, образуя центры CuA и CuB в субъединицах COX2 и COX1 соответственно. Однако в данном случае, как было показано, ионы меди не только обеспечивают каталитическую активность фермента, но также играют ключевую роль в созревании и стабилизации основных субъединиц CcO, препятствуя их быстрой деградации и обеспечивая таким образом формирование голофермента цитохром-С-оксидазы [18]. Кроме того, ранее было установлено, что дефицит меди может приводить к снижению экспрессии как ядерных, так и митохондриальных субъединиц цитохром-С-оксидазы [6, 22, 23], тогда как избыточное нецитотоксичное содержание меди в клетках вызывает противоположный эффект, приводя к повышению уровня экспрессии CcO [6, 24]. В изменениях уровня экспрессии генов могут быть задействованы факторы транскрипции NRF-1 и NRF-2 (nuclear respiratory factors 1, 2), а также Sp1 (specificity protein 1), которые непосредственно взаимодействуют с генами субъединиц CcO ядерного кодирования, а также регулируют транскрипцию митохондриальных генов CcO посредством активации митохондриальных факторов транскрипции A и B (TFAM, TFB1M и TFB2M) [25–27]. Исходя из свойств ионов меди модулировать активности митохондриальной CcO, в литературе широко обсуждается возможность регуляции окислительного фосфорилирования путём воздействия на клетки хелаторами либо, наоборот, внесением дополнительных количеств меди с целью изменения интенсивности клеточного метаболизма и внутриклеточных процессов, зависимых от энергетического обмена. Данный подход можно считать эффективным при разработке лекарственных препаратов, направленных, например, на лечение онкологических заболеваний путём хелатирования меди, а также в регенеративной медицине при регуляции таких процессов, как пролиферация и дифференциация клеток, посредством внесения дополнительного количества этого микроэлемента [6].

Роль глутатиона в клетках млекопитающих в целом и в митохондриях в частности не ограничивается его антиоксидантными функциями и зачастую тесно связана с обменом меди. Так, глутатион не только взаимодействует с активными формами кислорода и азота, к неконтролируемой генерации которых могут приводить избыточные количества ионов меди, и предотвращает агрегацию белков, вызванную также токсическим действием меди, но и считается одним из основных внутриклеточных хелаторов для этого микроэлемента наряду с металлотионинами. Так, известно, что большая часть ионов меди (до 60 %) находится в клетках именно в связанной с глутатионом форме [3, 5]. Во многих исследованиях, в том числе и проведённых на культурах клеток, описано влияние ионов меди на количество глутатиона, в частности на содержание его восстановленной формы [8, 10, 11], однако работ, в которых однозначно была бы установлена роль меди в регуляции экспрессии глутатионсинтетазы млекопитающих, по-прежнему нет. Тем не менее регуля-

торный эффект был описан у бактерий *Acidithiobacillus ferrooxidans*, у которых воздействие медью приводит к повышению уровня экспрессии двух генов, кодирующих глутатионсинтезы [28]. Неоднозначные результаты были представлены в работах на клетках бычьей печени и печени овец, в которых была продемонстрирована и понижающая, и повышающая регуляция ионов меди на экспрессию гена GS в зависимости от концентрации вносимого в среду микроэлемента [29]. В нашем исследовании наблюдалось статистически значимое увеличение количества фермента, визуализируемое при помощи иммуноцитохимии, под действием ионов меди в концентрации 200 мкг/мл, при этом положительный эффект отмечался на протяжении всего времени воздействия.

Природа подобной регуляции, как и в случае CcO, остаётся дальнейшим предметом изучения. Она может быть связана с непосредственным взаимодействием атомов меди с металлочувствительными факторами транскрипции, как это установлено для металлотионеинов, экспрессия которых регулируется транскрипционным фактором MRF-1 (metal-responsive transcription factor 1), взаимодействующим с MRE (metal-responsive elements) в промоторах генов [30]. Также регуляция может осуществляться с участием элементов антиоксидантного ответа (ARE, antioxidant response elements), которые, как известно, активируются в ответ на воздействие различными химическими веществами, металлами, перекисью водорода и модулируют индуцируемую окислительным стрессом транскрипцию многих генов, включая глутатион-S-трансферазу и некоторые металлотионеины [26, 30]. Ещё одним механизмом, который может быть задействован в медь-зависимой регуляции экспрессии генов, является митоген-активируемая протеинкиназная (MAPK, mitogen-activated protein kinase) сигнальная система, обуславливающая активность многих генов, зависимых от внешних стимулов. Так, для клеток бронхиального эпителия человека линии BEAS 2B было описано фосфорилирование с последующей активацией JNK, p38 и ERK под действием ионов металлов, в том числе меди [31]. В случае глутатионсинтетазы регуляция экспрессии фермента также может зависеть от истощения пула глутатиона в результате его непосредственного взаимодействия с ионами меди или участия в инактивации активных формам кислорода, образующихся в присутствии Cu^{2+} в гепатоцитах, и осуществляться с участием молекул-посредников.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из полученных данных можно сделать выводы о том, что ионы меди в нетоксичной концентрации способны влиять на ключевые показатели жизнеспособности клеток в культуре, регулируя количество цитохром-С-оксидазы и глутатионситетазы, и, соответственно, могут вызывать изменения в интенсивности энергетического обмена и способности клеток противостоять окислительному стрессу. Данные свойства могут быть применены в работах по регенеративной медицине для тонкой регуляции функциональной и метаболической активности гепатоцитов в условиях *in vitro*, а также для повышения выживаемости клеток при воздействии стрессовых факторов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rahimzadeh MR, Kazemi S, Moghadamnia AA. Copper poisoning with emphasis on its clinical manifestations and treatment of intoxication. *Adv Public Health*. 2024; 6001014. doi: 10.1155/2024/60010142

2. Xue Q, Kang R, Klionsky DJ, Tang D, Liu J, Chen X. Copper metabolism in cell death and autophagy. *Autophagy*. 2023; 19(8): 2175-2195. doi: 10.1080/15548627.2023.2200554

3. Sailer J, Nagel J, Akdogan B, Jauch AT, Engler J, Knolle PA, et al. Deadly excess copper. *Redox Biol*. 2024; 75: 103256. doi: 10.1016/j.redox.2024.103256

4. Wungjiranirun M, Sharzehi K. Wilson's disease. *Semin Neurol*. 2023; 43(4): 626-633. doi: 10.1055/s-0043-1771465

5. Saporito-Magriñá CM, Musacco-Sebio RN, Andrieux G, Kook L, Orrego MT, Tuttolomondo MV, et al. Copper-induced cell death and the protective role of glutathione: The implication of impaired protein folding rather than oxidative stress. *Metallomics*. 2018; 10(12): 1743-1754. doi: 10.1039/c8mt00182k

6. Ruiz LM, Libedinsky A, Elorza AA. Role of copper on mitochondrial function and metabolism. *Front Mol Biosci*. 2021; 8: 711227. doi: 10.3389/fmolb.2021.711227

7. Oe S, Miyagawa K, Honma Y, Harada M. Copper induces hepatocyte injury due to the endoplasmic reticulum stress in cultured cells and patients with Wilson disease. *Exp Cell Res*. 2016; 347(1): 192-200. doi: 10.1016/j.yexcr.2016.08.003

8. Husain N, Mahmood R. Copper (II) generates ROS and RNS, impairs antioxidant system and damages membrane and DNA in human blood cells. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019; 26(20): 20654-20668. doi: 10.1007/s11356-019-05345-1

9. Yang F, Pei R, Zhang Z, Liao J, Yu W, Qiao N, et al Copper induces oxidative stress and apoptosis through mitochondria-mediated pathway in chicken hepatocytes. *Toxicol In Vitro*. 2019; 54: 310-316. doi: 10.1016/j.tiv.2018.10.017

10. Kang Z, Qiao N, Liu G, Chen H, Tang Z, Li Y. Copper-induced apoptosis and autophagy through oxidative stress-mediated mitochondrial dysfunction in male germ cells. *Toxicol In Vitro*. 2019; 61: 104639. doi: 10.1016/j.tiv.2019.104639

11. Wang X, Cao H, Fang Y, Bai H, Chen J, Xing C, et al. Activation of endoplasmic reticulum-mitochondria coupling drives copper-induced autophagy in duck renal tubular epithelial cells. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2022; 235: 113438. doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113438

12. Yang F, Liao J, Yu W, Qiao N, Guo J, Han Q, et al. Exposure to copper induces mitochondria-mediated apoptosis by inhibiting mitophagy and the PINK1/parkin pathway in chicken (Gallus gallus) livers. *J Hazard Mater*. 2021; 408: 124888. doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.124888

13. Zhang C, Huang T, Li L. Targeting cuproptosis for cancer therapy: Mechanistic insights and clinical perspectives. *J Hematol Oncol*. 2024; 17(1): 68. doi: 10.1186/s13045-024-01589-8

14. Kong R, Sun G. Targeting copper metabolism: A promising strategy for cancer treatment. *Front Pharmacol*. 2023; 14: 1203447. doi: 10.3389/fphar.2023.1203447

15. Dremina NN, Trukhan IS, Say OV, Shurygina IA. Activity of hepatic enzymes of isolated hepatocytes under the influence of copper acetate. *International Journal of Biomedicine*. 2022; 12(1): 58-62. doi: 10.21103/Article12(1)_OA8

16. Shurygina IA, Trukhan IS, Dremina NN, Say OV, Shurygin MG, Prozorova GF, et al. Evaluation of the safety and toxicity of the original copper nanocomposite based on poly-N-vinylimidazole. *Nanomaterials (Basel)*. 2021; 12(1): 16. doi: 10.3390/nano12010016

17. Chicherin IV, Dashinimaev E, Baleva M, Krasheninnikov I, Levitskii S, Kamenski P. Cytochrome C oxidase on the crossroads of transcriptional regulation and bioenergetics. *Front Physiol*. 2019; 10: 644. doi: 10.3389/fphys.2019.00644

18. Timón-Gómez A, Nývltová E, Abriata LA, Vila AJ, Hosler J, Barrientos A. Mitochondrial cytochrome C oxidase biogenesis: Recent developments. *Semin Cell Dev Biol*. 2018; 76: 163-178. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.08.055

19. Chen TH, Wang HC, Chang CJ, Lee SY. Mitochondrial glutathione in cellular redox homeostasis and disease manifestation. *Int J Mol Sci*. 2024; 25(2): 1314. doi: 10.3390/ijms25021314

20. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Mol Aspects Med*. 2009; 30(1-2): 42-59. doi: 10.1016/j.mam.2008.05.005

21. Egbujor MC, Olaniyan OT, Emeruwa CN, Saha S, Saso L, Tucci P. An insight into role of amino acids as antioxidants via NRF2 activation. *Amino Acids*. 2024; 56(1): 23. doi: 10.1007/s00726-024-03384-8

22. Zeng H, Saari JT, Johnson WT. Copper deficiency decreases complex IV but not complex I, II, III, or V in the mitochondrial respiratory chain in rat heart. *J Nutr*. 2007; 137(1): 14-18. doi: 10.1093/jn/137.1.14

23. Johnson WT, Brown-Borg HM. Cardiac cytochrome C oxidase deficiency occurs during late postnatal development in progeny of copper-deficient rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2006; 231(2): 172-180. doi: 10.1177/153537020623100207

24. Ruiz LM, Jensen EL, Rossel Y, Puas GI, Gonzalez-Ibanez AM, Bustos RI, et al. Non-cytotoxic copper overload boosts mitochondrial energy metabolism to modulate cell proliferation and differentiation in the human erythroleukemic cell line K562. *Mitochondrion*. 2016; 29: 18-30. doi: 10.1016/j.mito.2016.04.005

25. Dhar SS, Johar K, Wong-Riley MT. Bigenomic transcriptional regulation of all thirteen cytochrome C oxidase subunit genes by specificity protein 1. *Open Biol*. 2013; 3(3): 120176. doi: 10.1098/rsob.120176

26. Song MO, Mattie MD, Lee CH, Freedman JH. The role of Nrf1 and Nrf2 in the regulation of copper-responsive transcription. *Exp Cell Res*. 2014; 322(1): 39-50. doi: 10.1016/j.yexcr.2014.01.013

27. Bouda E, Stapon A, Garcia-Diaz M. Mechanisms of mammalian mitochondrial transcription. *Protein Sci*. 2019; 28(9): 1594-1605. doi: 10.1002/pro.3688

28. Xia JL, Wu S, Zhang RY, Zhang CG, He H, Jiang HC, et al. Effects of copper exposure on expression of glutathione-related genes in *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Curr Microbiol*. 2011; 62(5): 1460-1466. doi: 10.1007/s00284-011-9881-9

29. Tillquist NM, Thorndyke MP, Thomas TA, Coleman SJ, Engle TE. Impact of cell culture and copper dose on gene expression in bovine liver. *Biol Trace Elem Res*. 2022; 200(5): 2113-2121. doi: 10.1007/s12011-021-02829-5

30. Mattie MD, Freedman JH. Copper-inducible transcription: Regulation by metal- and oxidative stress-responsive pathways. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004; 286(2): C293-C301. doi: 10.1152/ajpcell.00293.2003

31. Samet JM, Graves LM, Quay J, Dailey LA, Devlin RB, Ghio AJ, et al. Activation of MAPKs in human bronchial epithelial cells exposed to metals. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 1998; 275(3): L551-L558. doi: 10.1152/ajplung.1998.275.3.L551

Сведения об авторах

Трухан Ирина Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: predel4@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-0270-404X

Дремина Наталия Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: drema76@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2540-4525

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: irinashurygina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3980-050X

Information about the authors

Irina S. Trukhan – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: predel4@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-0270-404X

Natalya N. Dremina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: drema76@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2540-4525

Irina A. Shurygina – Dr. Sc. (Med.), Professor of the RAS, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: irinashurygina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3980-050X

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА
GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДУЛЯЦИЯ В МЕДИЦИНЕ: РЕГУЛЯЦИЯ ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ В КОНТЕКСТЕ ПАТОГЕНЕЗА И ТЕРАПИИ

Омаров М.А. [1],
Мулюков А.Р. [2],
Халитов Р.В. [3],
Сафаров С.И. [2],
Аюпова Г.У. [2],
Демьяненко О.Н. [1],
Бутенко В.В. [4],
Сафронова А.А. [5],
Зайнетдинова Р.Р. [2],
Янтурина О.Ю. [2],
Мирошников А.А. [1]

[1] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8, Россия)
[2] ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (450077, г. Уфа, ул. Ленина, 3, Россия)
[3] ГБУЗ РБ «Городская больница города Нефтекамск» (452681, г. Нефтекамск, ул. Парковая, 31, Россия)
[4] ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России (191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41, Россия)
[5] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Мулюков Айрат Рамильевич,
e-mail: mulykov.165@icloud.com

Статья поступила: 16.02.2024
Статья принята: 28.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

РЕЗЮМЕ

Эпигенетика играет критически важную роль относительно других разделов генетики, так как даёт возможность регулировать генную экспрессию без изменения нуклеотидной последовательностей в молекулы ДНК. Этот процесс позволяет клеткам реагировать на внешние сигналы и адаптироваться к изменениям в окружающей среде, сохраняя при этом свою генетическую информацию неизменной. Основные механизмы эпигенетической регуляции включают метилирование ДНК, посттрансляционные модификации гистонов, ремоделирование хроматина и регуляцию через некодирующие РНК. Эти процессы играют ключевую роль в таких фундаментальных биологических процессах, как клеточная дифференциация, развитие организма и адаптация к экологическим условиям.

Нарушения в эпигенетических механизмах могут привести к различным патологиям, в том числе к онкологическим, неврологическим и аутоиммунным заболеваниям. Понимание механизмов эпигенетической регуляции открывает новые пути для разработки целенаправленных методов лечения, которые могут корректировать аномальные эпигенетические профили без изменения самой структуры ДНК.

В последние годы разработка и применение инновационных технологий, таких как система редактирования генома CRISPR/Cas9, значительно расширили возможности исследования эпигенетических механизмов и их связи с заболеваниями. Эти технологии позволяют не только глубже понимать эпигенетические изменения, но и разрабатывать новые терапевтические подходы, особенно в области онкологии.

Исследования в области эпигенетики также обращают внимание на взаимодействие между эпигенетическими изменениями и иммунной системой, что открывает новые перспективы для разработки иммунотерапии. Поиск новых маркеров эпигенетических нарушений и терапевтических агентов может привести к созданию индивидуализированных методов лечения, учитывающих уникальный эпигенетический профиль каждого пациента.

Роль эпигенетических модификаций в развитии заболеваний и создании новых терапевтических стратегий не может быть переоценена. Исследования последних лет в этой области раскрывают потенциал эпигенетических подходов в лечении широкого спектра заболеваний, открывая новую эру в медицине, где понимание и коррекция эпигенетических изменений станут ключом к эффективному лечению.

Ключевые слова: *эпигенетическая модуляция, метилирование ДНК, модификации гистонов, хроматиновое ремоделирование, CRISPR/Cas9*

Для цитирования: Омаров М.А., Мулюков А.Р., Халитов Р.В., Сафаров С.И., Аюпова Г.У., Демьяненко О.Н., Бутенко В.В., Сафронова А.А., Зайнетдинова Р.Р., Янтурина О.Ю., Мирошников А.А. Эпигенетическая модуляция в медицине: регуляция генной экспрессии в контексте патогенеза и терапии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 22-33. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.3

EPIGENETIC MODULATION IN MEDICINE: REGULATION OF GENE EXPRESSION IN THE CONTEXT OF PATHOGENESIS AND THERAPY

Omarov M.A. [1],
Mulyukov A.R. [2],
Khalitov R.V. [3],
Safarov S.I. [2],
Ayupova G.U. [2],
Demianenko O.N. [1],
Butenko V.V. [4],
Safronova A.A. [5],
Zainetdinova R.R. [2],
Ianturina O.Yu. [2],
Miroshnikov A.A. [1]

[1] Pavlov First Saint Petersburg State Medical University (L'va Tolstogo str. 6-8, Saint Petersburg 197022, Russian Federation)
[2] Bashkir State Medical University (Lenina str. 3, Ufa 450077, Russian Federation)
[3] Neftekamsk City Hospital (Parkovaya str. 31, Neftekamsk 452681, Russian Federation)
[4] North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Kirochnaya str. 41, Saint Petersburg 191015, Russian Federation)
[5] Saint Petersburg State Pediatric Medical University (Litovskaya str. 2, Saint Petersburg 194100, Russian Federation)

Corresponding author:
Airat R. Mulyukov,
e-mail: mulykov.165@icloud.com

ABSTRACT

Epigenetics plays a critical role relative to other branches of genetics, as it makes it possible to regulate gene expression without changing the nucleotide sequence of DNA molecules. This process allows cells to respond to external signals and adapt to changes in the environment while keeping their genetic information intact. The main mechanisms of epigenetic regulation include DNA methylation, post-translational modifications of histones, chromatin remodeling and regulation through non-coding RNAs. These processes play a key role in fundamental biological processes such as cellular differentiation, organismal development, and adaptation to environmental conditions.

Disturbances in epigenetic mechanisms can lead to various pathologies, including cancer, neurological and autoimmune diseases. Understanding the mechanisms of epigenetic regulation opens new avenues for the development of targeted therapies that can correct abnormal epigenetic profiles without changing the DNA structure itself.

In recent years, the development and application of innovative technologies, such as the CRISPR/Cas9 genome editing system, have significantly expanded the ability to study epigenetic mechanisms and their relationship with diseases. These technologies allow not only a deeper understanding of epigenetic changes, but also the development of new therapeutic approaches, especially in the field of oncology. Research in epigenetics is also focusing on the interaction between epigenetic changes and the immune system, which opens new perspectives for the development of immunotherapies. The search for new markers of epigenetic disorders and therapeutic agents may lead to the development of individualized treatments that take into account the unique epigenetic profile of each patient.

The role of epigenetic modifications in the development of diseases and the creation of new therapeutic strategies cannot be overestimated. Recent research in this area is revealing the potential of epigenetic approaches to treat a wide range of diseases, ushering in a new era in medicine where understanding and correcting epigenetic changes will be the key to effective treatment.

Key words: *epigenetic modulation, DNA methylation, histone modifications, chromatin remodeling, CRISPR/Cas9*

Received: 16.02.2024
Accepted: 28.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Omarov M.A., Mulyukov A.R., Khalitov R.V., Safarov S.I., Ayupova G.U., Demianenko O.N., Butenko V.V., Safronova A.A., Zainetdinova R.R., Ianturina O.Yu., Miroshnikov A.A. Epigenetic modulation in medicine: Regulation of gene expression in the context of pathogenesis and therapy. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 22-33. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.3

РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ

Эпигенетика – ключевой раздел молекулярной биологии, изучающий фундаментальную роль в регуляции генной экспрессии без изменения последовательности ДНК. Данный термин был введён Конрадом Веддингтоном в 1942 г. и относится к изучению наследуемых изменений активности генов, которые не обусловлены модификациями нуклеотидной последовательности ДНК [1].

Механизмы эпигенетической регуляции включают метилирование ДНК, модификации гистонов, хроматиновое ремоделирование и регуляцию генной экспрессии с помощью некодирующих типов рибонуклеиновых кислот (РНК), таких как микроРНК (miRNA, micro RNA), малые интерферирующие РНК (siRNA, small interfering RNA), длинные некодирующие РНК (lncRNA, long non-coding RNA) и другие. Эти процессы обеспечивают динамическую и обратимую регуляцию экспрессии генов, которая имеет решающее значение для многих биологических процессов, включая клеточную дифференцировку, онтогенетическое развитие и адаптацию клетки и организма в условиях постоянно изменяющейся окружающей среды в целом. В свою очередь, нарушения эпигенетической регуляции могут привести к многочисленным патологическим процессам, включая опухолевый рост, неврологические расстройства и аутоиммунные заболевания [2].

В последние десятилетия наблюдается значительный прогресс в изучении механизмов эпигенетической регуляции благодаря развитию передовых технологий, включая высокопроизводительное секвенирование ДНК нового поколения и технологии редактирования генома, такие как кластеризованные регулярно распределённые короткие палиндромные повторы (CRISPR, clustered regularly interspaced short palindromic repeats) системы. Эти инновации позволили сделать значительный скачок в понимании эпигенетических изменений и их связи с развитием заболеваний. Секвенирование ДНК на высокопроизводительных платформах обеспечивает детальное картографирование эпигенетических маркеров, таких как метилирование ДНК и модификации гистонов, в то время как CRISPR-Cas системы используются для точных модификаций в геноме, позволяя изучать функции конкретных эпигенетических модификаций в контролируемых экспериментах. Особенно перспективным направлением является изучение методов эпигенетической модуляции, таких как метилирование ДНК, модификации гистонов, хроматиновое ремоделирование, для восстановления активности генов, приобретших различные мутаций. Данный подход актуален в контексте резистентности злокачественных опухолей патологии к традиционной химиотерапии в онкологии, где эпигенетические методы терапии могут предложить новые варианты лечения [2–6].

Также активно ведутся исследования, направленные на понимание механизмов эпигенетической регуляции иммунной системой. Данный подход открывает перспективы для разработки инновационных иммунотерапевтических подходов в лечении как опухолевых, так и аутоиммунных заболеваний. В контексте эпигенетической регуляции иммунной системой различные эпигенетические агенты, такие как ингибиторы ДНК-метилтрансфераз (DNMT, DNA methyltransferase) и ингибиторы гистон-деацетилаз (HDAC, histone deacetylase), а также другие модификаторы могут быть использованы для усиления эффективности иммунотерапии. Эти агенты способны модулировать экспрессию ключевых генов в иммунных клетках, что может усилить их способность преодолевать резистентность онкологических заболеваний к иммунотерапии.

Важной областью интереса является изучение влияния окружающей среды на эпигенетические изменения. В частности, исследования показывают, что факторы окружающей среды, такие как питание, стресс и загрязнение среды обитания, могут вызывать эпигенетические изменения, которые в свою очередь влияют на риск развития заболеваний. Это открывает путь для разработки профилактических стратегий и индивидуализированных подходов в медицине [7, 8].

Таким образом, актуальность исследований в области эпигенетики определяется их ключевой ролью в понимании механизмов развития заболеваний и создании новых подходов к лечению. В настоящее время эпигенетика стоит на переднем крае биомедицинских исследований, предвещая достижение значительного прогресса в области медицины в ближайшем будущем.

В данной обзорной статье мы хотим рассмотреть эпигенетическую модуляцию в качестве инструмента, применимого как в исследовании роли расстройств эпигенетических механизмов в развитии спектра заболеваний, обусловленных нарушением активности генов, так и в разработке новых методов лечения. Наш обзор охватывает ряд последних достижений в этой области, подчёркивая их потенциальное применение в разработке инновационных терапевтических подходов.

Подбор материала проводился с помощью поисковых систем PubMed/Medline, Кокрановской библиотеки, КиберЛенинки и базы данных Scopus. Поиск проводился по следующим ключевым словам: «эпигенетическая модуляция», «метилирование ДНК», «модификации гистонов», «хроматиновое ремоделирование», «CRISPR/Cas9». Дополнительные ключевые слова («некодирующие РНК», «опухолевое микроокружение», «онкопатология», «метаболическая патология», «неврологическая патология») использовались либо отдельно, либо в сочетании с термином «эпигенетическая модуляция». Исследования и статьи, с момента публикации которых прошло более 5 лет, касающиеся эпигенетической модуляции, также включены в обзор в связи с их востребованностью и актуальностью в данном обзоре. Были проведены поиск и отбор соответствующих журналов и статей, а ссылки, указанные в них, отложены для сбора информации в дальнейшем.

РАЗДЕЛ 2. ОСНОВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Метилирование ДНК – это химический процесс, при котором метильная группа (–CH3) присоединяется к цитозину в контексте CpG-динуклеотидов. Эти CpG-

сайты часто сосредоточены в так называемых CpG-островках, которые обычно располагаются в промоторных регионах генов. Ферменты, называемые ДНК-метилтрансферазами, катализируют этот процесс, приводя к метилированию цитозина [9].

В ряде случаев метилирование ДНК играет решающую роль в регуляции генной экспрессии путём её подавления. Метилированные CpG-сайты могут препятствовать связыванию транскрипционных факторов с ДНК, тем самым блокируя инициацию транскрипции. Кроме того, метилирование ДНК может привлекать белки, такие как метил-ДНК связывающие белки, которые в свою очередь рекрутируют другие комплексы белков, способствующие формированию более плотной и неактивной структуры хроматина [9, 10].

Метилирование ДНК имеет важное значение в развитии эмбриона и клеточной дифференциации. В процессе развития эмбриона метилирование ДНК определяет установление и поддержание специфических паттернов экспрессии генов, необходимых для дифференцировки клеток и формирования различных тканей организма. Данный процесс также важен для Х-хромосомной инактивации у женщин и импринтинга определённых генов [11].

Процесс метилирования ДНК – это динамичный процесс подверженный изменениям в ответ на внешние стимулы, такие как стресс, питание и экспозиция токсинов. Это означает, что эпигенетические изменения, обусловленные метилированием ДНК, могут быть обратимы, что, с одной стороны, может приводить к нарушению транскрипции определённых фрагментов ДНК, вызывая различные заболевания, а с другой – открывает возможности для эпигенетической терапии, направленной на модификацию уровней метилирования для лечения заболеваний [7].

Аномалии в метилировании ДНК связаны с многими заболеваниями. В частности, в опухолевых клетках наблюдается гиперметилирование промоторов генов-супрессоров опухолей, что ведёт к их инактивации механизмов противоопухолевой защиты [12]. Напротив, гипометилирование определённых участков ДНК может активировать онкогены, потенциирующие пролифирацию и озлокачествление [13]. Нарушения метилирования также наблюдаются при некоторых неврологических и метаболических расстройствах [7, 14].

Метилирование ДНК остаётся одним из самых изученных и значимых механизмов эпигенетической регуляции. Его влияние на экспрессию генов и роль в различных биологических процессах и заболеваниях делает его важной мишенью для исследований и разработки терапевтических методов и точек их приложения в современной биомедицине.

Модификации гистонов и их роль в регуляции структуры хроматина

Гистоны – это основные белки, вокруг которых ДНК упаковывается в компактные структуры, называемые нуклеосомами. Каждая нуклеосома состоит из октамера гистонов, включающего две копии каждого из гистонов H2A, H2B, H3 и H4, служащих основой, вокруг которой обёртывается примерно 147 пар оснований ДНК. Гистоны не только обеспечивают упаковку ДНК в ядре клетки, но и играют ключевую роль в регуляции доступа ферментов и других белков к генам [15].

Модификации гистонов включают метилирование, ацетилирование, фосфорилирование, убиквитинирование и другие химические изменения, которые влияют на структуру хроматина и регуляцию генной экспрессии. Метилирование гистонов – это процесс присоединения метильных групп к определённым аминокислотным остаткам в гистонах, в частности к лизину и аргинину. Данный процесс может как активировать, так и ингибировать транскрипцию в зависимости от местоположения и степени метилирования. Ацетилирование включает добавление ацетильной группы к лизиновым остаткам, что ведёт к расслаблению хроматина и активации транскрипции путём снижения электростатического притяжения между гистонами и ДНК. Фосфорилирование включает добавление фосфатной группы к серину и треонину в гистонах, что может повлиять на структуру хроматина и связывание белков регуляторов. В свою очередь присоединение убиквитина к гистонам может сигнализировать о необходимости репарации ДНК или привести к структурным изменениям хроматина. Так, модификации гистонов влияют на структуру хроматина, изменяя плотность его упаковки и доступность для ферментов, осуществляющих транскрипцию [15–17].

Модификации гистонов являются сложными и динамичными процессами, играющими важную роль в эпигенетической регуляции генной экспрессии. Они влияют на доступность ДНК для ферментов, регулирующих транскрипцию, и таким образом контролируют, какие гены активируются или подавляются в различных клеточных состояниях и стадиях развития. Понимание этих процессов имеет фундаментальное значение для разработки новых стратегий в области лечения заболеваний, где дисрегуляция данных модификаций играет ключевую роль [18, 19].

Роль некодирующих РНК в эпигенетической регуляции

Некодирующие рибонуклеиновые кислоты (ncRNA, non-coding RNA) представляют собой обширный класс РНК, играющий важную роль в регуляции генной экспрессии. Особенно значимыми являются lncRNA и miRNA, которые участвуют во множестве внутриклеточных процессов.

lncRNA – это РНК длиной более 200 нуклеотидов, основными механизмами изменения активности генов которых являются влияние на структуру и функцию хроматина, рекрутирование комплексов, модифицирующих хроматин, к специфическим участкам ДНК для изменения активности транскрипции, а также регуляция экспрессии генов на посттранскрипционном уровне. Эти РНК могут служить каркасом для формирования рибонуклеопротеиновых комплексов, влияющих на сплайсинг РНК, стабильность мРНК и транспорт РНК, что отражает их широкий спектр действия в регуляции геномной активности [17].

miRNA – это короткие (около 22 нуклеотидов) одноцепочечные РНК, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне, связываясь с 3’-не-

транслируемыми областями (3′-UTR, 3′-untranslated regions) мРНК. Это связывание может приводить к деградации мРНК или подавлению её трансляции, что влияет на уровни белков в клетке. miRNA играют ключевую роль во многих клеточных процессах, включая дифференциацию клеток, пролиферацию, апоптоз и ответ на стрессовые раздражители [17].

Таким образом, некодирующие РНК играют важную роль в эпигенетических процессах, регулируя активность генов и влияя на структуру хроматина. Исследования в этой области могут привести к новым открытиям в понимании механизмов регуляции активности генов и их роли в развитии различных заболеваний.

РАЗДЕЛ 3. РОЛЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В РАЗВИТИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Эпигенетические изменения в активности генов могут влиять на работу клеток и тканей организма, что в ряде случаев ведёт к развитию широкого спектра сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, метаболических и других заболеваний [7, 14, 20].

Например, при гормон-позитивном раке молочной железы с гиперэкспрессией рецепторов эстрогена эпигенетические нарушения могут приводить к резистентности к гормональной терапии [21]. Это подчёркивает важность эпигенетических исследований для разработки новых терапевтических стратегий, особенно для лечения резистентных форм рака [22, 23].

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – ключевой процесс в клональной эволюции опухолевых клеток, включая рак молочной железы, во время которого эпителиальные клетки приобретают мезенхимальные свойства, увеличиваются их миграционный потенциал и способность к инвазии. ЭМП фактически является эпигенетическим явлением, поскольку в его основе лежат изменения в паттернах экспрессии генов, не сопровождающихся изменениями в последовательности ДНК. Аберрантное метилирование ДНК – гиперметилирование промоторов генов, кодирующих эпителиальные маркеры (например, Е-кадгерин), приводит к их подавлению, что способствует потере клеточной адгезии и увеличению мобильности клеток [21]. Изменения в модификациях гистонов, такие как деацетиляция или метилирование, могут активировать транскрипцию генов, способствующих формированию мезенхимального фенотипа, таких как виментин и фибронектин, которые являются маркерами мезенхимальных клеток [24]. Многие некодирующие РНК, включая микроРНК и длинные некодирующие РНК, регулируют экспрессию генов, участвующих в ЭМП, через взаимодействие с мРНК, модулируя их стабильность или трансляцию [25]. Эти эпигенетические механизмы взаимодействуют, способствуя сложной регуляции ЭМП и усилению агрессивности раковых клеток, способствуя метастазированию и распространению рака [26].

В контексте мультиформной глиобластомы, сложной и трудноизлечимой опухоли головного мозга, эпигенетические механизмы также играют важную роль [27].

Эпигенетические модификации, включая метилирование ДНК и ацетилирование гистонов, играют ключевую роль в регуляции генов, отвечающих за метаболические процессы, включая секрецию инсулина [28].

Так, гиперметилирование определённых участков генома влияет на экспрессию генов, контролирующих выработку инсулина, что может способствовать нарушению его секреции и развитию сахарного диабета 2-го типа [29]. Кроме того, изменения в ацетилировании гистонов могут отражать различия в экспрессии воспалительных генов, таких как фактор некроза опухоли-альфа (TNF-α, tumor necrosis factor α) и циклооксигеназа 2, усиливающих воспалительные процессы, связанные с сахарным диабетом 2-го типа [30].

Данные эпигенетические механизмы, влияющие на регуляцию генов и архитектуру хроматина, представляют собой ключевые цели для понимания и лечения сахарного диабета 2-го типа и других связанных заболеваний.

Механизмы эпигенетической регуляции также имеют критическое значение в процессе нейрогенеза и оказывают существенное влияние на развитие неврологических расстройств. Эпигенетическая дисрегуляция связана с патогенезом таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера (БА) и болезнь Паркинсона (БП), которые не обусловлены специфическими генетическими мутациями [31, 32]. В контексте БА наблюдаются изменения в метилировании ДНК нескольких генов, включая *APP*, *APOE* и *ANK1*, а также в ацетилировании гистонов, влияющих на пластичность нейронов, их пролиферацию и апоптоз. Посмертный анализ мозговых тканей пациентов с БА выявил обогащение ацетилированных гистонов H3 лизином 27 в геномных регионах, связанных с тау- и β-амилоид-зависимой патологией, что приводит к сверхэкспрессии генов *APP*, *PSEN1* и *MAPT* [33].

В отношении БП обсуждается роль метилирования ДНК. Уменьшение метилирования ДНК наблюдается как в гене, кодирующем α-синуклеин, так и на глобальном уровне, что может быть связано с секвестрацией *DNMT1*. Однако связь между метилированием ДНК и БП пока не ясна. В то же время дисбаланс ацетилирования/деацетилирования гистонов играет более значимую роль в патогенезе БП. Обнаружено, что гиперацетилирование гистона H3 в области хроматина, контролирующей экспрессию α-синуклеина, зависит от отсутствия рекрутирования *HDAC NKX6.1*, ключевого транскрипционного фактора в развитии нейронов [34, 35]. МикроРНК могут подавлять экспрессию генов, связываясь с 3′-UTR мРНК и блокируя их трансляцию или инициируя их распад. Например, miR-7 и miR-153 взаимодействуют с мРНК, кодирующей α-синуклеин. Эти микроРНК могут уменьшать экспрессию α-синуклеина, тем самым модулируя его патогенетическое воздействие и снижая накопление токсичных агрегатов в нейронах [36].

Хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ) – это воспалительное заболевание, вызванное как генетическими факторами, так и воздействием окружающей среды. Например, многие исследования показали, что сигаретный дым нарушает функцию гистондеацетилазы 2

(HDAC2), что способствует усилению экспрессии провоспалительных цитокинов [37]. Эпигенетический механизм, лежащий в основе ХОБЛ, включает дисбаланс между ацетилированием и деацетилированием гистонов, что ведёт к изменениям в экспрессии воспалительных генов [38]. У курильщиков наблюдается повышение активности ядерного фактора каппа B (NF-κB, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) и снижение уровней HDAC2, а также уменьшение экспрессии сиртуина 1 (SIRT1, sirtuin 1), основного регулятора активности NF-κB. Активация SIRT1 представляет собой потенциальный терапевтический подход к лечению ХОБЛ [39, 40]. Кроме того, было выявлено, что NF-κB индуцирует протеин-аргинин N-метилтрансферазы (PRMT7, protein arginine methyltransferase 7) в моноцитах у пациентов с ХОБЛ, что влияет на экспрессию гена, участвующего в экстравазации моноцитов и дальнейшем высвобождении провоспалительных цитокинов макрофагами [41].

Также стоит отметить, что эпигенетические модификации, включая метилирование ДНК и модификации гистонов, играют важную роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз и гипертензивная болезнь [42]. Эти изменения могут влиять на экспрессию генов, связанных с регуляцией артериального давления, метаболизмом холестерина и регуляцией воспалительного процесса. В случаях атеросклероза было выявлено глобальное гипометилирование ДНК в атеросклеротических поражениях, в то время как атеропротекторные гены чаще характеризуются гиперметилированием [43].

Изменения в модификациях гистонов также связаны с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Так, в гипертрофированных кардиомиоцитах выявлены модификации гистонов, влияющие на экспрессию генов. Ацетилирование гистонов способствует активации генов, отвечающих за клеточную адгезию и развитие сердца, в то время как метилирование гистонов подавляет гены, связанные с окислительным стрессом и транскрипцией [44].

Дополнительно было выявлено, что в атеросклеротических бляшках наблюдается увеличение ацетилирования гистонов в различных клеточных компонентах, включая гладкомышечные, эндотелиальные клетки и макрофаги, что может способствовать активации генов, связанных со старением. Потеря или дисрегуляция экспрессии HDAC связана с рядом сердечно-сосудистых заболеваний, включая дилатационную кардиомиопатию, гипертрофию сердца, атеросклероз и инсульт [45].

Терапевтическое применение эпигенетической модуляции

Современные подходы к эпигенетической терапии включают использование различных методик, направленных на модификацию эпигенетических меток и регуляции экспрессии генов. Это открывает новые возможности для лечения широкого спектра заболеваний – от злокачественных новообразований до неврологических и психиатрических расстройств.

Например, ингибиторы DNMTi, такие как AraC (цидарабин) и AzaC (азацитидин), являются аналогами цитозина, используемыми в качестве химиотерапевтических средств при лечении различных видов злокачественных новообразований. Эти препараты действуют, модифицируя метилирование ДНК и гистонов, что влияет на экспрессию генов [46, 47].

Деметилирующее действие AzaC способствует реактивации подавленных генов-супрессоров опухолей, что показывает обнадёживающие результаты в клинических испытаниях. AraC используется для лечения острого миелолейкоза, воздействуя на синтез ДНК в раковых клетках [46], в то время как AzaC применяется при лечении миелодиспластического синдрома, ингибируя DNMT и способствуя деметилированию ДНК [47]. Препараты AraC и AzaC являются примерами успешной эпигенетической терапии, подчёркивающими значимость осознания молекулярных аспектов эпигенетики в разработке таргетного лечения.

Также стоит упомянуть ингибиторы гистондеацетилаз (HDACi), вориностат и ромидепсин: они препятствуют удалению ацетильных групп из гистонов, ведущему к открытию структуры хроматина и активации ранее неактивных генов. Таким образом, эти препараты способствуют восстановлению здоровых или близких к нормальным паттернов экспрессии генов, одновременно подавляя рост опухолевых клеток через изменение эпигенетического ландшафта. Вориностат и ромидепсин получили одобрение Управления по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA, Food and Drug Administration) для лечения кожной Т-клеточной лимфомы у пациентов с прогрессирующим течением заболевания [48].

Кроме того, внимания заслуживают ингибиторы протеин-аргинин-N-метилтрансферазы (PRMTi): дисрегуляция PRMT считается одним из ключевых факторов в развитии и прогрессировании опухоли. Имеются опубликованные работы, описывающие клинические испытания, проводимые с применением PRMTi для лечения различных типов опухолей, включая солидные опухоли и гематологические злокачественные новообразования [49, 50]. Исследования показывают, что совместное применение PRMTi I и V типов может вызывать цитотоксичность за счёт снижения уровня метиларгинина [51].

CRISPR/Cas9 и другие системы редактирования генома

Интеграция технологии CRISPR/Cas9 в исследования эпигенетики открыла новые возможности для точной регуляции генов без изменения нуклеотидной последовательности ДНК [52]. Эта технология была адаптирована для непосредственной модификации эпигенетических маркеров, что облегчает модуляцию экспрессии генов через эпигенетическую перестройку. Здесь мы обсудим последние научные достижения в применении CRISPR/Cas9 для эпигенетических модификаций, сосредоточив внимание на молекулярных и генетических аспектах этих изменений.

Одно из наиболее значимых применений CRISPR/Cas9 в эпигенетике – это целенаправленное изменение метиляции ДНК, ключевого эпигенетического маркера, влияющего на экспрессию генов путём изменения доступно-

сти ДНК для транскрипционных факторов. Исследователи создали фьюжн-протеины, которые сочетают dCas9 («мёртвый» Cas9, лишённый эндонуклеазной активности) с ДНК-метилтрансферазами или деметилазами. Например, dCas9, объединённый с каталитическим доменом ДНК-метилтрансферазы 3A (DNMT3A, DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A), использовался для специфического метилирования промоторных регионов генов, что приводит к их подавлению. В свою очередь, dCas9 в сочетании с ферментами TET (Ten-eleven translocation) может деметилировать специфические участки ДНК, тем самым активируя экспрессию генов [52, 53].

CRISPR/Cas9 также адаптирован для модификации гистонов, которые играют важную роль в регуляции структуры хроматина и экспрессии генов. Направляя dCas9, связанный с модификаторами гистонов, к конкретным локусам генома, исследователи могут изменять гистоновые марки, связанные с этими регионами. Например, привязка dCas9 к ацетилтрансферазе p300 позволяет целенаправленно ацетилировать гистоны, обычно приводя к усилению транскрипционной активации. Аналогично, рекрутирование HDACs к определенным участкам хроматина через dCas9 может снижать экспрессию генов за счёт удаления ацетильных групп [54].

Помимо модификации ДНК и гистонов, CRISPR/Cas9 используется для непосредственного вмешательства в транскрипцию или её активации. Этот метод, известный как CRISPR-интерференция (CRISPRi) и CRISPR-активация (CRISPRa), использует dCas9, присоединённый к транскрипционным репрессорам или активаторам. CRISPRi обычно включает привлечение к dCas9 домена репрессора KRAB (Krüppel-associated box), что приводит к подавлению транскрипции. CRISPRa, с другой стороны, использует слияние dCas9 с транскрипционными активаторами, такими как VP64 или VPR, для усиления экспрессии генов в целевых локусах [55].

Недавние исследования расширили область применения CRISPR/Cas9 для эпигенетических модификаций, исследуя их терапевтический потенциал. Например, целенаправленное деметилирование локуса FOXP3 с использованием dCas9-TET было исследовано для повышения экспрессии этого гена в регуляторных Т-клетках, что может предложить новый подход к лечению аутоиммунных заболеваний [56]. Кроме того, CRISPR/Cas9 использовалась для изучения эпигенетических механизмов, лежащих в основе прогрессирования рака и устойчивости к терапии, предоставляя новые взгляды, которые могут привести к разработке новых эпигенетических терапий онкологических заболеваний резистентных к стандартной химиотерапии [57].

В заключение CRISPR/Cas9 превратилась из инструмента редактирования генома в универсальную технологию для эпигенетических модификаций, обеспечивая беспрецедентную точность в изучении и манипуляции эпигенетическими маркерами. Эти достижения не только улучшают наше понимание регуляции экспрессии генов на эпигенетическом уровне, но и открывают перспективы для инновационных терапевтических стратегий, направленных на эпигеном.

Влияние эпигенетических модификаций на микроокружение опухоли и потенциальные терапевтические стратегии

Развитие опухолевого процесса тесно связано с хроническим воспалением и способностью уклоняться от иммунного ответа. Хроническое воспаление, развивающееся под действием множества иммунных медиаторов, играет ключевую роль в развитии и прогрессировании опухолей. Воспалительные медиаторы, в частности TNF-α и интерлейкины, могут инициировать опухолевый рост и способствовать ему. Они взаимодействуют с компонентами опухолевого микроокружения, включая клетки врождённого иммунитета (макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки, дендритные клетки и естественные клетки-киллеры, адаптивные иммунные клетки (Т- и В-лимфоциты) и клетки стромы (фибробласты, эндотелиальные клетки, перициты, мезенхимальные клетки), обостряя воспалительный процесс и способствуя прогрессированию опухоли (рис. 1). Особая роль в этом процессе принадлежит транскрипционным факторам, в частности NF-κB [58].

В рамках этого процесса опухолевые клетки и клетки микроокружения, такие как макрофаги и Т-лимфоциты, вырабатывают ряд цитокинов, влияющих на развитие опухоли. Секреция таких молекул, как интерлейкин (IL) 6 и IL-17, стимулирует прогрессирование опухоли, в то время как IL-12 и TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) могут оказывать противоопухолевое действие. Механизмы иммунного ответа, включая иммунные рецепторы и белки клеточной поверхности, также играют важную роль в воспалении и опухолевом росте, обеспечивая взаимодействие между опухолевыми и иммунными клетками [59].

Взаимодействие между опухолевыми клетками и клетками иммунной системы в микроокружении опухоли влияет на прогрессирование опухоли. Ключевым элементом этого процесса является регуляция иммунного ответа, включающая как провоспалительные, так и противовоспалительные механизмы. Эти сложные взаимодействия определяют, каким образом раковые клетки могут продолжать расти и распространяться, уклоняясь от иммунного контроля. Это динамическое взаимодействие в опухолевом микроокружении представляет собой мишень для новых терапевтических стратегий, направленных на модуляцию иммунного ответа для борьбы с опухолью.

Одна из центральных ролей в регуляции этого процесса принадлежит цитокинам. Цитокины играют двойственную роль в развитии опухолей: в некоторых случаях они способствуют инициации и росту опухоли, а в других – останавливают её развитие. Эта функция цитокинов тесно связана с эпигенетическими изменениями генов, которые кодируют эти белки. Эти изменения могут усилить их роль в развитии опухолей [60].

Ключевым аспектом исследования в этой области являются супрессоры передачи сигналов цитокинов (SOCS, suppressor of cytokine signalling), особенно SOCS-1 и SOCS-7. Эти белки являются негативными регу-

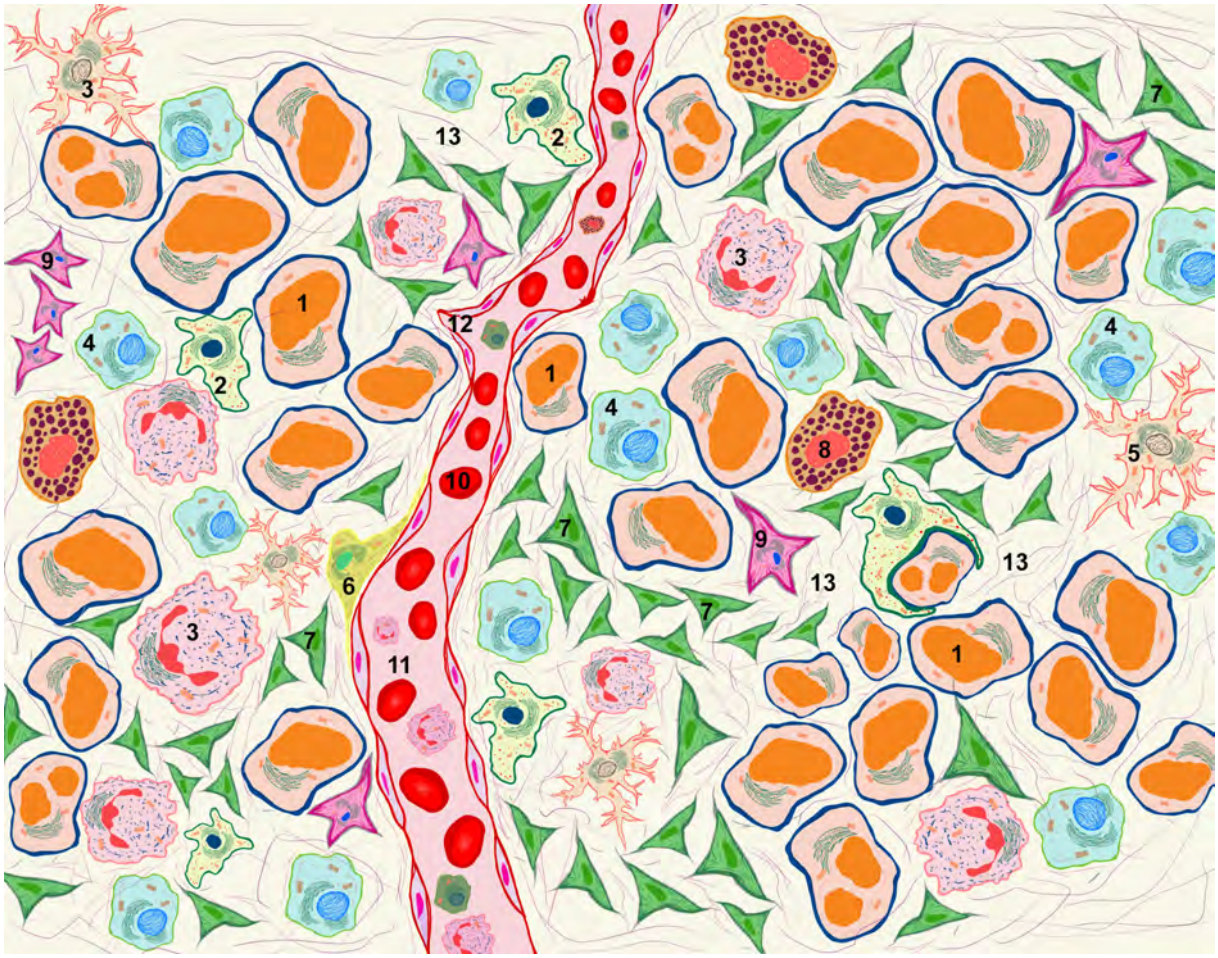


РИС. 1.
Опухолевое микроокружение: **1** *– опухолевая клетка;* **2** *– макрофаг;* **3** *– нейтрофил;* **4** *– лимфоцит;* **5** *– дендритная клетка;* **6** *– перицит;* **7** *– фибробласт;* **8** *– эозинофил;* **9** *– унипотентная стволовая клетка;* **10** *– эритроцит;* **11** *– кровеносный капилляр;* **12** *– патологический неоангиогенез;* **13** *– межклеточное пространство*

FIG. 1.
Tumor microenvironment: **1** *– tumor cell;* **2** *– macrophage;* **3** *– neutrophil;* **4** *– lymphocyte;* **5** *– dendritic cell;* **6** *– pericyte;* **7** *– fibroblast;* **8** *– eosinophil;* **9** *– unipotent stem cell;* **10** *– erythrocyte;* **11** *– blood capillary;* **12** *– pathological neoangiogenesis;* **13** *– intercellular space*

ляторами пути JAK-STAT (Janus kinases – signal transducer and activator of transcription proteins), который играет важную роль в иммунном ответе и влияет на рост и дифференцировку клеток. В частности, JAK и белки STAT участвуют в цитокиновом сигнальном пути. При связывании цитокина с его рецептором активируется JAK, который фосфорилирует STAT, приводя их к активации как факторов транскрипции.

Исследования показали, что нарушения в пути JAK-STAT могут играть роль в развитии различных типов рака, включая гепатоцеллюлярную карциному и немелкоклеточный рак лёгких [61]. В нормальных клетках белки SOCS, включая SOCS-1 и SOCS-3, ингибируют этот сигнальный путь, подавляя фосфорилирование STAT и тем самым препятствуя развитию рака. Гиперметилирование генов SOCS связано с различными формами рака, включая рак желудка, простаты и толстой кишки [62].

В дополнение к SOCS важную роль в канцерогенезе играют хемокины. Они участвуют в воспалительном ответе и могут способствовать неопластической трансформации, прогрессированию рака и ангиогенезу. Эпигенетические изменения в генах хемокиновых рецепторов могут приводить к их сверхэкспрессии, что в свою очередь способствует образованию опухолей. Например, изменения в метилировании генов, таких как *CXCR4* и *CCR7*, связаны с прогрессированием меланомы и рака молочной железы [58].

Таким образом, цитокины и хемокины в аспекте эпигенетических нарушений, развития и прогрессирования различных форм рака играют значительную роль. Эти знания могут помочь в разработке новых терапевтических стратегий для лечения рака.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метилирование ДНК представляет собой ключевой эпигенетический механизм, играющий важную роль в регуляции генной экспрессии и развитии заболева-

ний. Оно влияет на доступность ДНК для транскрипционных факторов и может приводить к долгосрочным изменениям в экспрессии генов. Важность метилирования ДНК особенно заметна в контексте развития эмбриона, клеточной дифференциации, а также при развитии различных заболеваний, включая опухолевую, неврологическую и метаболическую патологию.

Модификации гистонов также играют критическую роль в регуляции структуры хроматина и активности генов, влияя на физиологические процессы и патологические состояния. Эпигенетическая регуляция через некодирующие РНК, включая lncRNA и miRNA, представляет собой дополнительный уровень контроля, который может манипулировать экспрессией генов и играть важную роль в развитии заболеваний.

Иммунные механизмы, такие как пути JAK-STAT и их регуляция через белки SOCS, играют важную роль в иммунном ответе и канцерогенезе. Исследования показывают, что нарушения в этих путях могут способствовать развитию различных форм рака, подчёркивая важность эпигенетических изменений в регуляции этих путей. Эпигенетические модификации, включая метилирование ДНК и ацетилирование гистонов, также играют ключевую роль в воспалительных реакциях и взаимодействиях в микроокружении опухоли, что открывает новые направления для разработки терапевтических стратегий.

Технология CRISPR/Cas9 открывает новые возможности для целенаправленной модификации эпигенетических маркеров, предоставляя инструменты для точной регуляции генной экспрессии и разработки новых терапевтических подходов. Применение эпигенетических механизмов в медицинской практике может способствовать разработке инновационных методов лечения, основанных на понимании молекулярных и генетических аспектов эпигенетики.

В целом эпигенетика представляет собой многообещающую область, которая продолжает раскрывать свои секреты, предлагая новые направления для исследований и клинических применений в борьбе с широким спектром заболеваний.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. van Speybroeck L. From epigenes to epigenetics: The case of C.H. Waddington. *Ann N Y Acad Sci*. 2002; 981: 61-81.

2. Li Y. Modern epigenetics methods in biological research. *Methods*. 2021; 187: 104-113. doi: 10.1016/j.ymeth.2020.06.022

3. Зиганшин А.М., Мулюков А.Р., Омаров М.А., Мудров В.А., Халитова Р.Ш. Перспективы применения системы CRISPR/Cas9 в лечении вирусных заболеваний человека. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 40-50. [Ziganshin AM, Mulyukov AR, Omarov MA, Mudrov VA, Khalitova RSh. Prospects for using CRISPR/Cas9 system in the treatment of human viral diseases. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 40-50. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.5

4. Шарипов Р.А., Омаров М.А., Мулюков А.Р., Дыбова А.И., Вяселева Э.Т., Каюмова Н.Б., и др. Возможности применения системы CPISPR-Cas9 для коррекции генетических мутаций. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2023; 41(3): 3-8. [Sharipov RA, Omarov MA, Mulyukov AR, Dybova AI, Vyaseleva ET, Kayumova NB, et al. Benefits of using the CRISPR/Cas9 system in the modification of genetic disorders. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2023; 41(3): 3-8. (In Russ.)]. doi: 10.17116/molgen2023410313

5. Ansari I, Chaturvedi A, Chitkara D, Singh S. CRISPR/Cas mediated epigenome editing for cancer therapy. *Semin Cancer Biol*. 2022; 83: 570-583. doi: 10.1016/j.semcancer.2020.12.018

6. Yao S, He Z, Chen C. CRISPR/Cas9-mediated genome editing of epigenetic factors for cancer therapy. *Human Gene Ther*. 2015; 26(7): 463-471. doi: 10.1089/hum.2015.067

7. Максименко Л.В. Эпигенетика как доказательная база влияния образа жизни на здоровье и болезни. *Профилактическая медицина*. 2019; 22(2): 115-120. [Maksimenko LV. Epigenetics as an evidence base of the impact of lifestyle on health and disease. *Russian Journal of Preventive Medicine*. 2019; 22(2): 115-120. (In Russ.)]. doi: 10.17116/profmed201922021115

8. Заняткин И.А., Титова А.Г., Баёв А.В. Актуальные методы анализа изменений эпигенетического ландшафта организма, вызванных воздействием загрязнителей окружающей среды. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2021; 23(1): 39-47. [Zanyatkin IA, Titova AG, Bayov AV. Modern methods for analysis of changes to epigenetic landscape caused by exposure to environmental pollutants. *Extreme Medicine*. 2021; 23(1): 39-47. (In Russ.)]. doi: 10.47183/mes.2021.003

9. Refn MR, Andersen MM, Kampmann ML, Tfelt-Hansen J, Sørensen E, Larsen MH, et al. Longitudinal changes and variation in human DNA methylation analysed with the Illumina MethylationEPIC BeadChip assay and their implications on forensic age prediction. *Sci Rep*. 2023; 13(1): 21658. doi: 10.1038/s41598-023-49064-7

10. Каплун Д.С., Калюжный Д.Н., Прохорчук Е.Б., Женило С.В. Метилирование ДНК: Распределение в геноме, механизм регуляции и мишень для терапии. *Acta Naturae*. 2022; 14(4): 4-19. [Kaplun DS, Kaluzhny DN, Prokhortchouk EB, Zhenilo SV. DNA methylation: Genomewide distribution, regulatory mechanism and therapy target. *Acta Naturae*. 2022; 14(4): 4-19. (In Russ.)]. doi: 10.32607/actanaturae.11822

11. Chen X, Xu X, Shen X, Li H, Zhu C, Chen R, et al. Genome-wide investigation of DNA methylation dynamics reveals a critical role of DNA demethylation during the early somatic embryogenesis of *Dimocarpus longan* Lour. *Tree Physiol*. 2020; 40(12): 1807-1826. doi: 10.1093/treephys/tpaa097

12. Zhu L, Li X, Yuan Y, Dong C, Yang M. APC promoter methylation in gastrointestinal cancer. *Front Oncol*. 2021; 11: 653222. doi: 10.3389/fonc.2021.653222

13. Seo EH, Kim HJ, Kim JH, Lim B, Park JL, Kim SY, et al. ONECUT2 upregulation is associated with CpG hypomethylation at promoter-proximal DNA in gastric cancer and triggers ACSL5. *Int J Cancer*. 2020; 146(12): 3354-3368. doi: 10.1002/ijc.32946

14. Нужный Е.П., Абрамычева Н.Ю., Николаева Н.С., Ершова М.В., Клюшников С.А., Илларионшкин С.Н., и др. Эпигенетическая регуляция клинических проявлений болезни Фридрейха.

Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2020; 120(1): 20-26. [Nuzhnyi EP, Abramycheva NYu, Nikolaeva NS, Ershova MV, Klyushnikov SA, Illarioshkin SN, et al. Epigenetic regulation of clinical manifestations of Friedreich's disease. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2020; 120(1): 20-26. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro202012001120

15. Hammond CM, Strømme CB, Huang H, Patel DJ, Groth A. Histone chaperone networks shaping chromatin function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2017; 18(3): 141-158. doi: 10.1038/nrm.2016.159

16. Martire S, Gogate AA, Whitmill A, Tafessu A, Nguyen J, Teng YC, et al. Phosphorylation of histone H3.3 at serine 31 promotes p300 activity and enhancer acetylation. *Nat Gen*. 2019; 51(6): 941-946. doi: 10.1038/s41588-019-0428-5

17. Yang Z, Xu F, Teschendorff AE, Zhao Y, Yao L, Li J, et al. Insights into the role of long non-coding RNAs in DNA methylation mediated transcriptional regulation. *Front Biosci*. 2022; 9: 1067406. doi: 10.3389/fmolb.2022.1067406

18. Zhang L, Chai R, Tai Z, Miao F, Shi X, Chen Z, et al. Noval advance of histone modification in inflammatory skin diseases and related treatment methods. *Front Immunol*. 2024; 14: 1286776. doi: 10.3389/fimmu.2023.1286776

19. Карпенко Д.В., Петинати Н.А., Дризе Н.И., Бигильдеев А.Е. Роль эпигенетических модификаций ДНК и гистонов в лечении онкогематологических заболеваний. *Гематология и трансфузиология*. 2021; 66(2): 263-279. [Karpenko DV, Petinati NA, Drize NJ, Bigildeev AE. The role of epigenetic modifications of DNA and histones in the treatment of oncohematological diseases. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2021; 66(2): 263-279. (In Russ.)]. doi: 10.35754/0234-5730-2021-66-2-263-279

20. Бушуева О.Ю., Барышева Е.М., Марков А.В., Королёва Ю.А., Чуркин Е.О., Назаренко М.С., и др. Молекулярные и эпигенетические механизмы вовлеченности генов редокс-гомеостаза в формирование различных сердечно-сосудистых заболеваний. *Медицинская генетика*. 2020; 19(5): 66-68. [Bushueva OYu, Barysheva EM, Markov AV, Koroleva YuA, Churkin EO, Nazarenko MS, et al. Molecular and epigenetic mechanisms of the involvement of redox-homeostasis genes in the development of various cardiovascular diseases. *Medical Genetics*. 2020; 19(5): 66-68. (In Russ.)]. doi: 10.25557/2073-7998.2020.05.66-68

21. Garcia-Martinez L, Zhang Y, Nakata Y, Chan HL, Morey L. Epigenetic mechanisms in breast cancer therapy and resistance. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 1786. doi: 10.1038/s41467-021-22024-3

22. Yin J, Gu T, Chaudhry N, Davidson NE, Huang Y. Epigenetic modulation of antitumor immunity and immunotherapy response in breast cancer: Biological mechanisms and clinical implications. *Front Immunol*. 2024; 14: 1325615. doi: 10.3389/fimmu.2023.1325615

23. Mathur R, Jha NK, Saini G, Jha SK, Shukla SP, Filipejová Z, et al. Epigenetic factors in breast cancer therapy. *Front Gen*. 2022; 13: 886487. doi: 10.3389/fgene.2022.886487

24. Wu J, Chai H, Shan H, Pan C, Xu X, Dong W, et al. Histone methyltransferase SETD1A induces epithelial-mesenchymal transition to promote invasion and metastasis through epigenetic reprogramming of snail in gastric cancer. *Front Cell Dev Biol*. 2021; 9: 657888. doi: 10.3389/fcell.2021.657888

25. Cheng JT, Wang L, Wang H, Tang FR, Cai WQ, Sethi G, et al. Insights into biological role of LncRNAs in epithelial-mesenchymal transition. *Cells*. 2019; 8(10): 1178. doi: 10.3390/cells8101178

26. Prieto-García E, Díaz-García CV, García-Ruiz I, Agulló-Ortuño MT. Epithelial-to-mesenchymal transition in tumor progression. *Med Oncol*. 2017; 34(7): 122. doi: 10.1007/s12032-017-0980-8

27. Uddin MS, Mamun AA, Alghamdi BS, Tewari D, Jeandet P, Sarwar MS, et al. Epigenetics of glioblastoma multiforme: From molecular mechanisms to therapeutic approaches. *Sem Cancer Biol*. 2022; 83: 100-120. doi: 10.1016/j.semcancer.2020.12.015

28. Rönn T, Ofori JK, Perfilyev A, Hamilton A, Pircs K, Eichelmann F, et al. Genes with epigenetic alterations in human pancreatic islets impact mitochondrial function, insulin secretion, and type 2 diabetes. *Nat Commun*. 2023; 14(1): 8040. doi: 10.1038/s41467-023-43719-9

29. Loh M, Zhou L, Ng HK, Chambers JC. Epigenetic disturbances in obesity and diabetes: Epidemiological and functional insights. *Mol Metab*. 2019; 27(Suppl): S33-S41. doi: 10.1016/j.molmet.2019.06.011

30. Wu X, Xu M, Geng M, Chen S, Little PJ, Xu S, et al. Targeting protein modifications in metabolic diseases: Molecular mechanisms and targeted therapies. *Signal Transduct Target Ther*. 2023; 8(1): 220. doi: 10.1038/s41392-023-01439-y

31. Гомазков О.А. Сигнальные молекулы мозга и эпигенетические факторы при нейродегенеративных и психических расстройствах. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2015; 115(10): 102-110. [Gomazkov OA. Signaling molecules in the brain and epigenetic factors in neurodegenerative and mental disorders. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2015; 115(10): 102-110. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro2015115101102-110

32. Емельянов А.К., Лавринова А.О., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А., Милюхина И.В., Тимофеева А.А., и др. Эпигенетическая регуляция экспрессии гена *SNCA* при болезни Паркинсона. *Медицинская генетика*. 2020; 19(4): 96-98. [Emelyanov Ak, Lavrinova AO, Melnikova NV, Dmitriev AA, Miliukhina IV, Timofeeva AA, et al. Epigenetic regulation of *SNCA* gene expression in Parkinson's disease. *Medical Genetics*. 2020; 19(4): 96-98. (In Russ.)]. doi: 10.25557/2073-7998.2020.04.96-98

33. Smith AR, Smith RG, Pishva E, Hannon E, Roubroeks JAY, Burrage J, et al. Parallel profiling of DNA methylation and hydroxymethylation highlights neuropathology-associated epigenetic variation in Alzheimer's disease. *Clin Epigenetics*. 2019; 11(1): 52. doi: 10.1186/s13148-019-0636-y

34. Яковенко Е.В., Федотова Е.Ю., Иллариошкин С.Н. Метилирование ДНК при болезни Паркинсона. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2020; 14(4): 75-81. [Yakovenko EV, Fedotova EY, Illarioshkin SN. DNA methylation in Parkinson disease. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2020; 14(4): 75-81. (In Russ.)]. doi: 10.25692/ACEN.2020.4.10

35. Song H, Chen J, Huang J, Sun P, Liu Y, Xu L, et al. Epigenetic modification in Parkinson's disease. *Front Cell Dev Biol*. 2023; 11: 1123621. doi: 10.3389/fcell.2023.1123621

36. McMillan KJ, Murray TK, Bengoa-Vergniory N, Cordero-Llana O, Cooper J, Buckley A, et al. Loss of MicroRNA-7 regulation leads to α-synuclein accumulation and dopaminergic neuronal loss *in vivo*. *Mol Ther*. 2017; 25(10): 2404-2414. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.08.017

37. Moodie FM, Marwick JA, Anderson CS, Szulakowski P, Biswas SK, Bauter MR, et al. Oxidative stress and cigarette smoke alter chromatin remodeling but differentially regulate NF-kappaB activation and proinflammatory cytokine release in alveolar

epithelial cells. *FASEB J*. 2004; 18(15): 1897-1899. doi: 10.1096/fj.04-1506fje

38. Dailah HG. Therapeutic potential of small molecules targeting oxidative stress in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): A comprehensive review. *Molecules*. 2022; 27(17): 5542. doi: 10.3390/molecules27175542

39. Чаулин А.М., Дупляков Д.В. Коморбидность хронической обструктивной болезни легких и сердечно-сосудистых заболеваний. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021; 20(3): 2539. [Chaulin AM, Duplyakov DV. Comorbidity in chronic obstructive pulmonary disease and cardiovascular disease. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021; 20(3): 2539. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1728-8800-2021-2539

40. Kato R, Mizuno S, Kadowaki M, Shiozaki K, Akai M, Nakagawa K, et al. Sirt1 expression is associated with CD31 expression in blood cells from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res*. 2016; 17(1): 139. doi: 10.1186/s12931-016-0452-2

41. Günes Günsel G, Conlon TM, Jeridi A, Kim R, Ertüz Z, Lang NJ, et al. The arginine methyltransferase PRMT7 promotes extravasation of monocytes resulting in tissue injury in COPD. *Nat Commun*. 2022; 13(1): 1303. doi: 10.1038/s41467-022-28809-4

42. Mongelli A, Atlante S, Bachetti T, Martelli F, Farsetti A, Gaetano C. Epigenetic signaling and RNA regulation in cardiovascular diseases. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(2): 509. doi: 10.3390/ijms21020509

43. Liu Y, Peng W, Qu K, Lin X, Zeng Z, Chen J, et al. TET2: A novel epigenetic regulator and potential intervention target for atherosclerosis. *DNA Cell Biol*. 2018; 37(6): 517-523. doi: 10.1089/dna.2017.4118

44. Chapski DJ, Cabaj M, Morselli M, Mason RJ, Soehalim E, Ren S, et al. Early adaptive chromatin remodeling events precede pathologic phenotypes and are reinforced in the failing heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2021; 160: 73-86. doi: 10.1016/j.yjmcc.2021.07.002

45. Markus HS, Mäkelä KM, Bevan S, Raitoharju E, Oksala N, Bis JC, et al. Evidence HDAC9 genetic variant associated with ischemic stroke increases risk via promoting carotid atherosclerosis. *Stroke*. 2013; 44(5): 1220-1225. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.000217

46. Pappalardi MB, Keenan K, Cockerill M, Kellner WA, Stowell A, Sherk C, et al. Discovery of a first-in-class reversible DNMT1-selective inhibitor with improved tolerability and efficacy in acute myeloid leukemia. *Nat Rev Cancer*. 2021; 2(10): 1002-1017.

47. Merkerova MD, Klema J, Kundrat D, Szikszai K, Krejcik Z, Hrustincova A, et al. Noncoding RNAs and their response predictive value in azacitidine-treated patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes. *Cancer Genomics Proteomics*. 2022; 19(2): 205-228. doi: 10.21873/cgp.20315

48. Jenke R, Reßing N, Hansen FK, Aigner A, Büch T. Anticancer therapy with HDAC inhibitors: Mechanism-based combination strategies and future perspectives. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(4): 634. doi: 10.3390/cancers13040634

49. Wu Q, Schapira M, Arrowsmith CH, Barsyte-Lovejoy D. Protein arginine methylation: From enigmatic functions to therapeutic targeting. *Nat Rev Drug Discov*. 2021; 20(7): 509-530. doi: 10.1038/s41573-021-00159-8

50. Mersaoui SY, Yu Z, Coulombe Y, Karam M, Busatto FF, Masson JY, et al. Arginine methylation of the DDX5 helicase RGG/RG motif by PRMT5 regulates resolution of RNA: DNA hybrids. *EMBO J*. 2019; 38(15): e100986. doi: 10.15252/embj.2018100986

51. Fedoriw A, Rajapurkar SR, O'Brien S, Gerhart SV, Mitchell LH, Adams ND, et al. Anti-tumor activity of the type I PRMT inhibitor, GSK3368715, synergizes with PRMT5 inhibition through MTAP loss. *Cancer Cell*. 2019; 36(1): 100-114.e25. doi: 10.1016/j.ccell.2019.05.014

52. Spivack SD. Inactivation of endogenous genes in cancer cells using targeted promoter DNA methylation via CRISPR-DNMT3a fusion protein. *Cancer Res*. 2017; 77(13). doi: 10.1158/1538-7445.AM2017-5380

53. Zhou S, Dong J, Deng L, Wang G, Yang M, Wang Y, et al. Endonuclease-assisted PAM-free recombinase polymerase amplification coupling with CRISPR/Cas12a (E-PfRPA/Cas) for sensitive detection of DNA methylation. *ACS Sensors*. 2022; 7(10): 3032-3040. doi: 10.1021/acssensors.2c01330

54. Hilton IB, D'Ippolito AM, Vockley CM, Thakore PI, Crawford GE, Reddy TE, et al. Epigenome editing by a CRISPR-Cas9-based acetyltransferase activates genes from promoters and enhancers. *Nat Biotechnol*. 2015; 33(5): 510-517. doi: 10.1038/nbt.3199

55. Chapman B, Han JH, Lee HJ, Ruud I, Kim TH. Targeted modulation of chicken genes *in vitro* using CRISPRa and CRISPRi toolkit. *Genes (Basel)*. 2023; 14(4): 906. doi: 10.3390/genes14040906

56. Baron U, Floess S, Wieczorek G, Baumann K, Grützkau A, Dong J, et al. DNA demethylation in the human FOXP3 locus discriminates regulatory T cells from activated FOXP3(+) conventional T cells. *Eur J Immunol*. 2007; 37(9): 2378-2389. doi: 10.1002/eji.200737594

57. Vad-Nielsen J, Staunstrup NH, Kjeldsen ML, Dybdal N, Flandin G, De Stradis C, et al. Genome-wide epigenetic and mRNA-expression profiling followed by CRISPR/Cas9-mediated gene-disruptions corroborate the *MIR141/MIR200C*-ZEB1/ZEB2-FGFR1 axis in acquired EMT-associated EGFR TKI-resistance in NSCLC cells. *Transl Lung Cancer Res*. 2023; 12(1): 42-65. doi: 10.21037/tlcr-22-507

58. Habanjar O, Bingula R, Decombat C, Diab-Assaf M, Caldefie-Chezet F, Delort L. Crosstalk of inflammatory cytokines within the breast tumor microenvironment. *Int J Mol Sci*. 2023; 24: 4002. doi: 10.3390/ijms24044002

59. Zhao H, Wu L, Yan G, Chen Y, Zhou M, Wu Y, et al. Inflammation and tumor progression: Signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduct and Targeted Therapy*. 2021; 6(1): 263. doi: 10.1038/s41392-021-00658-5

60. Jones SA, Jenkins BJ. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer. *Nat Rev Immunol*. 2018; 18(12): 773-789. doi: 10.1038/s41577-018-0066-7

61. Иваненко К.А., Прасолов В.С., Хабушева Э.Р. Транскрипционный фактор Sp1 в регуляции экспрессии генов, кодирующих компоненты сигнальных путей MAPK, JAK/STAT и PI3K/Akt. *Молекулярная биология*. 2022; 56(5): 832-847. [Ivanenko KA, Prassolov VS, Khabusheva ER. Transcription factor Sp1 in the expression of genes encoding components of MAPK, JAK/STAT, and PI3K/Akt signaling pathways. *Mol Biol*. 2022; 56(5): 832-847. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S0026898422050081

62. O'Shea JJ, Schwartz DM, Villarino AV, Gadina M, McInnes IB, Laurence A. The JAK-STAT pathway: Impact on human disease and therapeutic intervention. *Ann Rev Med*. 2015; 66: 311-328. doi: 10.1146/annurev-med-051113-024537

Сведения об авторах

Омаров Магомед Абдурахманович – клинический ординатор по специальности «онкология», ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: mmaaggaa_omarov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1061-3006

Мулюков Айрат Рамильевич – клинический ординатор по специальности «анестезиология-реаниматология», ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: mulykov.165@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7490-3710

Халитов Ринат Витальевич – врач-педиатр, ГБУЗ РБ «Городская больница города Нефтекамск», e-mail: det_pol@mail.ru, https://orcid.org/0009-0003-2901-5679

Сафаров Садиг Илхам оглы – студент 5-го курса педиатрического факультета, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: safarov.sadig2016@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0006-2439-7251

Аюпова Гульнара Ураловна – студентка 6-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: gulnara.gizatullina.00@mail.ru, https://orcid.org/0009-0003-1405-3226

Демьяненко Ольга Николаевна – студентка 5-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: olgonok@bk.ru, https://orcid.org/0009-0007-8775-1817

Бутенко Владислав Владиславович – студент 5-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, e-mail: sagpresident@gmail.com, https://orcid.org/0009-0005-8202-1650

Сафронова Анастасия Андреевна – клинический ординатор по специальности «урология», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, e-mail: safranasty@gmail.com, https://orcid.org/0009-0009-5220-3268

Зайнетдинова Регина Рустамовна – студентка 6-го курса педиатрического факультета, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, e-mail: regina18402@gmail.com, https://orcid.org/0009-0000-9139-5375

Янтурина Олеся Юрьевна – студентка 5-го курса педиатрического факультета, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, e-mail: olesya@yanturin.com, https://orcid.org/0009-0008-9629-5507

Мирошников Алексей Алексеевич – студент 5-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: alexey956@hotmail.com, https://orcid.org/0009-0002-9384-9283

Information about the authors

Magomed A. Omarov – Clinical Resident in Oncology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: mmaaggaa_omarov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1061-3006

Airat R. Mulyukov – Clinical Resident in Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Bashkir State Medical University, e-mail: mulykov.165@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7490-3710

Rinat V. Khalitov – Pediatrician, Neftekamsk City Hospital, e-mail: det_pol@mail.ru, https://orcid.org/0009-0003-2901-5679

Sadig I. Safarov – Fifth Year Student at the Pediatric Faculty, Bashkir State Medical University, e-mail: safarov.sadig2016@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0006-2439-7251

Gulnara U. Ayupova – Sixth Year Student at the Medical Faculty, Bashkir State Medical University, e-mail: gulnara.gizatullina.00@mail.ru, https://orcid.org/0009-0003-1405-3226

Olga N. Demianenko – Fifth Year Student at the Medical Faculty, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: olgonok@bk.ru, https://orcid.org/0009-0007-8775-1817

Vladislav V. Butenko – Fifth Year Student at the Medical Faculty, North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, e-mail: sagpresident@gmail.com, https://orcid.org/0009-0005-8202-1650

Anastasia A. Safronova – Clinical Resident in Urology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University, e-mail: safranasty@gmail.com, https://orcid.org/0009-0009-5220-3268

Regina R. Zainetdinova – Sixth Year Student at the Pediatric Faculty, Bashkir State Medical University, e-mail: regina18402@gmail.com, https://orcid.org/0009-0000-9139-5375

Olesia Yu. Ianturina – Fifth Year Student at the Pediatric Faculty, Bashkir State Medical University, e-mail: olesya@yanturin.com, https://orcid.org/0009-0008-9629-5507

Aleksei A. Miroshnikov – Fifth Year Student at the Medical Faculty, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: alexey956@hotmail.com, https://orcid.org/0009-0002-9384-9283

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ
INFECTIOUS DISEASES

HIGH SEROPREVALENCE TO SARS-COV-2 AMONG HEALTHCARE AND NON-HEALTHCARE WORKERS OF THE OPHTHALMOLOGY CENTER

Palyanova N.V. [1],
Chechenin M.G. [1],
Trunov A.N. [1, 2],
Sobolev I.A. [1],
Shestopalov A.M. [1]

[1] Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (Timakova str. 2, Novosibirsk 630117, Russian Federation)
[2] Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Kolkhidskaya str. 10, Novosibirsk 630096, Russian Federation)

Corresponding author:
Natalia V. Palyanova,
e-mail: natalia.palyanova@gmail.com

ABSTRACT

Background. *The pandemic of COVID-19 raised safety concerns for healthcare workers while non-medical personnel were left unattended. Comparing the levels of seroprevalence to SARS-CoV-2 and vaccination in different employee groups will allows us to assess the risk of infection and develop a strategy to minimize the spread of infections in medical institutions in future.*

The aim. *To identify the level of seroprevalence to SARS-CoV-2 for seven groups of medical center workers.*

Methods. *The seroprevalence to SARS-CoV-2 was analyzed in 361 employees of the ophthalmology center in mid-2021. Data on the level of specific IgM and IgG antibodies were compared with questionnaire, including occupation data.*

Results. *Depending on occupation, workers were divided into seven groups. The average seroprevalence rate for all employees was 82.3 %, and the percentage of vaccinated employees was 27.4 %. The lowest level of seroprevalence was found in the group of maintenance staff (55.0 %) which is significantly lower ($p < 0.05$) than in the groups of doctors (84.4 %), nurses (85.6 %), administrative stuff (82.6 %) and cafeteria stuff (77.7 %). The seroprevalence rate for cleaning staff was 84.6 % and for pharmacy workers it was 80 %. The highest vaccination coverage was among doctors – 50.0 %, the lowest was among cafeteria and kitchen staff – 7.4 %.*

Discussion. *We believe the high seroprevalence is associated with asymptomatic spread of SARS-CoV-2.*

Conclusions. *High seroprevalence was among doctors and nurses, pharmacy workers, canteen workers, cleaners, as well as administration workers. Anti-epidemic measures for these groups will reduce the spread of infectious diseases and help retain staff during the seasonal increase in incidence.*

Key words: *SARS-CoV-2, seroprevalence, vaccination, healthcare workers, non-healthcare workers, IgM, IgG*

Received: 30.09.2024
Accepted: 16.12.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Palyanova N.V., Chechenin M.G., Trunov A.N., Sobolev I.A., Shestopalov A.M. High seroprevalence to SARS-CoV-2 among healthcare and non-healthcare workers of the ophthalmology center. *Acta biomedica scientifica.* 2024; 9(6): 34-43. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.4

ВЫСОКАЯ СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ К SARS-COV-2 СРЕДИ МЕДИЦИНСКИХ И НЕМЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКОГО ЦЕНТРА

Пальянова Н.В. [1],
Чеченин М.Г. [1],
Трунов А.Н. [1, 2],
Соболев И.А. [1],
Шестопалов А.М. [1]

[1] ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)
[2] Новосибирский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Пальянова Наталья Валерьевна,
e-mail: natalia.palyanova@gmail.com

Статья получена: 30.09.2024
Статья принята: 16.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Пандемия COVID-19 вызвала обеспокоенность по поводу безопасности медицинских работников, в то время как немедицинский персонал остался без должного внимания. Сравнение уровней серопревалентности к SARS-CoV-2 и вакцинации в разных группах сотрудников позволяет оценить риск заражения и разработать стратегию по минимизации распространения инфекций в медицинских учреждениях.*

Цель исследования. *Выявить риски заражения SARS-CoV-2 для всех групп работников медицинского центра.*

Методы. *В середине 2021 г. серопревалентность SARS-CoV-2 проанализировали у 361 сотрудника офтальмологического центра. Уровень специфических антител IgM и IgG сравнивали с данными, указанными в опроснике, включающем информацию о профессии.*

Результаты. *В зависимости от рода деятельности рабочие были разделены на 7 групп. Средний показатель серопревалентности среди всех сотрудников составил 82,3 %, а процент вакцинированных сотрудников – 27,42 %. Самый низкий уровень серопревалентности выявлен в группе обслуживающего персонала (55 %), что значительно ниже, чем в группах врачей (84,4 %), медсестёр (85,6 %), административного персонала (82,6 %) и работников столовой (77,7 %). Уровень серопревалентности среди уборщиков составил 84,6 %, а среди работников аптек – 80 %. Самый высокий охват вакцинацией был среди врачей (50 %), самый низкий – среди работников столовой (7,4 %).*

Обсуждение. *Мы считаем, что высокая заболеваемость связана с бессимптомным распространением SARS-CoV-2.*

Заключение. *Высокий риск заражения был у врачей и медсестёр, работников аптек, столовых, уборщиц, а также у работников администрации. Противоэпидемические мероприятия для этих групп позволят снизить распространение инфекционных заболеваний и помогут сохранить здоровье персонала в период сезонного роста заболеваемости.*

Ключевые слова: *SARS-Sov-2, серопревалентность, вакцинация, работники здравоохранения, сотрудники, не являющиеся работниками здравоохранения, IgM, IgG*

Для цитирования: Пальянова Н.В., Чеченин М.Г., Трунов А.Н., Соболев И.А., Шестопалов А.М. Высокая серопревалентность к SARS-CoV-2 среди медицинских и немедицинских работников офтальмологического центра. *Acta biomedica scientifica.* 2024; 9(6): 34-43. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.4

INTRODUCTION

The COVID-19 pandemic, which began in China in late 2019, has been a major challenge for healthcare systems around the world. Medical personnel found themselves at an increased risk of infection due to numerous contacts associated with professional activities [1]. Infection of medical personnel occurred both as a result of contact with patients in infectious diseases departments of hospitals and through interaction with asymptomatic spreaders of infection when providing care not related to infectious diseases [2]. So, non-medical healthcare workers are also at increased risk of infection, as many of them also interact with large numbers of patients. Despite the fact that in non-infectious medical institutions, rules have been established prohibiting the admission of patients with signs of acute respiratory viral infection, patients with asymptomatic COVID-19 can infect staff and other patients, if the mandatory PCR test was done before the onset of asymptomatic disease. Factors influencing the level of seroprevalence in the group are low income, low education, and densely populated centers [3]. An analysis of similar factors was carried out in different countries of the world and the results differ significantly, because each country has its own specifics. Thus, in April 2021, among workers at a university hospital in Colombia, the overall seroprevalence was 35 % (35 % among medical personnel and 33 % among non-medical personnel) [4]. In 2020–2021 in Iran, the seroprevalence among healthcare workers at a children's hospital was 8.8 % of employees before vaccination, and 50 % after the second dose of the SARS-CoV-2 vaccine [5]. Seropositivity among North Carolinians by February 15, 2021, among health care workers and non-health care workers was 83 % and 49 %, respectively [6]. The seroprevalence study in 170 healthcare workers of infectious disease departments of the Arkhangelsk region providing medical care to COVID-19 patients in May 2021 revealed 91.2 % healthcare workers were seropositive to SARS-CoV-2 [7]. A study to assess seroprevalence to the SARS-CoV-2 virus among health care workers and workers at two industrial enterprises in Omsk was conducted at the end of 2020 [8]. Among medical workers, the proportion of people with a positive reaction to IgG was 73.1 %. In the control group, the proportion of seropositive people was 3.9 times less – 18.6 %.

Detection of SARS-CoV-2 in tears and conjunctival secretions of infected patients with conjunctivitis [9] has revealed a threat to ophthalmologists, as conjunctivitis can be the first symptom of COVID-19. Due to this feature, the incidence among ophthalmologists turned out to be high [10]. The prevalence of SARS-CoV-2 antibodies of workers of the Ophthalmic Unit of San Giuseppe Hospital was ranged from 4 to 8 % in the first and second wave, respectively [11]. Serum was tested for the qualitative presence of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies and the difference between the frequency of SARS-CoV-2 positivity amongst team members and differences in the number of ambulatory visits was performed by the chi-square test. In our work we also used qualitative SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies test chi-square statistics.

By mid-2021, the first two waves of COVID-19 incidence ended in Novosibirsk and another rise began, associated with the arrival of the Delta variant in the region [12]. According to official data, by July 2021 in the Novosibirsk region (population 2.7 million people), 46,820 people have had an infection, which is only 1.7 % of the population of the Novosibirsk region [13]. Vaccination in risk groups, which included healthcare workers and people over 60 years of age, began at the end of 2020, after which the vaccine was available to everyone by mid-2021.

The Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution provides surgical and other ophthalmological care. Patients with symptoms of acute respiratory viral infections (ARVI) are not allowed to undergo treatment. Both medical personnel (doctors, nurses) and non-medical workers (reception, cafeteria) work with patients. In addition, the center has specialists who maintain the building or are engaged in administrative work and do not have direct contact with patients. Compliance with anti-epidemic measures, such as wearing personal protective equipment (masks, gloves) and social distancing complied with current regulations.

Identifying the characteristics of SARS-CoV-2 seroprevalence among medical and non-medical workers using the example of an ophthalmology center can help formulate recommendations for protecting personnel of non-infectious healthcare institutions from infection during periods of increased risk of infectious diseases (influenza epidemics, seasonal rise of ARVI).

The aim of the study was to compare the seroprevalence level for SARS-CoV-2 infection among medical and non-medical staff of a non-COVID hospital during the second year of the new coronavirus infection pandemic.

MATERIALS AND METHODS

Blood sampling for analysis was carried out from July 5 to July 16, 2021. Voluntary informed consent was obtained from all 361 study participants. The study was approved by the Committee on Biomedical Ethics at the Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (protocol No. 22-20).

All participants completed a short questionnaire and donated blood to determine the level of specific IgM and IgG antibodies to SARS-CoV-2. The questionnaire included full name, gender, age, whether they had COVID-19, whether they were vaccinated against SARS-CoV-2, and their occupation. The diagnosis of coronavirus infection was recorded verbally and was not confirmed by documents, so participants could be mistaken about the infection they had had. The vaccination was confirmed by documents.

Some study participants agreed to fill out an extended questionnaire, which included questions about gender, age, height, weight, vaccinations, occupation, lifestyle, comorbid conditions, and medications taken. Thus, 142 participants indicated their height and weight. Of the 361 participants, three did not indicate their occupation. De-

pending on the type of activity, workers were divided into 7 groups: doctors, nurses, administrative work, maintenance staff, cleaning stuff, cafeteria and kitchen stuff, and pharmacy.

Since our goal was to identify everyone who was infected with SARS-CoV-2 and could spread the infection, we determined not only IgG, which indicates a past infection, but also IgM, which indicates an early infectious process. The presence of specific IgM and IgG antibodies to SARS-CoV-2 was determined using qualitative reagent kits for the enzyme immunoassay detection of immunoglobulins of classes G and M to SARS-CoV-2 (the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), "Vector-Best", Novosibirsk, Russia). All manipulations were carried out in accordance with the manufacturer's recommendations.

Initially, the presence of each type of antibody (IgM or IgG) was assessed separately. A negative result is up to 0.8, a positive result is above 1.1, a questionable result is from 0.8 to 1.1. Next, total antibodies were assessed for each study participant (IgM + IgG): seronegative – no antibody to SARS-CoV-2, seropositive – there is at least one type of antibodies to SARS-CoV-2. Questionable results were not included in the seroprevalence analysis. Anyone who received at least one dose of the SARS-CoV-2 vaccine was considered vaccinated. Statistical analysis was carried out using the online resource [14]. For measurement values that did not correspond to normal distribution, the significance of the difference was assessed using nonparametric statistical tests, including Pearson's chi-square (χ^2) test and Fisher's exact test. Confidence intervals were calculated using Epitools [15]. The proportion of positive results with 95 % Wilson confidence interval (95% CI) was used as a general characteristic of the immune layer in the corresponding institution.

RESULTS

The study included 285 women and 76 men. People aged 40 to 60 years predominated. Age distribution is shown in Table 1.

TABLE 1

THE NUMBER OF PARTICIPANTS OF DIFFERENT AGE

Age	Number
18–30 years	15
31–40 years	64
41–50 years	106
51–60 years	121
61–72 years	49

At the start of the study, 99 of 361 people had received at least one dose of the SARS-CoV-2 vaccine (27.4 %; 95% CI: 23.1–32.2). The average body mass index (BMI) among those who reported height and weight (142 participants) was 26.11 ± 0.837 kg/m^2.

Detection of specific IgM and IgG antibodies to SARS-CoV-2

By mid-2021, 286 employees of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (79.2 %; 95% CI: 74.7–83.1) already had antibodies to SARS-CoV-2 (Table 2). Of these, 83 were vaccinated (29.0 %; 95% CI: 24.1–34.5), and the rest received immunity as a result of the disease. Only 169 of them indicated in the questionnaire that they had suffered from COVID-19 (59.1 %; 95% CI: 53.3–64.6), six additionally reported that they required hospitalization (2.1 %; 95% CI: 1.0–4.5). The seroprevalence level among all S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution employees, who indicated their profession, was 82.3 %. There was no difference in antibody to SARS-CoV-2 levels depending on age, gender, BMI, chronic diseases, comorbid conditions, and medications taken (χ^2 test).

We identified 61 seronegative S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution employees (Table 2) (16.9 %; 95% CI: 13.4–21.1). It can be assumed that these people had not previously been vaccinated against SARS-CoV-2 and did not have COVID-19, but among them four were found who indicated that they had had COVID-19

TABLE 2

THE NUMBER OF EMPLOYEES OF THE CLINIC: SEROPOSITIVE/SERONEGATIVE TO SARS-COV-2, VACCINATED OR PREVIOUSLY HAD* COVID-19

Antibodies (IgM + IgG)	Total, *n*	Vaccinated, *n*	COVID-19, *n**
Seropositive	286	83	169
Seronegative	61	14	4
Questionable	14	2	4
Total	361	99	177

Note. * – according to questionnaires.

(6.6 %; 95% CI: 2.6–15.7) and 14 cases of absence of antibodies after vaccination (14.1 % of all vaccinated; 95% CI: 8.6–23.3). The absence of antibodies in six cases (6.1 %; 95% CI: 2.8–12.6) is explained by insufficient time elapsed after vaccination (less than 15 days). For three participants, 3.5 months, 5 months and 8 months had passed since vaccination; the rest 5 of 99 did not indicate the date of vaccination in the questionnaire.

Description of questionable results

The number of employees of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution with different types of antibodies to SARS-CoV-2 is shown in Table 3.

A total of 52 study participants were identified with questionable results. Questionable IgG with positive IgM was detected in 2 study participants, one of them had COVID-19, the second one received the vaccine; questionable IgM with positive IgG was observed in 36 participants. All 38 were classified as seropositive (Table 2).

A questionable result, not supported by a positive one, was found in 14 people, among them: 2 people were vaccinated, 9 people had not previously COVID-19 and were not vaccinated, and 3 people had previously had COVID-19 but were not vaccinated. These individuals were excluded from the seroprevalence analysis.

According to questionnaires 202 or more had previously COVID-19, however, the course of the disease was not always in an obvious form. This is evidenced by the discrepancy between the status indicated in the questionnaire (had previously COVID-19/had not previously COVID-19) and the real immune status. The result of comparing the questionnaire data and the level of specific antibodies clearly demonstrate that a person cannot know for sure whether he or she has had previously COVID-19. Of the 12 people who doubted their answer to this question, 7 turned out to have antibodies (all are not vaccinated), and 5 – without antibodies (one is vaccinated), in addition, 56 people with antibodies indicated in the questionnaire that they were not sick and were not vaccinated, which means their coronavirus infection was mild or asymptomatic (of 106 not vaccinated and had not previously COVID-19, 52.8 %; 95% CI: 43.4–62.1). Thus, the answers to the question about previous COVID-19 cannot be considered reliable.

Four cases of absence of antibodies were found in people who indicated in the questionnaire that they had suffered from COVID-19. This may indicate both "self-diagnosis" and a fading of the immune response if too much time has passed since the illness. The possible extinction of the immune response is also indicated by the identification of three people in whom antibodies were not detected less than a year after vaccination, however, in most cases, antibodies persist for at least 480 days (Table 4).

TABLE 3

THE NUMBER OF EMPLOYEES OF THE S. FYODOROV EYE MICROSURGERY FEDERAL STATE INSTITUTION WITH DIFFERENT TYPES OF ANTIBODIES TO SARS-COV-2

IgM	IgG			
	Positive, *n*	Negative, *n*	Questionable, *n*	Total, *n*
Positive, *n*	103	13	2	118
Negative, *n*	132	61	3	196
Questionable, *n*	36	9	2	47
Total, *n*	271	83	7	361

TABLE 4

THE SEROPREVALENCE, THE NUMBER OF SEROPOSITIVE AND SERONEGATIVE PEOPLE AT DIFFERENT PERIODS FROM CONTACT WITH SARS-COV-2 (16 MONTHS, 103 PERSONS TESTED)

Days from contact*	Seropositive, *n*	Seronegative, *n*	Total, *n*	Seroprevalence, % (95% CI)
< 15	13	9	22	59.1 (38.7–76.7)
15–59	18	0	18	100.0 (82.4–100.0)
60–99	16	1	17	94.1 (73.0–99.0)
100–250	21	2	23	91.3 (48.3–79.6)
251–480	22	1	23	95.7 (79.0–99.2)

Note. * – in this table, the first day of exposure is considered to be either the first day of vaccine administration or the first day of COVID-19 illness, whichever comes first.

The persistence of high seroprevalence on days 251–480 after initial contact may be explained by the booster effect of repeated contact with the pathogen (vaccination, infection).

Seroprevalence to SARS-CoV-2 in different groups of employees of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution

Since 358 people indicated their position in the questionnaire, we had the opportunity to study the impact of profession on the likelihood of becoming infected. We combined similar specialties for a more accurate analysis: a group of doctors, a group of nurses, administrative workers (with documents and on a computer), maintenance staff, cleaning stuff, pharmacy stuff and people working in a cafeteria and kitchen (Table 5).

The study involved 64 doctors working at the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, including ophthalmologists, anesthesiologists-resuscitationist, and heads of the departments. Of the 43 ophthalmologists, only five do not have antibodies (one is not vaccinated); 22 managed to get vaccinated, of which 9 claim that they did not have COVID-19 before.

The percentage of vaccinated people among all the doctors turned out to be 50 % (64/344; 95 % CI: 73.6–91.3), which was significantly higher ($p < 0.05$) than in the groups "nurses", "administrative workers" and "cafeteria" (χ^2 tests respectively: 17.534, 7.087, 14.720). Among all the doctors, the most vaccinated were the heads of departments (66.7 %, 8/12; 95% CI: 39.1–86.2). Greater vaccination rate in this case can be explained by both medical education and the high responsibility of this group, which could lead to higher adherence to vaccination. We assume that ophthalmologists working with a large number of patients face to face have an increased risk of becoming infected compared to anesthesiologists and resuscitators at an ophthalmology center who constantly work in sterile rooms wearing a mask and gloves. The seroprevalence to SARS-CoV-2 among heads of departments was 75 %. The seroprevalence among all the doctors was 84.4 % (54/64; 95% CI: 74.6–91.3), which is significantly higher ($p < 0.05$) than in the maintenance staff group (χ^2 test 7.512).

Nurses, like doctors, often work in contact with infectious diseases. 146 nurses of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution of various specializations took part in this study. The seroprevalence among all S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution nurses was at the same level as that of doctors and amounted to 85.6 % (125/146; 95% CI: 79.0–90.4) which is significantly higher ($p < 0.05$) than in the maintenance staff group (χ^2 test 11.136). Of the 37 regular nurses, only 6 do not have antibodies, 9 are vaccinated. Operating room nurses and sister-hostess were the most committed to vaccination (33 % and 50 % vaccinated). Vaccination among all nurses was at the level of 21.2 % (31/146; 95% CI: 15.4–28.6) which is significantly lower ($p < 0.05$) than in the doctors' group (χ^2 test 17.534).

The group of administrative workers included people who work in offices in the same part of the clinic. Mainly they work on a computer with documents and work with people, but not in the same quantity as medical workers. The seroprevalence in this group did not differ significantly from doctors or nurses and was 82.6 % (57/69; 95% CI: 72.0–89.8) which is significantly higher ($p < 0.05$) than in the maintenance staff group (χ^2 test 6.556). Adherence to vaccination in this group was 27.5 % which is significantly lower ($p < 0.05$) than in the doctors' group (χ^2 test 7.087). The percentage of seropositive to SARS-CoV-2 chiefs, deputy directors or managers was the same as in the whole group.

TABLE 5

THE NUMBER AND PERCENTAGE OF S. FYODOROV EYE MICROSURGERY FEDERAL STATE INSTITUTION STAFF VACCINATED, SEROPOSITIVE OR SERONEGATIVE TO SARS-COV-2

Specialties	Total, *n*	Vaccinated, *n*	Seronegative, *n*	Seropositive, *n*	Seroprevalence, % (95% CI)	Vaccinated, % (95% CI)
Doctors	64	32	10	54	84.4 (73.6–91.3)	50 (38.1–61.9)
Nurses	146	31	21	125	85.6 (79.0–90.4)	21.2 (15.4–28.6)
Administrative workers	69	19	12	57	82.6 (72.0–89.8)	27.5 (18.4–39)
Maintenance staff	20	7	9	11	55.0 (34.2–74.2)	35.0 (18.1–56.7)
Cleaning	13	3	2	11	84.6 (84.6–95.7)	23.0 (8.2–50.3)
Cafeteria	27	2	6	21	77.8 (59.2–89.4)	7.4 (2.1–23.4)
Pharmacy	5	1	1	4	80.0 (37.6–96.4)	20.0 (3.6–62.4)
Total	344	95	61	283	82,3 %	27,6 %

The group of maintenance staff, which also included mechanics and drivers, was least susceptible to contact with SARS-CoV-2, because their work involves equipment and not contact with a large number of people. By mid-2021, the seroprevalence of SARS-CoV-2 in this group was only 55 % (11/20; 95% CI: 34.2–74.2), which was significantly lower ($p < 0.05$) than in the groups of "doctors", "nurses", "administrative work" (χ^2 tests, respectively: 7.512, 11.136, 6.556). Comparison of occupational subgroups showed that the lowest seroprevalence was among drivers (22 %). Out of 9 drivers, only two who were vaccinated and had antibodies, the rest had not COVID-19 before, were not vaccinated and did not had antibodies to SARS-CoV-2. Medical center drivers carry either their boss, thus contacting only one person, or cargo, some of them were on vacation due to a decrease in the amount of work during the lockdown period. Vaccination rate of all maintenance staff was 35 % (7/20; 95% CI: 18.1–56.7) which was significantly higher ($p < 0.05$) than in the cafeteria and kitchen group (χ^2 tests 5.650).

It also turned out that working in the fresh air (landscaping and cleaning the area) does not protect against SARS-CoV-2 infection – all three workers have antibodies, but according to the questionnaires they did not have COVID-19, therefore, they suffered it in an asymptomatic form.

The "cleaning" group was separated from maintenance staff or nurses, because has its own specifics of work. Cleaning personnel may be at risk of infection from contact with infected material. Although, with proper compliance with safety measures, these risks are quite low in the ophthalmology center, in contrast to specialized "COVID" hospitals. As we can see, the low infectious alertness among medical orderly is confirmed by the high seroprevalence in this group – 84.6 % (11/13; 95% CI: 84.6–95.7). The vaccination rate in this group was 23 % (3/13; 95% CI: 8.2–50.3).

As for kitchen and cafeteria workers, it can be assumed that bakers and cooks, as well as stockroom and cafeteria managers communicate less with visitors than waiters and cashiers; dishwashers are at increased risks, because they come into contact with dishes that may carry SARS-CoV-2.

It turned out that seroprevalence among kitchen and cafeteria workers was indeed lower among cooks (70 %) and higher among waiters and dishwashers (80 and 83.3 %), however, these differences were not significant. The average seroprevalence among kitchen and cafeteria workers was 77.8 % (21/27; 95% CI: 59.2–89.4). But the vaccination rate among them turned out to be the lowest among all groups and amounted to only 7.4 % (2/27; 95% CI: 2.1–23.4). It is significantly lower ($p < 0.05$) than in the doctors and maintenance staff groups (χ^2 tests: 14.720 and 5.650).

Another group with increased infectious risks is pharmacy staff. Of the five people, only the pharmacy manager did not have antibodies to SARS-CoV-2. The seroprevalence thus turned out to be at the level of doctors and amounted to 80 % (4/5; 95% CI: 37.6–96.4). Pharmacy staff vaccination rates were among the lowest (20 %, 1/5; 95% CI: 3.6–62.4), but no significant differences were found from other groups.

In Figure 1 we have combined all the information we received. The vaccination rate (pink), percentage of employees without antibodies to SARS-CoV-2 (blue) and percentage of employees with antibodies but not vaccinated (red) are shown for seven groups of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution staff.

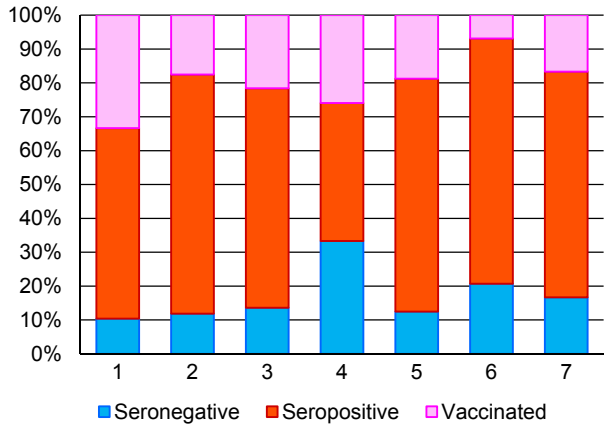


FIG. 1.

Percentage of seronegative (blue), seropositive not vaccinated (red) and seropositive vaccinated (pink) in different groups of ophthalmology center employees: 1 *– doctors (n = 64);* 2 *– nurses (n = 146);* 3 *– administrative workers (n = 69);* 4 *– maintenance staff (n = 20);* 5 *– cleaning (n = 13);* 6 *– cafeteria and kitchen (n = 27);* 7 *– pharmacy (n = 5)*

The group of doctors is distinguished by a significantly higher level of vaccination compared to the nurses, administration and cafeteria and kitchen groups and a significantly higher seroprevalence compared to the group of maintenance staff ($p < 0.05$). The group of maintenance staff has a significantly lower ($p < 0.05$) seroprevalence compared to the groups of doctors, nurses and administration, and has a significantly higher ($p < 0.05$) level of vaccination compared to the cafeteria and kitchen group.

DISCUSSION

Our results are in good agreement with earlier works showing the appearance of neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 within the first two weeks of the onset of illness or vaccination [16], then they peak after a month, and begin to decline three months after the onset of symptoms [17]. However, in our work we show that in most employees of the ophthalmology center, antibodies persist much longer than described in the first works on the dynamics of antibodies in COVID-19. We suggest it may be explained by the fact that at the beginning of the pandemic, the number of infected carriers of SARS-CoV-2 in the population was small, quarantine measures were in force eve-

rywhere, and a person who had recovered from the disease had a low probability of encountering the virus again. In addition, there was no vaccination capable of renewing fading immunity.

The incidence of COVID-19 showed a higher risk of infection for healthcare workers [1, 18, 19]. Several studies have shown a high seroprevalence in healthcare workers, which is in good agreement with our results [1, 4, 5, 18–21]. Healthcare workers whose job was in contact with patients had a higher percentage of SARS-CoV-2 infection when compared with those not in direct contact, also being a health care worker was significantly associated with getting a positive COVID-19 PCR result [22]. The wide variation in seroprevalence values in different medical organizations may indicate different levels of effectiveness of anti-epidemic measures [1, 6, 20, 21]. By mid-2021, mass vaccination began, quarantine restrictions were relaxed, and there were more asymptomatic carriers in the population due to an increase in the total number of cases [2].

Unlike most people, healthcare workers are more often in contact with patients, so we suggest they have constant additional immunization. Thus, by constantly being immunized in contact with numerous patients, even if they do not have obvious symptoms of ARVI, doctors may retain antibodies against SARS-CoV-2 longer.

When processing personal data and matching them with serological results, we noticed that the patient may be mistaken both about the absence and presence of diseases or their previous conditions. Taking an anamnesis in most cases includes interviewing the patient, but the reliability of such information may be low even if the patient does not intend to deceive the doctor. It is important to take this into account and, if possible, use more objective criteria, such as PCR or antibody test for assessing immunity to infectious diseases.

Measures to protect medical and non-medical personnel must consider all risk factors [19]. The formation of a serological response in healthcare workers is an important criterion for assessing the risks of SARS-CoV-2 and other infection [20]. In early 2020, WHO launched a prospective study and validated a protocol to evaluate potential risk factors for COVID-19 among healthcare workers in a health care facility caring for patients with confirmed COVID-19 [23]. As we show in our study, non-health care workers of the clinic and health care workers not involved in COVID-19 care also have increased probability of contact with a virus carrier. Although the risk of becoming infected in an ophthalmology center with proper safety measures should have been quite low, unlike specialized "COVID" hospitals, the seroprevalence to SARS-CoV-2 among doctors, nurses, cleaning, cafeteria and pharmacy stuff and administrative workers turned out to be unexpectedly high. This could have happened because since the beginning of the pandemic, the spread of new coronavirus infection has occurred not only through patients with obvious symptoms, but also due to the presence of asymptomatic carriers of SARS-CoV-2.

CONCLUSIONS

A retrospective analysis of screening for antibodies to SARS-CoV-2 at the height of the pandemic (summer 2021), supported by questionnaires, revealed differences in seroprevalence, vaccination and incidence of new coronavirus infection depending on profession. Not only doctors and nurses, but also non-medical staff of the ophthalmology center had a high seroprevalence to SARS-CoV-2. Anti-epidemic measures for these groups will reduce the spread of infectious diseases and help retain staff during the seasonal increase in incidence. The percentage of people with antibodies to SARS-CoV-2 6 months after vaccination or COVID-19 differs in beginning and the height of the pandemic.

Funding

In this research collecting of the biological material was funded by state assignment from the Ministry of Science and Higher Education of Russian Federation 122120600015-2, and analyzing of the data and laboratory diagnostics were funded by the Russian Science Foundation grant project No. 23-64-00005.

Institutional review board statement

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Committee on Biomedical Ethics at the Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (protocol No. 22-20, November 6, 2020).

Informed consent statement

Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data availability statement

The data presented in this study are available on request from the corresponding author due to ethical and privacy.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

REFERENCES

1. Liviero F, Volpin A, Furlan P, Battistella M, Broggio A, Fabris L, et al. The impact of SARS-CoV-2 on healthcare workers of a large University Hospital in the Veneto Region: Risk of infection and clinical presentation in relation to different pandemic phases and some relevant determinants. *Front Public Health*. 2023; 11: 1250911. doi: 10.3389/fpubh.2023.1250911

2. Palyanova N, Sobolev I, Alekseev A, Glushenko A, Kazachkova E, Markhaev A, et al. Genomic and epidemiological features of COVID-19 in the Novosibirsk Region during the beginning of the pandemic. *Viruses*. 2022; 14(9): 2036. doi: 10.3390/v14092036

3. Metzger C, Leroy T, Bochnakian A, Jeulin H, Gegout-Petit A, Legrand K, et al. Seroprevalence and SARS-CoV-2 invasion in general populations: A scoping review over the first year of the pandemic. *PLoS One*. 2023; 18(4): e0269104. doi: 10.1371/journal.pone.0269104

4. Moreno-Medina K, Sáenz Pérez LD, Villar JC, Váquiro Herrera E, Pérez Franco JE, Varón-Vega FA, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence in workers from a Colombian University Hospital. *Occup Med (Lond)*. 2023; 73(3): 128-132. doi: 10.1093/occmed/kqad003

5. Tariverdi M, Mohammadi H, Hassanzadeh F, Tamaddondar M. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies pre- and post-COVID-19 vaccination in staff members of Bandar Abbas Children's Hospital. *BMC Infect Dis*. 2024; 24(1): 253. doi: 10.1186/s12879-023-08863-z

6. Williamson JC, Wierzba TF, Santacatterina M, Munawar I, Seals AL, Pittman Ballard CA, et al.; North Carolina sites of the COVID-19 Community Research Partnership. Analysis of accumulated SARS-CoV-2 seroconversion in North Carolina: The COVID-19 Community Research Partnership. *PLoS One*. 2022; 17(3): e0260574. doi: 10.1371/journal.pone.0260574

7. Krieger EA, Samodova OV, Schepina IV, Shagrov LL, Zvezdina YuM. Humoral immunity to new coronavirus infection and vitamin D level in healthcare workers. *Journal Infectology*. 2023; 15(2): 93-104. (In Russ.) doi: 10.22625/2072-6732-2023-15-2-93-104

8. Blokh AI, Panyushkina II, Pakhtusova PO, Sergeeva IV, Levahina LI, Burashnikova IP, et al. Assessment of seroconversion to SARS-CoV-2 in health care unit personnel. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021; 20(5): 32-38. (In Russ.) doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-5-32-38

9. Xia J, Tong J, Liu M, Shen Y, Guo D. Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol*. 2020; 92(6): 589-594. doi: 10.1002/jmv.25725

10. Lacorzana J, Ortiz-Perez S, Rubio Prats M. Incidence of COVID-19 among ophthalmology professionals. *Med Clin (Barc)*. 2020; 155(5): 225. doi: 10.1016/j.medcli.2020.05.018

11. Sacchi M, Lizzio RAU, Villani E, Tagliabue E, Monsellato G, Pajardi G, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 amongst ophthalmologists throughout the first and second waves of the pandemic. *Medicine (Baltimore)*. 2021; 100(50): e28192. doi: 10.1097/MD.0000000000028192

12. Palyanova NV, Sobolev IA, Palyanov AY, Kurskaya OG, Komissarov AB, Danilenko DM, et al. The development of the SARS-CoV-2 epidemic in different regions of Siberia in the 2020–2022 period. *Viruses*. 2023; 15(10): 2014. doi: 10.3390/v15102014

13. *Yandex DataLens*. URL: https://datalens.yandex/7o7is1q6ikh23?tab=X1&state=42db05f5180 [date of access: 7.05.2024].

14. Analysis of four-field contingency tables (comparison of percentages in two groups) (online calculator). *Medstatistic*. (In Russ.). URL: https://medstatistic.ru/calculators/calchi.html [date of access: 7.05.2024].

15. *Calculate confidence limits for a sample proportion*. URL: https://epitools.ausvet.com.au/ciproportion [date of access: 1.12.2024].

16. Post N, Eddy D, Huntley C, van Schalkwyk MCI, Shrotri M, Leeman D, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS One*. 2020; 15(12): e0244126. doi: 10.1371/journal.pone.0244126

17. Wang K, Long QX, Deng HJ, Hu J, Gao QZ, Zhang GJ, et al. Longitudinal dynamics of the neutralizing antibody response to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection. *Clin Infect Dis*. 2021; 73(3): e531-e539. doi: 10.1093/cid/ciaa1143

18. Fatkhutdinova LM, Badamshina GG, Sizova EP, Patyashina MA, Stavropolskaya LV, Gabidinova GF, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and the risk of COVID-19 among different groups of healthcare workers. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2021; 61(5): 286-304. (In Russ.). doi: 10.31089/1026-9428-2021-61-5-286-304

19. Wiggen TD, Bohn B, Ulrich AK, Stovitz SD, Strickland AJ, Naumchik BM, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence among healthcare workers. *PLoS One*. 2022; 17(4): e0266410. doi: 10.1371/journal.pone.0266410

20. Agafonova EV, Kulikov SN, Reshetnikova ID, Tyurin YuA, Gilyazutdinova GF, Lopushov DV, et al. Seroprevalence study results to SARS-CoV-2 in healthcare workers: age and professional aspects. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021; 20(2): 49-57. (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2021-20-2-49-57

21. de Visscher N, Holemans X, Gillain A, Kornreich A, Lagasse R, Piette P, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence among healthcare workers after the first and second pandemic waves. *Viruses*. 2022; 14(7): 1535. doi: 10.3390/v14071535

22. Ige FA, Ohihoin GA, Osuolale K, Dada A, Onyia N, Johnson A, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 IgG among healthcare workers in Lagos, Nigeria. *PLoS One*. 2023; 18(10): e0292440. doi: 10.1371/journal.pone.0292440

23. WHO. *Protocol for assessment of potential risk factors for coronavirus disease 2019 (COVID-19) among health workers in a health care setting. Version: 2.2.* 2020. WHO/2019-nCoV/HCW_risk_factors_protocol/2020.3

Information about the authors

Natalia V. Palyanova – Junior Research Officer at the Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: natalia.palyanova@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1783-5798

Mikhail G. Chechenin – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: chechenin1970@mail.ru

Alexander N. Trunov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; Head of the Scientific Department, Novosibirsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: trunov1963@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7592-8984

Ivan A. Sobolev – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Head of the Laboratory of Genomics and Virus Evolution, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: sobolev_i@hotmail.com, https://orcid.org/0000-0002-4561-6517

Alexander M. Shestopalov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director of the Research Institute of Virology, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, e-mail: shestopalov2@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9734-0620

Authors' contribution

Palyanova N.V. – conceptualization; methodology; software; formal analysis; investigation; writing – original draft preparation; writing – review and editing; visualization; project administration.

Chechenin M.G. – conceptualization; methodology; investigation; data curation; writing – review and editing; supervision; project administration.

Trunov A.N. – validation; investigation; writing, review and editing.

Sobolev I.A. – funding acquisition.

Shestopalov A.M. – resources; funding acquisition.

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ У НОВОРОЖДЁННЫХ ДЕТЕЙ В ОСТРЫЙ ПЕРИОД НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Москалева Е.В.,
Петрова А.Г.,
Рычкова Л.В.,
Шолохов Л.Ф.,
Ахмедзянова М.Р.,
Семёнова Н.В.,
Новикова Е.А.,
Хархорина А.А.,
Колесникова Л.И.

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

Автор, ответственный за переписку:
Москалева Екатерина Владимировна,
e-mail: mkatena@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. *Данные об иммунном реагировании и цитокиновом профиле у детей при новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 противоречивы и недостаточны, что обусловливает необходимость понимания характера течения заболевания в зависимости от возраста и степени тяжести инфекции. Важность оценки рисков и прогнозирование последствий перенесённой новой коронавирусной инфекции в детском возрасте актуализируют изучение сывороточных концентраций провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.*

Цель работы. *Оценка уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у новорождённых в острый период новой коронавирусной инфекции для определения особенностей иммунного реагирования и выявления прогностических критериев течения инфекционного процесса.*

Материалы и методы. *В статье представлены результаты исследования уровня провоспалительных, противовоспалительных цитокинов и С-реактивного белка (СРБ) у новорождённых (n = 44), госпитализированных в стационар с подтверждённой новой коронавирусной инфекцией разной степени тяжести. Исследование проводилось в острый период COVID-19.*

Результаты. *У новорождённых в острый период новой коронавирусной инфекции независимо от степени тяжести наблюдается снижение концентрации в сыворотке крови интерлейкина (ИЛ) 1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, фактора некроза опухоли α, интерферона (ИНФ) γ и СРБ в сравнении с контрольной группой. Уровень ИНФ-α в сыворотке крови новорождённых как основной, так и контрольной группы не имел статистически значимых различий.*

Заключение. *Состояние цитокинового профиля у новорождённых с новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2 может быть обусловлено угнетением системы врождённого иммунитета, что требует дальнейших исследований в этом направлении и повышенного педиатрического внимания к данной категории детей.*

Ключевые слова: *новорождённые, COVID-19, провоспалительные цитокины, противовоспалительные цитокины*

Для цитирования: Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Шолохов Л.Ф., Ахмедзянова М.Р., Семёнова Н.В., Новикова Е.А., Хархорина А.А., Колесникова Л.И. Провоспалительные и противовоспалительные цитокины у новорождённых детей в острый период новой коронавирусной инфекции. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 44-51. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.5

Статья поступила: 18.10.2024
Статья принята: 06.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

PRO-INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINES IN NEONATES DURING THE ACUTE PERIOD OF NOVEL CORONAVIRUS INFECTION

Moskaleva E.V.,
Petrova A.G.,
Rychkova L.V.,
Sholokhov L.F.,
Akhmedzyanova M.R.,
Semenova N.V.,
Novikova E.A.,
Kharkhorina A.A.,
Kolesnikova L.I.

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

Corresponding author:
Ekaterina V. Moskaleva,
e-mail: mkatena@mail.ru

ABSTRACT

Background. *Research results on the immune response and cytokine profile in children with the new coronavirus infection SARS-CoV-2 are contradictory and insufficient, which necessitates the need to understand the nature of the course of the disease depending on age and severity of the infection. The importance of assessing risks and predicting the consequences of a new coronavirus infection in childhood makes the study of serum concentrations of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines relevant.*

The aim. *To study the level of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in newborns during the acute period of a new coronavirus infection to determine the characteristics of the immune response and identify prognostic criteria for the course of the infectious process.*

Materials and methods. *The article presents the results of a study of the level of pro-inflammatory, anti-inflammatory cytokines and C-reactive protein (CRP) in newborns (n = 44) hospitalized with a confirmed new coronavirus infection of varying severity. The study was conducted during the acute period of COVID-19.*

Results. Cytokine concentrations in the blood serum of newborns were determined by enzyme immunoassay. In newborns in the acute period of a new coronavirus infection, regardless of the severity, there is a decrease in serum concentrations of interleukin-1β, interleukin-4, interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor α, interferon (INF) γ and CRP compared with the control group. The level of INF-α in the blood serum of newborns of both the main and control groups did not have significant differences.

Conclusions. *The cytokine profile in newborns with the new coronavirus infection SARS-CoV-2 may be due to inhibition of the innate immune system, which requires further research in this direction and increased pediatric attention to this category of children.*

Key words: *neonates, COVID-19, proinflammatory cytokines, anti-inflammatory cytokines*

Received: 18.10.2024
Accepted: 06.12.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Moskaleva E.V., Petrova A.G., Rychkova L.V., Sholokhov L.F., Akhmedzyanova M.R., Semenova N.V., Novikova E.A., Kharkhorina A.A., Kolesnikova L.I. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in neonates during the acute period of novel coronavirus infection. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 44-51. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.5

ВВЕДЕНИЕ

В современных представлениях о патогенезе инфекционного процесса доминирует роль молекул межклеточного взаимодействия как факторов, определяющих формирование и реализацию противовирусного иммунитета [1, 2]. Имеется достаточно много данных об особенностях цитокинового профиля при острых респираторных инфекциях, гриппе и других инфекциях и о влиянии их на состояние врождённого иммунитета [3–6]. Определено значение цитокинов в развитии неуправляемой воспалительной реактивности, приводящей к системным жизнеугрожающим состояниям [7].

С началом пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), внимание исследователей всего мира направлено на изучение патогенеза, клинических вариантов, прогнозирование последствий и поиска наилучших методов терапии. Установлено, что цитокины являются ведущими в патогенетических механизмах при COVID-19, в том числе приводя к негативным последствиям, таким как цитокиновый шторм, иммунная дисрегуляция, иммунодефицит, сопровождающийся лимфопенией [8–10]. В настоящее время известно, что эффективный противовирусный иммунный ответ при новой коронавирусной инфекции реализуется через равновесие между элиминацией вирусных агентов и повреждением лёгочной ткани компонентами иммунной системы [1]. Несмотря на многочисленные исследования цитокинового профиля взрослых и ограниченные – у пациентов детского возраста при SARS-CoV-2, их результаты носят противоречивый характер, и до сих пор не сформирован однозначный взгляд на роль некоторых цитокинов в патогенезе острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), COVID-19 и пневмоний [6, 8, 11].

Тем не менее, реагирование иммунной системы ребёнка на инфекционный агент имеет значительные отличия в сравнении со взрослыми и обусловлено возрастными особенностями формирования иммунной системы, функциональное состояние которой можно охарактеризовать как иммуносупрессивное [6, 11, 12]. При этом неоднократно сообщается, что возраст является важным фактором, связанным с тяжестью заболевания у детей с COVID-19 [13]. Несмотря на то, что новая коронавирусная инфекция у детей имеет более лёгкий характер течения, имеются публикации, свидетельствующие о более тяжёлых и критических случаях у детей младше 1 года, говорящие о уязвимости данной возрастной группы для инфекции SARS-CoV-2 [14–16]. При детском мультисистемном воспалительном синдроме описано повышение провоспалительных цитокинов, таких как интерферон (ИНФ) γ, интерлейкин (ИЛ) 1β, ИЛ-10, ИЛ-6, ИЛ-17 и ИЛ-8 [7].

Данные об иммунном реагировании и цитокиновом профиле у детей при новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 противоречивы и недостаточны, что обусловливает необходимость понимания характера течения заболевания в зависимости от возраста и степени тяжести инфекции, важность оценки рисков и прогнозирование последствий перенесённой новой коронавирусной инфекции в детском возрасте, актуализацию изучения сывороточных концентраций провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка уровня провоспалительных и противовоспалительных у новорождённых в острый период новой коронавирусной инфекции для определения особенностей иммунного реагирования и выявления прогностических критериев течения инфекционного процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 44 новорождённых (основная группа), госпитализированных в 2020–2021 гг. в ОГАУЗ «Городская Ивано-Матрёнинская детская клиническая больница» г. Иркутска с диагнозом COVID-19, подтверждённым путём обнаружения SARS-CoV-2 в назофаренгиальной слизи методом полимеразной цепной реакции. В половой структуре преобладали мальчики – 65,9 % (29/44; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 51,9–79,8 %). Большинство детей в группе имели принадлежность к европеоидной расе – 84,0 % (37/44; 95% ДИ: 73,2–94,6 %). Возраст детей в день госпитализации составил 4,0 ± 3,1 дня, забор крови производился на третьи сутки пребывания в стационаре. Масса и длина тела при рождении составили 3210,0 (2720,0–3600,0) г и 51,0 (49,5–54,0) см соответственно; масса тела при поступлении в стационар – 3300,0 (2780,0–3660,0) г. Большинство новорождённых в группе родились доношенными – 88,6 % (39/44; 95% ДИ: 79,6–97,8 %), гестационный возраст составил 39,0 (38,3–40,0) недель, дети сразу были приложены к груди и в течение периода лечения в стационаре находились на грудном вскармливании – 65,9 % (29/44; 95% ДИ: 48,7–82,8 %). Контрольная группа (*n* = 80), включавшая здоровых новорождённых, по возрасту гестации, антропометрическим данным и половому признаку не отличалась от основной.

Критериями включения в группу детей с COVID-19 явились: рождение в срок гестации более 36 недель живыми; подтверждённый диагноз «COVID-19»; подписанное информированное согласие со стороны родителей и/или законных представителей ребёнка.

Критерии включения в группу контроля: рождение в срок гестации более 36 недель живыми; отсутствие диагноза «COVID-19» у ребёнка; подписанное информированное согласие со стороны родителей и/или законных представителей ребёнка.

Критерии исключения: нежелание законных представителей ребёнка принимать участие в исследовании на любом из этапов; несоответствие пациента критериям включения; лечение препаратами интерферонов в анамнезе.

Уровни ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, фактора некроза опухоли α (ФНО-α), ИНФ-α, ИНФ-γ и С-реактивного бел-

ка (СРБ) определялись в сыворотке, полученной путём центрифугирования венозной крови при 3000 об/мин в течение 10 мин. Определение концентрации интерлейкинов и СРБ проводили с использованием тест-систем ООО «Вектор-Бест» (Россия) на иммуноферментном анализаторе ELx808 (BioTek, США) согласно инструкции производителя.

Статистический анализ включал в себя оценку нормальности распределения значений каждого признака, описательную статистику, тестирование статистических гипотез с использованием программного обеспечения Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Для проверки статистической гипотезы об эквивалентности по расположению двух несвязанных групп для независимых случайных выборок использовали U-критерий Манна – Уитни, а для нескольких несвязанных групп – критерий Краскела – Уоллиса; статистически значимыми (p) считали различия при $p < 0,05$. Непрерывные переменные представлены в виде медианы и нижнего и верхнего квартилей и записаны в таблице в абсолютных числах как медиана и интерквартильный интервал (Me (Q25–Q75)). Доверительный интервал для долей рассчитывался с помощью онлайн-калькулятора[1].

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 6.1 от 19.06.2020). Все родители или законные представители детей подписали информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди обследованных новорождённых основной группы отсутствовали случаи летальных исходов, мультисистемного воспалительного и респираторного дистресс-синдромов. Анализ клинических симптомов новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 у госпитализированных новорождённых позволил установить, что наиболее частыми симптомами являлись повышение температуры тела – 34,0 % (15/44; 95% ДИ: 20,3–47,8 %), насморк – 29,5 % (13/44; 95% ДИ: 15,6–42,1 %). Клинически у 25,0 % (11/44; 95% ДИ: 11,3–37,9 %) новая коронавирусная инфекция протекала в форме пневмонии, у остальных детей в группе – как ОРВИ. Рентгенологические признаки поражения лёгочной ткани (уплотнения по типу «матового стекла», симптом «булыжной мостовой», симптом «обратного ореола») определялись у 54,5 % детей (24/44; 95% ДИ: 48,2–68,4 %). В период стационарного лечения состояние 43,2 % новорождённых (19/44; 95% ДИ: 34,2–57,4 %) оценивалось как л`гкое, 38,6 % (17/44; 95% ДИ: 29,8–43,6 %) – как средней степени тяжести, 18,0 % (8/44; 95% ДИ: 12,4–26,3 %) – как тяжёлое. Дополнительно при установлении степени тяжести заболевания учитывалось наличие объективных признаков поражения лёгких по данным компьютерной томографии (КТ) или рентгенографии органов грудной клетки, что позволило распределить детей с подтверждённой новой коронавирусной инфекцией на три группы: группа 1 – лёгкая степень без признаков пневмонии ($n = 18$); группа 2 – средняя степень тяжести с признаками поражения лёгких без дыхательной недостаточности (ДН) ($n = 17$); группа 3 – тяжёлая степень с признаками поражения лёгких с ДН ($n = 8$). Контрольная группа, соответственно, обозначалась как группа 4.

Концентрации цитокинов и уровня СРБ в сыворотке крови новорождённых с новой коронавирусной инфекцией в зависимости от степени тяжести клинических проявлений и наличия признаков поражения лёгочной ткани не имели статистически значимых различий при межгрупповом сравнении (табл. 1). В ранее опубликованных данных при определении вирусной нагрузки SARS-CoV-2 в исследуемой группе новорождённых с разной степенью тяжести новой коронавирусной инфекции отличий выявлено не было, как и связи уровня вирусной нагрузки с наличием поражения лёгких [1].

В сравнении с уровнем цитокинов в сыворотке крови новорождённых контрольной группы у детей с новой коронавирусной инфекцией выявлено наиболее выраженное статистически значимое снижение концентрации ИЛ-6 (в 9,9 раза – в группе 1; в 3,5 раза – в группе 2; в 7,5 раза – в группе 3), ИЛ-8 (в 8,7 раза – в группах 1 и 3; в 7,1 раза – в группе 2), ИЛ-1β (в 3,7 раза – в группах 1 и 2; в 6,9 раза – в группе 3), ИНФ-γ (в 4,0 раза – в группе 1; в 60 раз – в группе 2; в 6,0 раз – в группе 3). Уровень СРБ у новорождённых в острый период новой коронавирусной инфекции также был статистически значимо снижен относительно показателей контрольной группы (в 10,4 раза – в группе 1; в 5,6 раза – в группе 2; в 9,7 раза – в группе 3). Уровни ИЛ-4 и ФНО-α также были снижены по сравнению с показателями у здоровых детей, но выраженность различий была менее значительной. Так, сывороточная концентрация ИЛ-4 у детей с COVID-19 была в 1,3–1,4 раза ниже, чем у детей контрольной группы, а уровень ФНО-α – в 1,7–2,3 раза меньше медианы группы контроля. Полностью отсутствуют различия между основной и контрольной группами по уровню ИНФ-α.

На сегодняшний день опубликован ряд исследований цитокинового статуса при различных вирусных инфекциях как у взрослых, так и у детей. Большое внимание уделяется балансу между провоспалительными и противовоспалительными медиаторами, нарушение которого может приводить к неконтролируемому каскадному процессу. Опубликованы данные о значительном увеличении и даже гиперцитокинэмии у взрослых и школьников с новой коронавирусной инфекцией, а также о повышении провоспалительных цитокинов при мультисистемном воспалительном синдроме у детей [3, 7, 9]. Тем не менее, некоторые авторы выражают мнение, что SARS-CoV-2 может не вызывать «цитокинового шторма» у детей школьного возраста [9].

В нашем исследовании у новорождённых с подтверждённой новой коронавирусной инфекцией в сравнении со здоровыми наблюдается снижение в большей степени провоспалительных и в меньшей степени – противовоспалительных цитокинов независимо от тяжести и выраженности нарушения дыхания и поражения лёгоч-

[1] http://vassarstats.net/prop1.html

ТАБЛИЦА 1

СОДЕРЖАНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ МЕДИАТОРОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ НОВОРОЖДЁННЫХ, МЕ (Q25–Q75)

TABLE 1

THE LEVEL OF PRO- AND ANTI-INFLAMMATORY MEDIATORS IN THE PERIPHERAL BLOOD OF NEWBORNS, ME (Q25–Q Q75)

Показатели	Группа 1: COVID-19 без пневмонии (*n* = 18)	Группа 2: COVID-19 с пневмонией без ДН (*n* = 17)	Группа 3: COVID-19 с пневмонией с ДН (*n* = 8)	Группа 4: контрольная (*n* = 80)	Уровень статистической значимости
ИЛ-1β, пг/мл	1,30 (0,70–2,90)	1,30 (0,50–2,90)	0,70 (0,05–2,00)	4,85 (2,70–15,10)	$p_{1-2-3} > 0,05$** $p_{1-4} < 0,001$* $p_{2-4} < 0,001$* $p_{3-4} = 0,002$*
ИЛ-4, пг/мл	2,80 (1,60–3,75)	2,80 (1,59–3,20)	2,73 (1,60–3,40)	3,80 (3,15–4,70)	$p_{1-2-3} > 0,05$** $p_{1-4} = 0,001$* $p_{2-4} = 0,003$* $p_{3-4} = 0,018$*
ИЛ-6, пг/мл	2,50 (0,40–6,03)	7,10 (0,01–11.80)	3,30 (1,60–9,40)	24,89 (11,80–103,05)	$p_{1-2-3} > 0,05$** $p_{1-4} < 0,001$* $p_{2-4} < 0,001$* $p_{3-4} = 0,037$*
ИЛ-8, пг/мл	16,55 (8,75–35,19)	19,70 (12,00–22,51)	16,15 (8,00–38,20)	140,2 (17,62–303,40)	$p_{1-2-3} > 0,05$** $p_{1-4} < 0,001$* $p_{2-4} = 0,005$* $p_{3-4} = 0,042$*
ФНО-α, пг/мл	3,65 (2,90–4,45)	3,60 (2,70–4,23)	2,85 (2,50–4,00)	6,79 (3,55–26,40)	$p_{1-2-3} > 0,05$** $p_{1-4} = 0,011$* $p_{2-4} = 0,006$* $p_{3-4} = 0,033$*
ИНФ-α, пг/мл	0,01 (0,00–0,01)	0,01 (0,00–0,01)	0,01 (0,01–0,01)	0,01 (0,01–0,01)	$p_{1-2-3} > 0,05$** $p_{1-4} = 0,552$* $p_{2-4} = 0,787$* $p_{3-4} = 0,567$*
ИНФ-γ, пг/мл	1,50 (0,01–1,50)	0,01 (0,01–2,53)	0,95 (0,01–3,10)	6,01 (0,07–18,38)	$p_{1-2-3} > 0,05$** $p_{1-4} = 0,001$* $p_{2-4} = 0,013$* $p_{3-4} = 0,136$*
СРБ, мг/л	0,70 (0,30–1,50)*	1,30 (0,40–10,20)*	0,75 (0,14–1,40)*	7,30 (2,70–15,1)	$p_{1-2-3} > 0,05$** $p_{1-4} < 0,001$* $p_{2-4} = 0,082$* $p_{3-4} = 0,018$*

Примечание. * – статистически значимые различия с группой контроля с использованием U-критерия Манна – Уитни; ** – статистически значимые различия при сравнении показателей между группами 1, 2 и 3 с использованием критерия Краскела – Уоллиса.

ной ткани, что согласуется с данными, полученными другими авторами [8, 9]. Очевидно, что риск развития «цитокинового шторма» у детей с SARS-CoV-2 в период новорожденности так же, как и у детей школьного возраста, минимален [9]. Есть наблюдения, что в раннем периоде адаптации у здоровых новорождённых отмечается повышение уровня цитокинов и других лабораторных показателей, указывающих на наличие системного воспаления, при этом в физиологических условиях клинические признаки системных воспалительных реакций или полиорганной недостаточности отсутствуют [17]. Вместе с тем выраженное снижение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у новорождённых в острый период новой коронавирусной инфекции может свидетельствовать об угнетении активности клеток, обеспечивающих функциональность системы врождённого и приобретённого иммунитета, что заставляет предположить у данной группы детей снижение эффективности противовирусной и противобактериальной защиты, которое может проявляться более сильной подверженностью разным инфекционным агентам. В то же время снижение у новорождённых с новой коронавирусной инфекцией концентраций основного (ИЛ-6) и опосредованных (ИЛ-1, ФНО-α) индукторов синтеза СРБ объясняет более низкий уровень данного острофазового маркера в сравнении с контрольной группой. Ранее опубликованные

нами данные о значительном и продолжительном снижении клеточного, гуморального иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов у детей после перенесённой новой коронавирусной инфекции в совокупности с полученными результатами настоящего исследования позволяют обратить внимание на новорождённых, перенёсших COVID-19, как на иммунокомпрометированную группу [11, 12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у новорождённых детей в острый период новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 наблюдается снижение концентрации в сыворотке крови ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α, ИНФ-γ и СРБ независимо от степени тяжести COVID-19, уровня вирусной нагрузки, наличия поражения лёгочной ткани и проявлений дыхательной недостаточности. Уровень ИНФ-α в сыворотке крови новорождённых не имел статистически значимых различий в сравнении с контрольной группой, а также в зависимости от тяжести COVID-19 и находился в пределах референсных значений группы контроля. Состояние цитокинового профиля у новорождённых с новой коронавирусной инфекцией может быть обусловлено как угнетением системы врождённого и приобретённого иммунитета под действием вируса SARS-CoV-2, так и возрастными особенностями и незрелостью собственных иммунных механизмов. Особенности цитокинового профиля определяют характер формирования иммунного ответа в постнатальном периоде. Полученные результаты позволяют сделать выводы об угнетении ранних этапов иммунного ответа у новорождённых с новой коронавирусной инфекцией – в первую очередь врождённого иммунитета, осуществляющего противоинфекционную защиту в период становления специфических иммунных механизмов. Тем не менее, остаются вопросы о степени значимости уровня цитокинов как прогностических критериев формирования отдалённых последствий острого инфекционного процесса, индуцированного вирусом SARS-CoV-2, а также об обратимости и продолжительности выявленных изменений иммунной реактивности у новорождённых в острый период COVID-19, что требует дальнейших исследований в этом направлении и повышенного педиатрического внимания к данной категории детей.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность администрации ОГАУЗ «Городская Ивано-Матрёнинская детская клиническая больница» г. Иркутска в лице главного врача Новожилова Владимира Александровича, заместителя главного врача по медицинской части Бельковой Татьяны Юрьевны и заведующей отделением Кузнецовой Светланы Николаевны, а также всему персоналу педиатрического отделения патологии новорождённых и недоношенных детей за активное содействие в проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Симбирцев А.С. Иммунофармакологические аспекты системы цитокинов. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019; 18(1): 84-95. [Simbirtsev AS. Immunopharmacological aspects of the cytokine system. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18(1): 84-95. (In Russ.)]. doi: 10.20538/1682-0363-2019-1-84-95

2. Стагниева И.В., Бойко Н.В., Гукасян Е.Л., Бачурина А.С. Цитокины в диагностике воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей (обзор литературы). *Российская ринология.* 2017; 25(4): 43-47. [Stagnieva IV, Boyko NV, Ghukasyan EL, Bachurina AS. The role of cytokines in the diagnostics of inflammatory diseases of the upper respiratory tract. *Russian Rhinology*. 2017; 25(4): 43-47. (In Russ.)]. doi: 10.17116/rosrino201725443-47

3. Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Даренская М.А., Москалева Е.В., Рычкова Л.В., Семенова Н.В. Грипп у детей: клинические, лабораторные показатели и параметры цитокинового профиля. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 41-50. [Kazantseva ED, Petrova AG, Darenskaya MA, Moskaleva EV, Rychkova LV, Semenova NV. Flu in children: Clinical, laboratory indicators and cytokine profile parameters. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 41-50. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.5

4. Алешина Н.И., Понежева Ж.Б., Лазарева Е.Н., Астрина О.С., Малеев В.В., Плоскирева А.А. Цитокины – место и значение в патогенезе ОРВИ и COVID-19. *COVID-19.рф: Информация против пандемии.* [Aleshina NI, Ponezheva ZhB, Lazareva YeN, Astrina OS, Maleyev VV, Ploskireva AA. Cytokines – place and significance in the pathogenesis of ARVI and COVID-19. *COVID-19.рф: Information against the pandemic.* (In Russ.)]. URL: https://covid19-preprints.microbe.ru/article/76 (дата доступа: 29.03.2024). doi: 10.21055/preprints-3111772

5. Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Даренская М.А. Цитокины при гриппе у детей (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал.* 2024; 44(1): 124-138. [Kazantseva ED, Petrova AG, Rychkova LV, Darenskaya MA, Cytokines in influenza in children (literature review). *Siberian Scientific Medical Journal*. 2024; 44(1): 124-138. (In Russ.)]. doi: 10.18699/SSMJ20240113

6. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов. *Медицинская иммунология.* 2001; 3(3): 361-368. [Chereshnev VA, Gusev EYu. Immunology of inflammation: The role of cytokines. *Medical Immunology*. 2001; 3(3): 361-368. (In Russ.)].

7. Consiglio CR, Cotugno N, Sardh F, Pou C, Amodio D, Rodriguez L, et al. The immunology of multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19. *Cell*. 2020; 183(4): 968-981. doi: 10.1016/j.cell.2020.09.016

8. Паршина А.А., Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Огарков О.Б., Орлова Е.А., и др. Вирусная нагрузка SARS-CoV-2 у новорожденных с COVID-19. *Якутский медицинский журнал.* 2023; 1(81): 63-66. [Parshina AA, Moskaleva EV, Petrova AG, Rychkova LV, Ogarkov OB, Orlova EA, et al. SARS-CoV-2 viral load in newborns with COVID-19. *Yakut Medical Journal*. 2023; 1(81): 63-66. (In Russ.)]. doi: 10.25789/YMJ.2023.81.16

9. Перегоедова В.Н., Богомолова И.К. Профиль цитокинов при коронавирусной инфекции у детей школьного возраста.

Современные проблемы науки и образования. 2023; (5). [Peregoedova VN, Bogomolova IK Cytokine profile in coronavirus infection in school-age children. *Modern Problems of Science and Education*. 2023; (5). (In Russ.)]. URL: https://science-education.ru/ru/article/view?id=32994 (дата доступа: 29.03.2024).

10. Алексеева Л.А., Железникова Г.Ф., Горелик Е.Ю., Скрипченко Н.В., Жирков А.А. Цитокины и нейроспецифические белки при вирусных энцефалитах и судорожном синдроме у детей. I. Вирусные энцефалиты. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(4): 625-638. [Alekseeva LA, Zheleznikova GF, Gorelik EYu, Skripchenko NV, Zhirkov AA. Cytokines and neuron-specific proteins in pediatric viral encephalitis and convulsive syndrome. I. Viral encephalitis. *Russian Journal of Infection and Immunity*. . 2020; 10(4): 625-638. (In Russ.)]. doi: 10.15789/2220-7619-CAN-1448

11. Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Новикова Е.А., Ваняркина А.С. Состояние показателей иммунного статуса у детей после перенесённой новой коронавирусной инфекции. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 58-62. [Moskaleva EV, Petrova AG, Rychkova LV, Novikova EA, Vanyarkina AS. Indicators of the immune status in children after a new coronavirus infection. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 58-62. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.6

12. Rychkova LV, Darenskaya MA, Petrova AG, Semenova NV, Moskaleva EV, Kolesnikov SI, et al. Pro-and antioxidant status in newborn with COVID-19. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2023; 174(4): 464-467. doi: 10.1007/s10517-023-05730-4

13. Ozsurekci Y, Aykac K, Er AG, Halacli B, Arasli M, Oygar PD, et al. Predictive value of cytokine/chemokine responses for the disease severity and management in children and adult cases with COVID-19. *J Med Virol*. 2021; 93(5): 2828-2837. doi: 10.1002/jmv.26683

14. Dong Y, Mo X, Hu Y, Qi X, Jiang F, Jiang Z. et al. Epidemiology of COVID-19 among children in China. *Pediatrics*. 2020; 145(6): e20200702. doi: 10.1542/peds.2020-0702

15. Graff K, Smith C, Silveira L, Jung S, Curran-Hays S, Jarjour J, et al. Risk factors for severe COVID-19 in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2021; 40(4): 137-145. doi: 10.1097/INF.0000000000003043

16. DeBiasi RL, Song X, Delaney M, Bell M, Smith K, Pershad J, et al. Severe coronavirus disease-2019 in children and young adults in the Washington, DC, Metropolitan region. *J Pediatr*. 2020; 223: 199-203. doi: 10.1016/j.jpeds.2020.05.007

17. Бахмутова Л.А., Штепо М.В., Палкина Е.В., Шустова С.С., Лапеко С.В. Клиническое значение показателей цитокинового статуса в оценке течения постнатальной адаптации детей с задержкой внутриутробного развития. *Вестник научных медицинских технологий*. 2016; (4). [Bakhmutova LA, Shtepa MV, Palkina EV, Shustova SS, Lapeko SV. The clinical significance of cytokine status indicators in assessing the course of postnatal adaptation of children with intrauterine development delay. *Bulletin of Scientific Medical Technologies*. 2016; (4). (In Russ.)]. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/klinicheskoe-znachenie-pokazateley-tsitokinovogo-statusa-v-otsenke-techeniya-postnatalnoy-adaptatsii-detey-s-zaderzhkoy (дата доступа: 29.03.2024).

Информация об авторах

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

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

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, 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

Шолохов Леонид Федорович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель 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

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

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

Новикова Евгения Анатольевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: europe411@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9353-7928

Хархорина Анастасия Анатольевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: a.parshina.csma@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1458-2385,

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

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

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

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, 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

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

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

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

Evgenia A. Novikova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: europe411@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9353-7928

Anastasiya A. Kharkhorina – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: a.parshina.csma@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1458-2385,

Lyubov 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

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ТЕРАПИИ РЕМДЕСИВИРОМ У ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 С ПОМОЩЬЮ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

Шевчук Ю.В. [1, 2],
Шамигулов И.И. [2, 3],
Сычев И.В. [2, 4],
Крюков А.В. [1, 2],
Темирбулатов И.И. [2],
Мирзаев К.Б. [2],
Денисенко Н.П. [2],
Абдуллаев Ш.П. [2],
Тучкова С.Н. [2],
Вечорко В.И. [1, 2],
Аверков О.В. [1],
Сычев Д.А. [2]

[1] ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы» (111539, г. Москва, ул. Вешняковская, 23, Россия)
[2] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (123242, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1, Россия)
[3] ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (117303, г. Москва, ул. Керченская, 1А, корп. 1, Россия)
[4] ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» (430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Шевчук Юлия Викторовна,
e-mail: ju-viktorovna@yandex.ru

Статья поступила: 04.07.2024
Статья принята: 15.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Противовирусный препарат ремдесивир получил широкое распространение для этиотропного лечения COVID-19. Частота возникновения нежелательных реакций при терапии ремдесивиром достигает 66,2 %, наиболее распространённая нежелательная реакция – повышение уровня печёночных трансаминаз.*

Цель исследования. *Разработка модели машинного обучения для прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени у пациентов с COVID-19 при назначении терапии ремдесивиром.*

Методы. *Данное проспективное открытое обсервационное исследование проводилось в период с ноября 2021 г. по февраль 2022 г. и включало 154 пациента, получающих терапию ремдесивиром. Пациенты были разделены на две группы: группа 1 (n = 45) – пациенты, у которых при терапии ремдесивиром развились признаки поражения печени; группа 2 (n = 109) – пациенты без данной нежелательной реакции. Всем пациентам были проведены фармакогенетическое исследование и ретроспективный анализ историй болезней, сформирована база данных с результатами проведённых исследований, на основе которой происходило машинное обучение моделей для прогноза риска развития лекарственного поражения печени.*

Результаты. *Основные прогностические факторы включали индекс массы тела (значимость – 12,03 %) и носительство генотипа AG по полиморфному маркеру rs776746 гена CYP3A5 (значимость – 10,04 %). В дальнейшем по всем полученным факторам на основе категориального бустинга построена модель предсказания развития лекарственного поражения печени, имеющая чувствительность 57,8 % и специфичность 80,7 %.*

Заключение. *С помощью машинного обучения была сформирована модель риска развития лекарственного поражения печени при терапии ремдесивиром. Индекс массы тела и носительство генотипа AG по полиморфному маркеру rs776746 гена CYP3A5 оказались ключевыми маркерами. Для улучшения точности модели требуется увеличение доли пациентов с нежелательной реакцией в тренировочной выборке. Дальнейшие исследования позволят улучшить качество модели и интегрировать её в клиническую практику.*

Ключевые слова: *COVID-19, ремдесивир, нежелательные реакции, гепатотоксичность, фармакогенетическое исследование, предикторы нежелательных реакций, машинное обучение, модель риска*

Для цитирования: Шевчук Ю.В., Шамигулов И.И., Сычев И.В., Крюков А.В., Темирбулатов И.И., Мирзаев К.Б., Денисенко Н.П., Абдуллаев Ш.П., Тучкова С.Н., Вечорко В.И., Аверков О.В., Сычев Д.А. Прогнозирование риска развития лекарственного поражения печени при терапии ремдесивиром у пациентов с COVID-19 с помощью машинного обучения. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 52-62. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.6

PREDICTING THE RISK OF DEVELOPING DRUG-INDUCED LIVER INJURY DURING REMDESIVIR THERAPY IN COVID-19 PATIENTS USING MACHINE LEARNING

Shevchuk Yu.V. [1, 2],
Shamigulov I.I. [2, 3],
Sychev I.V. [2, 4],
Kryukov A.V. [1, 2],
Temirbulatov I.I. [2],
Mirzaev K.B. [2],
Denisenko N.P. [2],
Abdullaev Sh.P. [2],
Tuchkova S.N. [2],
Vechorko V.I. [1, 2],
Averkov O.V. [1],
Sychev D.A. [2]

[1] Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O.M. Filatov (Veshnyakovskaya str. 23, Moscow 111539, Russian Federation)
[2] Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Barrikadnaya str. 2/1 build 1, Moscow 125993, Russian Federation)
[3] Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University) (Kerchenskaya str. 1A, Moscow 117303, Russian Federation)
[4] National Research Ogarev Mordovia State University (Bolshevistskaya str. 68, Saransk 430005, Russian Federation)

Corresponding author:
Yuliya V. Shevchuk,
e-mail: ju-viktorovna@yandex.ru

ABSTRACT

Background. *The antiviral drug Remdesivir has been widely used for etiotropic treatment of COVID-19. The incidence of adverse reactions during Remdesivir therapy reaches 66.2 %, the most common one being an increase in hepatic transaminases.*
The aim. *To develop a machine learning model for predicting the risk of drug-induced liver damage in patients with COVID-19 when prescribing Remdesivir therapy.*
Materials and methods. *This prospective open-label observational study was conducted between November 2021 and February 2022, including 154 patients receiving Remdesivir therapy. Patients were divided into two groups: group 1 (n = 45), in which patients developed signs of liver damage during Remdesivir therapy; group 2 (n = 109) – patients without this adverse reaction. All patients underwent pharmacogenetic study and retrospective analysis of medical histories, database with the results of the conducted studies was formed, basing on which machine learning models for predicting the risk of drug-induced liver damage were trained.*
Results. *The main prognostic factors included body mass index (relevance – 12.03 %) and carriage of AG genotype at polymorphic marker rs776746 of CYP3A5 gene (relevance – 10.04 %). Subsequently, for all obtained factors and based on Categorical boosting a model for predicting the development of drug-induced liver damage with 57.8 % sensitivity and specificity of 80.7 % was developed.*
Conclusions. *A risk model for the development of drug-induced liver damage during remdesivir therapy was built using machine learning. Body mass index and carriage of AG genotype at polymorphic marker rs776746 of CYP3A5 gene turned out to be key markers. To improve the accuracy of the model, an increase in the proportion of patients with adverse reactions in the training sample is required. Further studies will improve the quality of the model and integrate it into clinical practice.*

Key words: *COVID-19, remdesivir, adverse drug reactions, hepatotoxicity, pharmacogenetic testing, predictors of adverse reactions, machine learning, risk model*

Received: 04.07.2024
Accepted: 15.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Shevchuk Yu.V., Shamigulov I.I., Sychev I.V., Kryukov A.V., Temirbulatov I.I., Mirzaev K.B., Denisenko N.P., Abdullaev Sh.P., Tuchkova S.N., Vechorko V.I., Averkov O.V., Sychev D.A. Predicting the risk of developing drug-induced liver injury during remdesivir therapy in COVID-19 patients using machine learning. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 52-62. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.6

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия COVID-19 привела к необходимости поиска высокоэффективных противовирусных препаратов. Широкое применение в клинической практике получил противовирусный препарат ремдесивир, одобренный для лечения лёгкой и средней степени тяжести коронавирусной инфекции, однако имеется мало данных о его безопасности, фармакокинетических свойствах и лекарственном взаимодействии при лечении данного заболевания [1].

По данным ряда исследований, распространённость развития нежелательных реакций при применении ремдесивира варьирует от 12 % до 66,2 % [2–5]. При этом распространённость развития тяжёлых нежелательных реакций достигает 13,8 % [4]. Наиболее характерной нежелательной реакцией при терапии ремдесивиром является повышение уровня печёночных трансаминаз, свидетельствующее о повреждении печени; её распространённость составляет от 2 % [2] до 42,9 % [4].

Одним из шагов к повышению безопасности терапии ремдесивиром является выявление предикторов развития нежелательных реакций.

Ранее указанным коллективом авторов было проведено исследование по выявлению предикторов развития лекарственного поражения печени при приёме Ремдесивира у пациентов с COVID-19, в котором были определены конкретные факторы в рамках однофакторного статистического анализа: высокий индекс массы тела; наличие сахарного диабета; высокий уровень ферритина в крови; терапия ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента, статинами; наличие гетерозиготы по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5*. Наличие этих факторов повышает вероятность возникновения лекарственного поражения печени (ЛПП) [6].

Однако для оптимизации процесса выявления пациентов с риском возникновения нежелательных реакций и уменьшения трудозатрат медицинских работников необходима автоматизация, которую может обеспечить использование машинного обучения с построением моделей риска развития нежелательных реакций [7, 8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка модели машинного обучения для прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени у пациентов с COVID-19 при назначении препарата ремдесивир в условиях стационара.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации и было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Протокол № 15 от 16.10.2021). От всех пациентов или их законных представителей было получено добровольное информированное согласие на участие в данном исследовании.

В период с ноября 2021 г. по февраль 2022 г. было проведено проспективное обсервационное открытое исследование. Исследование было проведено на базе ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы». В исследование были включены мужчины и женщины ($n = 154$) в возрасте 18 лет и старше, госпитализированные с подтверждённой новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) (U07.1, U07.2 по Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10)).

Препарат ремдесивир использовали в стандартной дозе: 200 мг внутривенно в первые сутки, затем – 100 мг 1 раз в сутки в течение 5–10 дней. Исследователь не мог влиять на выбор противовирусного препарата и длительность терапии.

Возраст всех пациентов составил от 44 до 96 лет, средний возраст – 72,1 ± 13,5 года. Из 154 пациентов, включённых в исследование, было 58 (38 %) мужчин со средним возрастом 65,3 ± 13,4 года и 96 (62 %) женщин со средним возрастом 76,2 ± 11,8 года.

Критерии включения в исследование: установленный диагноз новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (U07.1, U07.2 по МКБ-10); подписанное добровольное информированное согласие на участие в исследовании; длительность госпитализации > 48 ч; использование ремдесивира в качестве этиотропной терапии.

Критерии невключения: противопоказания к терапии ремдесивиром в соответствии с официальной инструкцией по применению, действующей на момент проведения исследования – скорость клубочковой фильтрации (СКФ) < 30 мл/мин/1,73 м^2, беременность, период грудного вскармливания, повышение уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) свыше 5 верхних границ нормы; тяжёлая печёночная недостаточность (класс С по Чайлду – Пью); досрочный выход из исследования по желанию пациента. Критерии невключения, за исключением досрочного выхода из исследования по желанию пациента, применялись до начала терапии ремдесивиром.

Демографические данные пациентов представлены в таблице 1.

В дальнейшем, с учётом цели исследования, пациенты были разделены на две группы в зависимости от возникновения нежелательных реакций (НР) в виде поражения печени на фоне терапии ремдесивиром. Группа 1 – пациенты, у которых развилась данная НР; группа 2 – пациенты, у которых не было выявлено поражения печени на фоне терапии ремдесивиром (табл. 2).

Сравниваемые группы были сопоставимы по полу ($\chi^2 = 0{,}8709$; df = 1; $p = 0{,}3507$) и возрасту (W = 1894,5; $p = 0{,}0267$). Также группы были сопоставимы по тяжести состояния и таким имеющимся нозологиям, как хроническая болезнь почек, наличие активного рака, энцефалопатии и сердечно-сосудистых заболеваний, среди которых в отдельную группу были выделены ишемическая болезнь сердца, хроническая сердечная недоста-

ТАБЛИЦА 1

ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ ПАЦИЕНТОВ, ВКЛЮЧЁННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ

TABLE 1

DEMOGRAPHIC DATA OF PATIENTS INCLUDED IN THE STUDY

Пол	Количество пациентов, *n*	Доля от общего, %	Средний возраст, лет
Мужчины	58	38	65,3 ± 13,4
Женщины	96	62	76,2 ± 11,8
Все пациенты	154	100	72,1 ± 13,5

ТАБЛИЦА 2

ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ КАЖДОЙ ГРУППЫ ПАЦИЕНТОВ

TABLE 2

DEMOGRAPHIC DATA OF EACH GROUP OF PATIENTS

Показатели	Группа 1 (*n* = 45) – 29,22 %	Группа 2 (*n* = 109) – 70,78 %	χ^2; *p*
Средний возраст, лет	71,9 ± 13,6	72,1 ± 13,5	–; 0,2672
Мужчины, *n* (%)	20 (44,44 %)	38 (34,86 %)	0,8709; 0,3507
Женщины, *n* (%)	25 (55,56 %)	71 (65,14 %)	

точность и артериальная гипертензия. По сопутствующей лекарственной терапии – применение бета-блокаторов, блокаторов кальциевых каналов, блокаторов рецепторов ангиотензина II, диуретиков, нестероидных противовоспалительных средств, салицилатов, антипсихотиков, прокинетиков, ингибиторов протонной помпы, бигуанидов, антибактериальных и противогрибковых препаратов, системных глюкокортикостероидов и эноксапарина натрия – сравниваемые группы также были сопоставимы [6].

Всем пациентам в рамках стационарного лечения COVID-19 проводились лабораторные и инструментальные исследования в соответствии с временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19) от 14.10.2021 и 27.12.2021 и клиническими рекомендациями по другим имеющимся у пациентов нозологиям. Кроме того, пациентам было проведено молекулярно-генетическое исследование для установления генотипа по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5*, генотипа по полиморфному маркеру *rs35599367* гена *CYP3A4* и генотипа по полиморфному маркеру *rs2244613* гена *CES1*. У пациентов был произведён забор 10 мл венозной крови с помощью вакуумной системы Vacuette® (Greiner Bio-One, Австрия) в пробирки с К3-ЭДТА (этилендиаминтетраацетатом). Цельная кровь до выделения ДНК и выделенная ДНК хранились при –80 °С, транспортировку образцов до лаборатории осуществляли при –20 °С. Генотипирование проводилось на базе Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Выделение геномной ДНК из цельной крови осуществлялось с помощью набора реагентов «S-Сорб» для выделения ДНК на кремниевом сорбенте (ООО «Синтол», Россия). Концентрация экстрагированной ДНК определялась с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США). Определение варианта генотипа по полиморфизму *rs35599367* (**22, c.522-191C>T*) гена *CYP3A* проводилось методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов TaqMan® SNP Genotyping Assays и TaqMan Universal Master Mix II, no UNG (Applied Biosystems, США). Носительство варианта генотипа по полиморфному маркеру *rs776746* (**3, c.219-237A>G*) гена *CYP3A5* определялось с помощью коммерческого набора реагентов (ООО «Синтол», Россия). Носительство варианта генотипа по полиморфному маркеру *rs2244613* (1165-33C>AA>C) гена *CES1* выявлялось с помощью наборов реагентов «ГенТест *CES1*» (ООО «Номотек», Россия). ПЦР с детекцией в режиме реального времени проводилась на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories Inc., США).

Результаты данного исследования были занесены в таблицу при помощи программы Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft Corp., США), где была сформирована база данных исследуемых пациентов. В неё входили 14 лабораторных данных при поступлении пациента в стационар, 19 данных о сопутствующей фармакотерапии, 8 генетических данных, 10 – для шкалы ADRROP, 11 общих данных (демографические, клинические и лабораторные), 11 данных о сопутствующих заболеваниях, 1 целевая переменная (НР в виде ЛПП).

На основании полученных результатов проведённого исследования, а также сформированной базы данных происходило машинное обучение моделей для прогноза риска развития НР в виде поражения печени при терапии препаратом ремдесивир у пациентов с COVID-19 в условиях стационара.

Вся работа с данными, а также обучение искусственного интеллекта проходили в Jupyter notebook в среде conda. Для работы с данными, таблицами и визуализа-

ции диаграмм и графиков были использованы библиотеки следующих версий:

- Pandas 1.3.4;
- Numpy 1.26.4;
- Matplotlib 3.4.3;
- Scikit-learn (sklearn) 1.4.2;
- Catboost 1.1.1;
- XGBoost 1.7.1.

Для поиска наилучшего алгоритма машинного обучения и подбора гиперпараметров к нашим моделям был использован метод поиска по сетке с кросс-валидацией (GridSearchCV) из библиотеки sklearn. Остальные методы, применяемые в работе, за исключением Catboost и XGBoost, были заимствованы из библиотеки sklearn.

В связи с небольшим количеством данных и неравномерно распределёнными классами в целевой переменной обучение проводили с применением метода взвешенных классов, идея которого заключается в присвоении наименее представленному классу (пациенты с HP) большего веса пропорционально отношению количеств представителей при обучении модели. Также обучение проводилось с использованием кросс-валидации для оценки качества модели на комбинациях разных данных, которая хорошо применима для случаев с ограниченным количеством данных. Вместе с тем использовалась стратификация, позволяющая сохранить соотношение количеств представителей разных классов в обучающих и тестовых выборках таким же, как в изначальном наборе данных.

Оценка качества моделей

Для поиска оптимального предсказания конечной точки (HP в виде поражения печени на фоне терапии ремдесивиром) обучались и оценивались модели, основывающиеся на различных алгоритмах машинного обучения для решения задачи классификации: метод k ближайших соседей (KNN, k-nearest neighbors algorithm) [9]; линейный метод – логистическая регрессия [10]; метод, строящий разделяющую гиперплоскость – метод опорных векторов (SVC, support vector classification) [11]; решающие деревья [12]; ансамбль случайных деревьев, результатом которого является среднее по деревьям обученных на случайных комбинациях факторов [13]; категориальный бустинг (CatBoost) – градиентный бустинг, последовательные деревья, обученные на ошибках предыдущего по идее градиентного спуска, имеющий преимущества в обучении на категориальных данных [14].

Для оценки эффективности созданной модели использовались такие метрики, как ROC-AUC (Receiver Operating Characteristic Area Under the Curve) и

$$F1score = \frac{2 \times precision \times recall}{precision + recall},$$

где: $precision = \frac{TP}{TP + FP}$;

$recall = \frac{TP}{TP + FN}$;

$TPR = \frac{TP}{TP + FN}$ = чувствительность;

$FRP = \frac{FP}{FP + TN}$ = (1-специфичность);

TN – true negative; *TP* – true positive; *FP* – false positive; *FN* – false negative [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основные этапы работы представлены на рисунке 1. Для составления моделей машинного обучения нами были отобраны 74 параметра, среди которых 53 категориальных и 21 непрерывный, отобранные таким образом, чтобы не было коррелирующих между собой и с конечной точкой (их оценка происходила при поступлении пациента в стационар), и 1 конечная точка (развитие HP), которая оценивалась во время терапии ремдесивиром и после её окончания.

В дальнейшем был проведён разведывательный анализ данных.

Разведывательный анализ данных

Перед проведением обучения моделей искусственного интеллекта (ИИ) предварительно проверены дан-

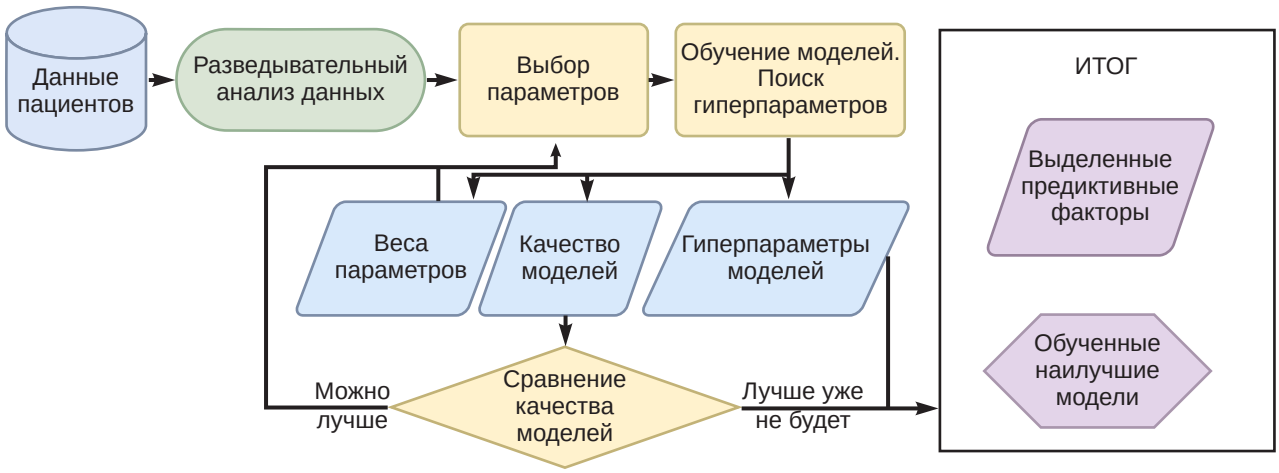


РИС. 1.
Основные этапы обучения моделей

FIG. 1.
The main stages of training models

ные на наличие выбросов, потерянных значений, а также на наличие корреляции между параметрами (рис. 2). Выбросов и пропусков обнаружено не было. Параметры, корреляция которых составляла более 0,7, были признаны взаимоисключающими. В конечном итоге для обучения моделей было использовано 59 параметров, 19 из которых являлись непрерывными и 40 – категориальными.

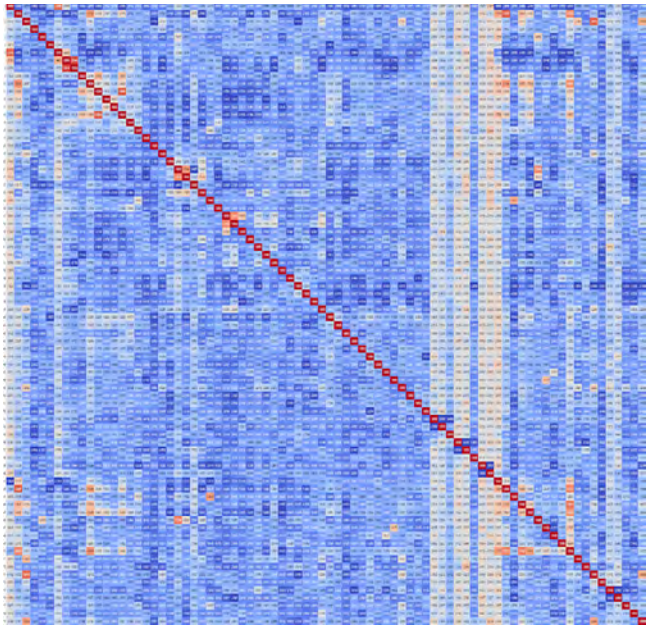


РИС. 2.
Матрица корреляции между параметрами
FIG. 2.
The correlation matrix between the parameters

Поскольку поиск решения происходил на моделях разного типа, нормализация проводилась для непрерывных переменных только для предподготовки к обучению линейных и метрических моделей, так как для них это играет большую роль. К ним относятся метод KNN, логистическая регрессия, метод SVC.

По результатам оценки F1 для указанной конечной точки наиболее подходящей явилась модель ИИ на основе категориального бустинга – CatBoost (рис. 3).

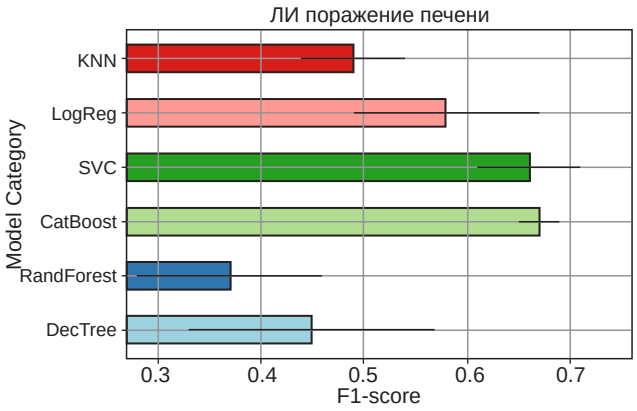


РИС. 3.
Значения F1-метрики для целевой переменной
FIG. 3.
F1 metric values for the target variable

Для предсказания исхода были выделены факторы, имеющие наибольшую прогностическую ценность (рис. 4).

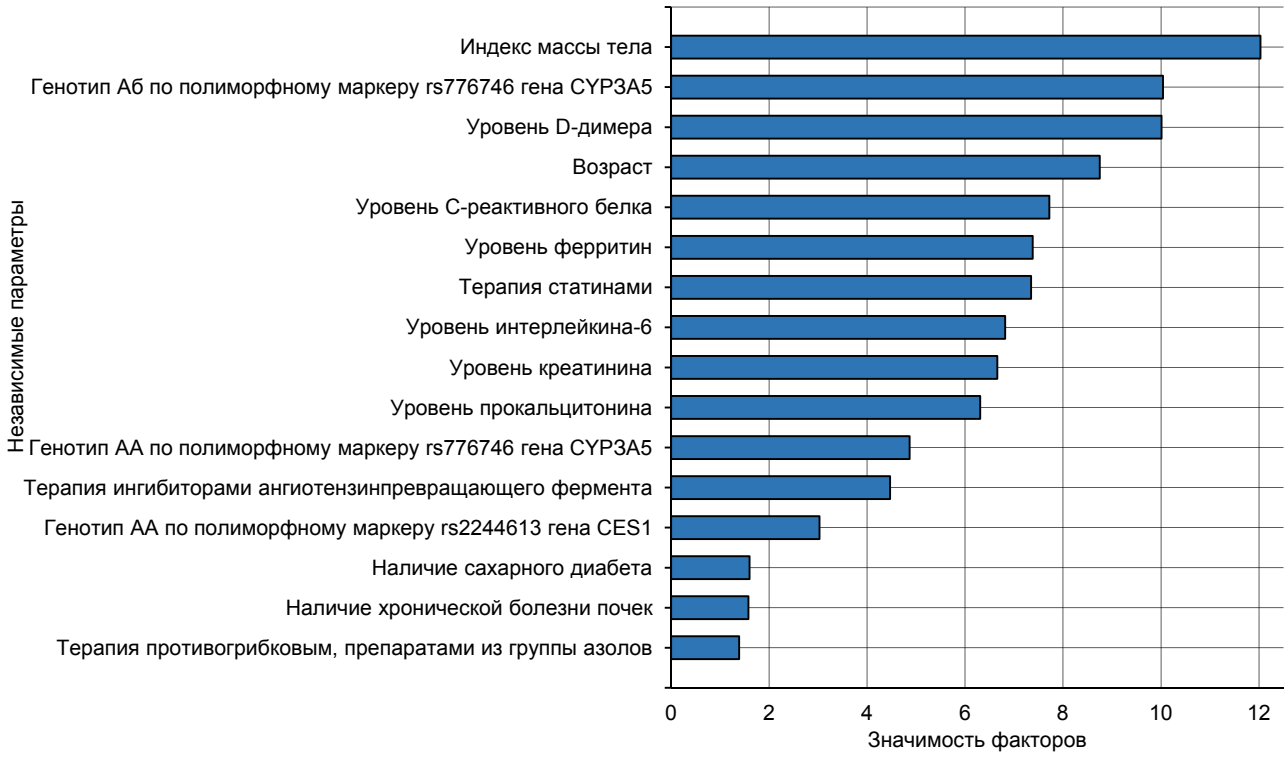


РИС. 4.
Факторы, имеющие наибольшую прогностическую ценность

FIG. 4.
Factors with the highest prognostic value

При обучении модели было выявлено, что в предсказание поражения печени наибольший вклад внесли следующие факторы, представленные в таблице 3: индекс массы тела (ИМТ) (12,03 %); носительство генотипа *AG* по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5* (10,04 %); уровень D-димера (10,01 %); возраст (8,75 %); уровень С-реактивного белка (7,72 %); уровень ферритина (7,38 %); терапия статинами (7,35 %); уровень интерлейкина 6 (6,82 %); уровень креатинина (6,66 %); уровень прокальцитонина (6,31 %); носительство генотипа *AA* по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5* (4,87 %); терапия ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента (4,47 %). Остальные факторы также представлены в таблице 3.

По полученным факторам построена окончательная модель, представленная на рисунке 5 в виде матрицы ошибок. Согласно этой модели, вероятность верного предсказания поражения печени соответствует 57,8 %, вероятность отсутствия поражения печени – 80,7 %. Чувствительность данного метода составляет 57,8 %, специфичность – 80,7 %.

На рисунке 6 представлено качество прогностической модели, рассчитанное через ROC-AUC.

Методом кросс-валидации оценены среднее значение и погрешность выполнения прогноза. Среднее значение ROC-AUC = 0,68, что превышает показатель случайного классификатора (0,5), в связи с чем модель пригодна для предсказаний. Также отмечено, что погрешность имеет значение 0,02 – это свидетельствует о стабильности модели, погрешность же может возникать из-за небольших различий в факторах для предсказаний. Следует улучшить чувствительность модели для лучшего предсказания положительных результатов; этого можно достичь, увеличив долю пациентов с НР в обучающей выборке.

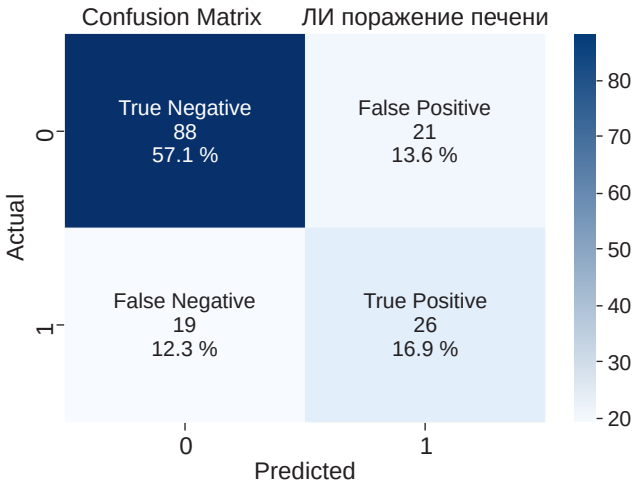


РИС. 5.

Матрица ошибок модели предсказания лекарственного поражения печени

FIG. 5.

Confusion matrix of the drug-induced liver injury prediction model

ТАБЛИЦА 3

ЗНАЧИМОСТЬ ФАКТОРОВ В ПРЕДСКАЗАНИИ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ (%)

TABLE 3

SIGNIFICANCE OF FACTORS IN PREDICTION OF LIVER DAMAGE (%)

Факторы	Важность, %
Терапия противогрибковыми препаратами из группы азолов	1,39
Наличие хронической болезни почек	1,58
Наличие сахарного диабета	1,6
Генотип AA по полиморфному маркеру *rs2244613* гена *CES1*	3,03
Терапия ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента	4,47
Генотип AA по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5*	4,87
Уровень прокальцитонина	6,31
Уровень креатинина	6,66
Уровень интерлейкина 6	6,82
Терапия статинами	7,35
Уровень ферритина	7,38
Уровень С-реактивного белка	7,72
Возраст	8,75
Уровень D-димера	10,01
Генотип AG по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5*	10,04
Индекс массы тела	12,03

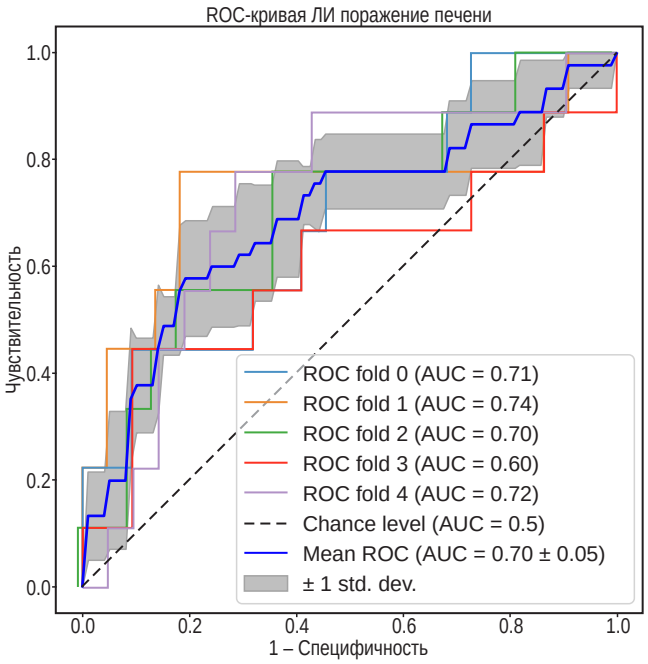


РИС. 6.
Качество прогностической модели, рассчитанное через ROC-AUC
FIG. 6.
Quality of the predictive model calculated through ROC-AUC

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящий момент разработаны и внедрены в практику шкалы прогнозирования риска развития НР у пациентов пожилого возраста, такие как ADRROP (AdverseDrug Reaction Risk in Older Persons) и GerontoNet. Эти шкалы имеют балльную оценку и включают в себя факторы риска НР [16, 17]. Также была разработана и валидирована модель прогнозирования риска развития НР у пожилых пациентов PADROI (Prediction of Adverse Drug Reactions in Older Inpatients), имеющая специфичность 90,3 % и чувствительность 87,1 % [18]. Эти шкалы имеют большую прогностическую ценность, позволяя своевременно принять меры для предотвращения развития НР. Также имеются исследования, посвященные прогнозированию развития НР лекарственных препаратов с использованием методов машинного обучения [19–21]; в свою очередь, при анализе литературных источников нами было найдено исследование, в котором проводилось выявление предикторов развития НР и летального исхода при терапии ремдесивиром [22], однако мы не обнаружили данных прогнозирования риска развития НР при терапии этим препаратом. С учётом рисков развития НР при фармакотерапии у госпитализированных пациентов с COVID-19, связанных с наличием у них мультиморбидности и полипрагмазии [23, 24], высокой распространённости НР при терапии ремдесивиром в целом и распространением тяжёлых НР [4], крайне важно использовать инструменты, позволяющие предсказать и благодаря этому снизить риск неблагоприятных исходов терапии ремдесивиром. К тому же предотвращение развития НР может снизить продолжительность госпитализации и связанные с этим экономические затраты [25].

В нашем исследовании мы получили модель, позволяющую предсказать развитие ЛПП при терапии ремдесивиром с точностью до 57,8 %. Её эффективность составила 68 % (среднее значение ROC-AUC = 0,68), модель пригодна для предсказаний и является стабильной. Однако для лучшего предсказания положительных результатов можно повысить чувствительность модели с помощью увеличения доли пациентов с НР в обучающей выборке.

Согласно полученной модели, ключевыми маркерами для развития лекарственно индуцированного поражения печени оказались ИМТ (12,03 %) и носительство генотипа *AG* по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5* (10,04 %).

Так, ферменты *CYP3A4/5* являются одними из ферментов, участвующих в метаболизме ремдесивира в неактивный метаболит [26]. Вариант *CYP3A5*1/*3*, определяемый интронным вариантом (NM_000777.5: *c.219-237A>G*; *rs776746*), ассоциирован со сниженной метаболической активностью фермента (исторически известный как неэкспрессорный фенотип) [27], в связи с чем носительство генотипа *AG* по данному полиморфному маркеру может привести к повышению плазменной концентрации ремдесивира и увеличению риска развития НР. Более высокий ИМТ и, в частности, ожирение являются одним из факторов риска тяжёлого течения COVID-19 [28] и часто сопровождаются другими заболеваниями [29], в том числе неалкогольной жировой болезнью печени [30]. Все эти составляющие могут приводить к повышению риска развития НР при терапии ремдесивиром. В нашем исследовании мы выявили, что более высокий ИМТ прямо пропорционально увеличивает вероятность развития ЛПП при терапии ремдесивиром.

Значения чувствительности и специфичности разработанной модели машинного обучения для прогноза риска развития НР в виде поражения печени у пациентов с COVID-19 на фоне этиотропного лечения препаратом ремдесивир дают основания полагать, что требуется увеличение доли пациентов с НР в тренировочной выборке и указывают на необходимость продолжения исследования с целью улучшения качества модели и её внедрения в клиническую практику в дальнейшем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При помощи машинного обучения была сформирована модель прогноза риска развития НР в виде поражения печени у пациентов с COVID-19 на фоне этиотропного лечения препаратом ремдесивир в условиях стационара. По результатам оценки F1 для указанной конечной точки, наиболее подходящей явилась модель ИИ на основе категориального бустинга – CatBoost. Ключевыми маркерами для развития лекарственно индуци-

рованного поражения печени оказались ИМТ (12,03 %) и носительство генотипа *AG* по полиморфному маркеру *rs776746* гена *CYP3A5* (10,04 %).

Вид ROC-кривой и значение ROC-AUC дают основания полагать, что модель применима и эффективна, а также не подвержена большим флуктуациям.

Для улучшения чувствительности модели, сформированной при помощи машинного обучения, требуется увеличение доли пациентов с НР в тренировочной выборке, что указывает на необходимость продолжения исследования для улучшения качества модели и её дальнейшего внедрения в клиническую практику.

Финансирование

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации, тематика государственного задания «Разработка системы поддержки принятия врачебных решений для прогнозирования нежелательных лекарственных реакций у пациентов с COVID-19 на основе фармакогенетического тестирования» (ЕГИСУ НИОКТР № 122021800321-2).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Временные методические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции (COVID-19).* М.; 2023. [*Temporary methodological recommendations for the prevention, diagnosis, and treatment of novel coronavirus infection (COVID-19).* Moscow; 2023. (In Russ.)].

2. Gilead Sciences Biopharmaceutical Companies, Veklury (remdesivir). *U.S. Food and Drug Administration*. 2022. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/214787Orig1s010Lbl.pdf. [date of access: 20.05.2024].

3. Pantazis N, Pechlivanidou E, Antoniadou A, Akinosoglou K, Kalomenidis I, Poulakou G, et al. Remdesivir: Effectiveness and safety in hospitalized patients with COVID-19 (ReEs-COVID-19) – Analysis of data from daily practice. *Microorganisms*. 2023; 11(8): 1998. doi: 10.3390/microorganisms11081998

4. Kang H, Kang CK, Im JH, Cho Y, Kang DY, Lee JY. Adverse drug events associated with remdesivir in real-world hospitalized patients with COVID-19, including vulnerable populations: A retrospective multicenter study. *J Korean Med Sci*. 2023; 38(44): e346. doi: 10.3346/jkms.2023.38.e346

5. Wang Y, Zhang D, Du G, Du R, Zhao J, Jin Y, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: A randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*. 2020; 395(10236): 1569-1578. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31022-9

6. Шевчук Ю.В., Крюков А.В., Темирбулатов И.И., Сычев И.В., Мирзаев К.Б., Денисенко Н.П., и др. Модель прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени на фоне терапии ремдесивиром: обсервационное проспективное открытое контролируемое исследование. *Фармация и фармакология*. 2023; 11(3): 228-239. [Shevchuk YuV, Kryukov AV, Temirbulatov II, Sychev IV, Mirzaev KB, Denisenko NP, et al. Model for predicting risk of developing drug-induced liver injury during remdesivir therapy: Observational prospective open case-control study. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023; 11(3): 228-239. (In Russ.)]. doi: 10.19163/2307-9266-2023-11-3-228-239

7. Falconer N, Barras M, Cottrell N. Systematic review of predictive risk models for adverse drug events in hospitalized patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2018; 84: 846-864. doi: 10.1111/bcp.13514

8. Salas M, Petracek J, Yalamanchili P, Aimer O, Kasthuril D, Dhingra S, et al. The use of artificial intelligence in pharmacovigilance: A systematic review of the literature. *Pharm Med.* 2022; 36(5): 295-306. doi: 10.1007/s40290-022-00441-z

9. Goldberger J, Roweis ST, Hinton GE, Salakhutdinov R. *Neighbourhood components analysis.* 2004: 513-520.

10. Hosmer DW Jr, Lemeshow S, Sturdivant RX. *Applied logistic regression.* 2013.

11. Cervantes J, Garcia-Lamont F, Rodríguez-Mazahua L, Lopez A. A comprehensive survey on support vector machine classification: Applications, challenges and trends. *Neurocomputing*. 2020; 408: 189-215. doi: 10.1016/j.neucom.2019.10.118

12. Breiman L, Friedman JH, Olshen RA, Stone CJ. *Classification and regression trees.* 2017.

13. Biau G, Scornet E. A random forest guided tour. *TEST.* 2016; 25(1): 197-227. doi: 10.1007/s11749-016-0481-7

14. Prokhorenkova L, Gusev G, Vorobev A, Dorogush AV, Gulin A. CatBoost: Unbiased boosting with categorical features. *Advances in Neural Information Processing Systems*. 2018; 31.

15. Hossin M, Sulaiman MN. A review on evaluation metrics for data classification evaluations. *Int J Data Min Knowl Manag Process*. 2015; 5(2): 1. doi: 10.5121/ijdkp.2015.5201

16. O'Mahony D, O'Connor MN, Eustace J, Byrne S, Petrovic M, Gallagher P. The adverse drug reaction risk in older persons (ADRROP) prediction scale: Derivation and prospective validation of an ADR risk assessment tool in older multi-morbid patients. *Eur Geriatr Med*. 2018; 9(2): 191-199. doi: 10.1007/s41999-018-0030-x

17. Lavan A, Eustace J, Dahly D, Flanagan E, Gallagher P, Cullinane S, et al. Incident adverse drug reactions in geriatric inpatients: A multicentred observational study. *Ther Adv Drug Saf.* 2018; 9(1): 13-23. doi: 10.1177/2042098617736191

18. Yadesa TM, Kitutu FE, Tamukong R, Alele PE. Development and validation of 'Prediction of Adverse Drug Reactions in Older Inpatients (PADROI)' risk assessment tool. *Clin Interv Aging*. 2022; 17: 195-210. doi: 10.2147/CIA.S350500

19. Zhang F, Sun B, Diao X, Zhao W, Shu T. Prediction of adverse drug reactions based on knowledge graph embedding. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2021; 21: 1-11. doi: 10.1186/s12911-021-01402-3

20. Galeano D, Li S, Gerstein M, Paccanaro A. Predicting the frequencies of drug side effects. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 4575. doi: 10.1038/s41467-020-18305-y

21. Choudhury O, Park Y, Salonidis T, Gkoulalas-Divanis A, Sylla I, Das AK. Predicting adverse drug reactions on distributed health data using federated learning. *AMIA Annu Symp Proc*. 2019; 2019: 313-322.

22. Ayyashi M, Darbashi H, Hakami A, Sharahili F. Evaluation of remdesivir utilization pattern in critically ill patients with COVID-19 in Jazan Province. *Cureus*. 2023; 15(3): e36247. doi: 10.7759/cureus.36247

23. Iloanusi S, Mgbere O, Essien EJ. Polypharmacy among COVID-19 patients: A systematic review. *J Am Pharm Assoc*. 2021; 61(5): e14-e25. doi: 10.1016/j.japh.2021.05.006

24. Lee JY, Ang ASY, Mohd Ali N, Ang LM, Omar A. Incidence of adverse reaction of drugs used in COVID-19 management: A retrospective, observational study. *J Pharm Policy Pract*. 2021; 14: 1-9. doi: 10.1186/s40545-021-00370-3

25. Sendekie AK, Kasahun AE, Limenh LW, Dagnaw AD, Belachew EA. Clinical and economic impact of adverse drug reactions in hospitalised patients: Prospective matched nested case-control study in Ethiopia. *BMJ Open*. 2023; 13: e073777. doi: 10.1136/bmjopen-2023-073777

26. Blair HA. Remdesivir: A review in COVID-19. *Drugs*. 2023; 83(13): 1215-1237. doi: 10.1007/s40265-023-01926-0

27. Pratt VM, Cavallari LH, Fulmer ML, Gaedigk A, Hachad H, Ji Y, et al. CYP3A4 and CYP3A5 genotyping recommendations: A joint consensus recommendation of the association for molecular pathology, clinical pharmacogenetics implementation consortium, College of American Pathologists, Dutch Pharmacogenetics Working Group of the Royal Dutch Pharmacists Association, European Society for Pharmacogenomics and Personalized Therapy, and Pharmacogenomics Knowledgebase. *J Mol Diagn*. 2023; 25(9), 619-629. doi: 10.1016/j.jmoldx.2023.06.008

28. Buscemi S, Corleo D, Randazzo C. Risk factors for COVID-19: Diabetes, hypertension, and obesity. *Coronavirus Therapeutics, Volume II: Clinical Management and Public Health.* 2022; 115-129. doi: 10.1007/978-3-030-85113-2_7

29. Zhang X, Ha S, Lau HCH, Yu J. Excess body weight: Novel insights into its roles in obesity comorbidities. *Semin Cancer Biol.* 2023; 92: 16-27. doi: 10.1016/j.semcancer.2023.03.008

30. Quek J, Chan KE, Wong ZY, Tan C, Tan B, Lim WH, et al. Global prevalence of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in the overweight and obese population: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2023; 8(1): 20-30. doi: 10.1016/S2468-1253(22)00317-X

Сведения об авторах

Шевчук Юлия Викторовна – клинический фармаколог, ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы»; аспирант кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: ju-viktorovna@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-2289-1900

Шамигулов Искандер Ильгамович – инспектор Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; студент физтех-школы биологической и медицинской физики, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», e-mail: shamigulov.ii@phystech.edu, https://orcid.org/0009-0003-5383-1713

Сычев Иван Витальевич – младший научный сотрудник Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; аспирант кафедры факультетской терапии, ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», e-mail: sychev_iv@bk.ru, https://orcid.org/0000-0003-0227-2651

Крюков Александр Валерьевич – кандидат медицинских наук, заведующий отделом клинической фармакологии, ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы», доцент кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: alex.kryukov90@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-7903-2977

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

Мирзаев Карин Бадавиевич – доктор медицинских наук, доцент, проректор по научной работе и инновациям, профессор кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: karin05doc@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-9307-4994

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

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

Тучкова Светлана Николаевна – младший научный сотрудник Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: svetlana.tuch1998@gmail.com, https://orcid.org/0009-0001-2744-2752

Вечорко Валерий Иванович – доктор медицинских наук, главный врач, ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы»; профессор кафедры организации здравоохранения и общественного здоровья, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: gkb15@zdrav.mos.ru, https://orcid.org/0000-0003-3568-5065

Аверков Олег Валерьевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель главного врача, руководитель регионального сосудистого центра, ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы», e-mail: oleg.averkov@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3010-755X

Сычев Дмитрий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, Академик РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала, и. о. ректора, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: dmitry.alex.sychev@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-4496-3680

Information about the authors

Yuliya V. Shevchuk – Clinical Pharmacologist, Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O.M. Filatov; Postgraduate at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: ju-viktorovna@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-2289-1900

Iskander I. Shamigulov – Inspector at the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Student at the School of Biological and Medical Physics, Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), e-mail: shamigulov.ii@phystech.edu, https://orcid.org/0009-0003-5383-1713
Ivan V. Sychev – Junior Research Officer at the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Postgraduate at the Department of Intermediate Level Therapy, National Research Ogarev Mordovia State University, e-mail: sychev_iv@bk.ru, https://orcid.org/0000-0003-0227-2651
Alexander V. Kryukov – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of Clinical Pharmacology, Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O.M. Filatov; Associate Professor at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: alex.kryukov90@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-7903-2977
Ilyas I. Temirbulatov – Postgraduate at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: temirbulatov.ilyas@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1242-0833
Karin B. Mirzaev – Dr. Sc. (Med.), Docent, Vice Rector for Research and Innovation, Professor at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: karin05doc@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-9307-4994
Natalia P. Denisenko – Cand. Sc. (Med.), Deputy Director of the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Associate Professor at the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: natalypilipenko3990@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3278-5941
Sherzod P. Abdullaev – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Department of Predictive and Prognostic Biomarkers, Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: abdullaevsp@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-9001-1499
Svetlana N. Tuchkova – Junior Research Officer at the Research Institute of Molecular and Personalized Medicine, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: svetlana.tuch1998@gmail.com, https://orcid.org/0009-0001-2744-2752
Valery I. Vechorko – Dr. Sc. (Med.), Chief Physician, Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O.M. Filatov; Professor at the Department of Healthcare Organization and Public Health, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: gkb15@zdrav.mos.ru, https://orcid.org/0000-0003-3568-5065
Oleg V. Averkov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Chief Physician, Head of the Regional Vascular Center, Municipal Clinical Hospital No. 15 named after O.M. Filatov, e-mail: oleg.averkov@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3010-755X
Dmitry A. Sychev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Therapy named after Academician B.E. Votchal, Acting Rector, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: dmitry.alex.sychev@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-4496-3680

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ
MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

НОВЫЕ СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ БИОПЛЁНКОПРОДУЦИРУЮЩИМИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Фадеева Т.В.,
Невежина А.В.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Невежина Анна Владимировна,
e-mail: n4nnna@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Лечение инфекций, вызванных Klebsiella pneumoniae, становится всё более сложной задачей из-за их множественной резистентности к современным противомикробным препаратам. Способность образовывать биоплёнки является решающим признаком вирулентности K. pneumoniae. Биоплёнки представляют собой сложные бактериальные сообщества, состоящие из одного или нескольких видов, заключённых во внеклеточный матрикс, состоящий из белков, углеводов и ДНК. Ингибирование и уничтожение биоплёнкопродуцирующих штаммов антибиотиками часто требует более высоких концентраций, чем те, которые требуются для подавления планктонных бактерий. Увеличение дозировки может значительно варьироваться в зависимости от многих факторов их вирулентности. Поэтому в последнее время ведётся поиск альтернативных методов лечения. В настоящем обзоре были проанализированы данные из литературных источников для получения представления об основных факторах вирулентности с акцентом на роль биоплёнок в повышении устойчивости к антимикробным препаратам, что подчёркивает важность этого механизма для приспособленности бактерий. Поиск литературы проводился с использованием электронных информационных ресурсов PubMed, Google Scholar и eLibrary. Глубина поиска – с 2000 г. по настоящее время; доля источников, опубликованных за последние 5 лет, составила 63 %. Используемые при поиске ключевые слова: Klebsiella pneumoniae; биоплёнка; факторы вирулентности; лечение инфекции; комбинированная терапия. В обзоре раскрыты представления о различии патотипов K. pneumoniae, гипервирулентого и классического, и их взаимосвязи с биоплёнкообразованием. Охарактеризованы состав и регуляция биоплёнки, кратко изложены некоторые факторы, влияющие на структуру биоплёнки. Также приведены некоторые новые комбинированные стратегии лечения инфекций, вызванных биоплёнкообразующей K. pneumoniae. Понимание воздействия антимикробных препаратов на биоплёнки имеет первостепенное значение для клинической практики в связи с повышенным уровнем устойчивости и распространением резистентности среди возбудителей инфекций.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae, биоплёнка, факторы вирулентности, лечение инфекции, комбинированная терапия*

Статья поступила: 15.10.2024
Статья принята: 13.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Фадеева Т.В., Невежина А.В. Новые стратегии лечения инфекций, вызванных биоплёнкопродуцирующими *Klebsiella pneumoniae*. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 63-75. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.7

NEW STRATEGIES FOR THE TREATMENT OF INFECTIONS CAUSED BY BIOFILM-PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Fadeeva T.V.,
Nevezhina A.V.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Anna V. Nevezhina,
e-mail: n4nnna@yandex.ru

ABSTRACT

Treatment of Klebsiella pneumoniae infections is becoming increasingly challenging due to their multiple resistance to current antimicrobials. The ability to form biofilms is a critical virulence feature of K. pneumoniae. Biofilms are complex bacterial communities consisting of one or more species embedded in an extracellular matrix of proteins, carbohydrates, and DNA. Inhibition and killing of biofilm-producing strains with antibiotics often requires higher concentrations than those required to suppress planktonic bacteria. Dosage increases can vary significantly depending on many of their virulence factors. Therefore, alternative treatments have been sought recently. In this review, the literature was analyzed to gain insight into the major virulence factors with an emphasis on the role of biofilms in enhancing antimicrobial resistance, highlighting the importance of this mechanism for bacterial adaptation. The literature search was conducted using the electronic information resources PubMed, Google Scholar and eLibrary. The search depth was limited from 2000 to the present, the share of literature for the last 5 years was 63 %. The keywords used in the search were: Klebsiella pneumoniae, biofilm, virulence factors, infection treatment, combination therapy. The concepts of the difference between the pathotypes of K. pneumoniae, hypervirulent and classical, and their relationship with biofilm formation are revealed. The composition and regulation of biofilm are characterized, some factors influencing the structure of biofilm are briefly described. Some new combination strategies for the treatment of infections caused by biofilm-forming K. pneumoniae are also presented. Understanding the effect of antimicrobials on biofilms is of paramount importance for clinical practice due to the increased level of resistance and the spread of resistance among infectious agents.

Key words: *Klebsiella pneumoniae, biofilm, virulence factors, treatment of infection, combination therapy*

Received: 15.10.2024
Accepted: 13.12.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Fadeeva T.V., Nevezhina A.V. New strategies for the treatment of infections caused by biofilm-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 63-75. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.7

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции, вызываемые *Klebsiella pneumoniae*, представляют собой серьёзную проблему из-за растущей устойчивости штаммов к антибиотикам, а рост и распространение новых штаммов вызывают научный и практический интерес. Согласно литературным данным, за последние несколько лет *K. pneumoniae* стала ведущим возбудителем инфекций среди группы ESCAPE-патогенов [1]. В мае 2024 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) опубликовала обновлённый список приоритетных бактериальных патогенов, где *Enterobacterales*, устойчивые к цефалоспоринам третьего поколения и карбапенемам, включены в категорию наиболее приоритетных для общественного здравоохранения. Изучая распространённость устойчивости к антибиотикам клинических изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в различных регионах России в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2020–2021 гг., М.В. Эйдельштейн и соавт. выявили крайне высокую частоту резистентности к цефалоспоринам (более 80 %), а также высокую частоту сочетанной устойчивости нозокомиальных штаммов к аминогликозидам и фторхинолонам (42–85 %). Частота продукции карбапенемаз среди нозокомиальных изолятов составила 65,32 %. По данным этого исследования, у *K. pneumoniae* отмечается быстрое нарастание устойчивости к карбапенемам, в основном за счёт распространения карбапенемаз трёх основных групп – OXA-48, NDM и KPC [2]. S. Paudel и соавт. наблюдали значительную связь между продукцией биоплёнки и проявлением множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) [3]. В исследовании I. Al-Ani распространённость инфекции *K. pneumoniae* была значительной среди возрастных групп 40–59 лет, а пациенты в возрасте моложе 20 или старше 60 лет демонстрировали более низкую восприимчивость к инфекции *Enterobacteriaceae,* к которой относится и *K. pneumoniae* [4]. Понимание воздействия антимикробных препаратов на биоплёнки имеет первостепенное значение для клинической практики в связи с повышенным уровнем устойчивости и распространением резистентности среди возбудителей инфекций. Поиск и анализ статей проводился с использованием поисковых баз PubMed, Google Scholar и eLibrary, из которых была тщательно отобрана информация, касающаяся роли биоплёнок *K. pneumoniae* в повышении устойчивости к антимикробным препаратам и рассмотрены новые методы, ориентированные на уничтожение биоплёнок, включая комбинированные стратегии. В перспективе эти методы могут быть использованы как самостоятельные подходы или в сочетании друг с другом для более эффективного лечения бактериальных инфекций, особенно в условиях растущей антибиотикорезистентности.

ХАРАКТЕРИСТИКА *K. PNEUMONIAE*

K. pneumoniae относится к семейству энтеробактерий (*Enterobacteriaceae*). Это условно-патогенная грамотрицательная, инкапсулированная, неподвижная бактерия размером 0,6–6 мкм на 0,3–1 мкм, встречающаяся в окружающей среде (почва, поверхностные воды, абиотические поверхности, в том числе медицинские инструменты). Колонизируя слизистые оболочки ротоглотки и желудочно-кишечного тракта человека, при попадании в организм бактерия может проявлять высокую степень вирулентности и устойчивость к антибиотикам, что подчёркивает важность лучшего понимания патогенеза *K. pneumoniae* [5].

Клебсиеллы представляют большую опасность для пациентов с ослабленным иммунитетом, вызывая как локальные, так и генерализованные инфекции. Штаммы *K. pneumoniae* являются частой причиной пневмонии, инфекции мочевыводящих путей и инфекции кровотока [6], гнойно-септические осложнений. *K. pneumoniae* приобретает устойчивость к антимикробным препаратам посредством плазмид и транспозонов, кодирующих β-лактамазы и насосы оттока. Мутации в различных белках, таких как β-лактамазы, эффлюксные белки, белки внешней мембраны, ферменты репликации генов, комплексы синтеза белков и ферменты транскрипции, также вызывают резистентность [7]. Вариации в геноме позволяют распределить штаммы на условно-патогенные, гипервирулентные и антибиотикорезистентные [8]. В свою очередь, согласно современным критериям, различают два патотипа *K. pneumoniae* – классический (*cKp*) и гипервирулентный (*hvKp*). При этом патогенные формы *cKp* и *hvKp* трудно поддаются лечению из-за их генов устойчивости к противомикробным препаратам. В России первые сообщения о выделении гипервирулентных изолятов *K. pneumoniae* появились в 2018–2020 гг. [9]. Было показано, что штаммы *hvKp* продуцируют больше биоплёнки, чем классические *K. pneumoniae* [10]. Признаками, указывающими на инфекцию *hvKp*, являются её способность поражать здоровых людей любого возраста и склонность инфицированных пациентов к множественным очагам инфекции, что является необычным явлением для других представителей семейства *Enterobacteriaceae* [11]. Ранее считалось, что основной характеристикой штаммов *hvKp* была гипермуковязкость [12]. Гипермуковязкость определяется с помощью «стринг-теста». Тест заключается в способности слизи, зацепленной бактериальной петлёй из колонии на кровяном агаре, формировать «тяж» длиной не менее чем высота бортика чашки Петри (около 5 мм) [1]. Однако было показано, что, во-первых, не все гипермукоидные клебсиеллы гипервирулентны, во-вторых, не все гипервирулентные клебсиеллы гипермукоидны [9, 13]. В то же время не было обнаружено различий в биоплёнкообразовании между изолятами с гипермуковязким и не-гипермуковязким фенотипами [14]. По сравнению с гипервирулентной *K. pneumoniae* классическая *K. pneumoniae* имеет тенденцию к приобретению устойчивости к антибиотикам. Исследование B. Dan и соавт. показало, что гены *rmpA*, *K1* или *K2*, и *kfu* были высоко ассоциированы с *hvKp* [15]. В связи с проблемой дифференцирования патотипов в настоящий момент в лабораториях клинической микробиологии от-

сутствуют критерии для идентификации *hvKp* и существует необходимость разработки диагностических тестов для скрининга штаммов *K. pneumoniae* [8]. Классификация *K. pneumoniae* на основании антигенов позволяет выделять серогруппы и серотипы. Серогруппа включает в себя серотипы, которые выявляются на основании антигенов. Наиболее часто используемые для серотипирования клебсиелл – это О- и К-антигены. Среди них наиболее известные серотипы, ассоциированные с инфекциями, – это К1 и К2 [16].

ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ

K. pneumoniae обладает несколькими патогенными факторами, которые способствуют её способности вызывать инфекции. К ним относятся: 1) капсула, которая защищает от фагоцитоза и способствует адгезии на абиотических и биотических поверхностях; 2) липополисахарид и фимбрии; 3) карбапенемазы; 4) образование биоплёнок и др.

Капсула. Капсула бактерии *Klebsiella* играет важную роль в адгезии и патогенности этой группы микроорганизмов [17]. Она помогает бактериям уклоняться от фагоцитоза, что позволяет им лучше прикрепляться к клеткам хозяина и избегать уничтожения иммунными клетками. Также капсула защищает их от антибиотиков и иммунного ответа. Наличие капсулы связано с повышенной вирулентностью *Klebsiella*, так как она способствует колонизации и инвазии тканей, а гены, ответственные за синтез капсулы (например *rmpA+, rmpA2+, wcaG, wza, wzc*), способствуют адгезии и образованию биоплёнки [18, 19]. Некоторые исследования показывают, что капсула может препятствовать образованию биоплёнки у *K. pneumoniae* [17].

Фимбрии. Фимбрии типов 1 и 3 являются важнейшими факторами вирулентности, способствующими образованию биоплёнки [20]. Фимбрии – это нитевидные структуры на поверхности бактерий. Они могут быть различной длины и толщины, и их структура может варьироваться в зависимости от штамма. Фимбрии позволяют *Klebsiella* прикрепляться к клеткам хозяина. В недавнем исследовании клебсиелл-продуцентов β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) было показано, что изоляты *K. pneumoniae*, не экспрессирующие фимбрии типа 3, не могут образовывать биоплёнки [21].

Липополисахарид (ЛПС). ЛПС *Klebsiella* является важным компонентом её внешней мембраны и играет ключевую роль в патогенезе и вирулентности этой бактерии. Липид А, гидрофобная часть, отвечает за токсичность ЛПС и его способность вызывать иммунный ответ. Полисахаридный каркас связывает липид А с олигосахаридной цепью. Другой компонент ЛПС, О-антиген, представляет собой высокомолекулярный полисахарид, который может варьироваться и отвечает за серотипирование [22]. ЛПС является мощным индуктором воспалительной реакции. Он активирует макрофаги и нейтрофилы, что может приводить к высвобождению цитокинов и усилению воспаления. Таким образом, липополисахарид *Klebsiella* является ключевым фактором, способствующим её патогенности и взаимодействию с иммунной системой хозяина.

Карбапенемазы. Выработка карбапенемаз, особенно сериновой карбапенемазы KPC и металло-β-лактамаз (MBL), относится к основным распространённым механизмам резистентности у *K. pneumoniae* [23]. БЛРС, принадлежащие к классу А, описаны у семейств *Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae* и рода *Acinetobacter*, но наиболее часто встречаются у *K. pneumoniae* [24]. *Карбапенемазы* OXA-48 и NDM являются одними из наиболее распространённых типов карбапенемаз, ассоциированных с *K. pneumoniae*, во всём мире, в том числе и в России [25]. Изучая генетическое разнообразие 19 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в многопрофильном медицинском центре г. Москвы, Т.С. Скачкова и соавт. (2019) выявили, что во всех штаммах присутствовали гены нескольких типов β-лактамаз одновременно [26]. По данным исследования «МАРАФОН», проведённого в 55 стационарах 29 городов в 2020–2021 гг., в среднем по России встречаемость карбапенемаз среди нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* составила 65,32 % (OXA-48 – 40,75 %; NDM – 30,28 %; KPC – 8,74 %; OXA-48 + NDM – 10,62 %; OXA-48 + KPC – 2,98 %; NDM + KPC – 0,45 %; OXA-48 + NDM + KPC – 0,20 % [2].

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ БИОПЛЁНОК *K. PNEUMONIAE*

Биоплёнки состоят из микробных клеток, встроенных в продуцируемый ими внеклеточный матрикс, состоящий из полисахаридов, внеклеточной ДНК, а также белков и других компонентов. По сравнению с планктонными клетками клетки биоплёнки гораздо более устойчивы к противомикробным препаратам, и это становится основной причиной, при которой лечение противомикробными препаратами оказывается неэффективным [18]. Считается, что 65–80 % всех хронических инфекций связаны с биоплёнкой [27]. Биоплёнка способна замедлять проникновение антимикробных средств, выполняя таким образом барьерную функцию. Внеклеточная ДНК в составе биоплёнок у бактерий играет решающую роль в горизонтальном переносе генов устойчивости к антибиотикам среди бактерий. Известно, что горизонтальный перенос генов чаще происходит в биоплёнках, чем в планктонных культурах, путём поглощения внеклеточной ДНК бактериями [28]. Гены, участвующие в формировании биоплёнки *K. pneumoniae*, в основном включают фимбрии, полисахариды, систему «кворум-сенсинга» («quorum sensing»), эффлюксный насос и т. д. [18]. Кворум-сенсинг играет важную роль в регулировании образования биоплёнки [28]. Явление кворум-сенсинга у микроорганизмов тоже представляется как фактор патогенности. Он также считается механизмом адаптации бактерий к окружающей среде. Общение между клетками микробной популяции происходит посредством специальных молекул с трансмембранными или цитоплазматическим рецепторами бактерий [29].

В матриксе биоплёнки всех изолятов *K. pneumoniae* присутствует белок, сахара и экосистемная ДНК. Однако процентное содержание этих веществ различается у изолятов, поражающих разные участки тела. Особая текстура и состав матрикса биоплёнки помогают бактерии регулировать плотность биоплёнки в соответствии с её потребностями [15]. Существует корреляция между типом клинического образца и скоростью образования биоплёнки, и различные данные говорят о взаимосвязи между образованием биоплёнки и областью заражения [30]. Также наблюдается связь между образованием биоплёнок и проявлением МЛУ [3]. Существуют данные о том, что высокие концентрации сахаров (таких как глюкоза) препятствуют образованию биоплёнки у *K. pneumoniae*, в то же время другие источники углерода, например фукоза, наоборот, могут повышать плотность биоплёнки [17]. Условия культивирования сильно влияют на биоплёнкообразование штаммов *K. pneumoniae*. Состав питательной среды оказал значимое влияние на процесс образования биоплёнки: среда DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) стимулировала биоплёнкообразование *in vitro* у большинства штаммов по сравнению с TSB (tryptic soy broth). Напротив, возраст культуры (Н.И. Игнатова и соавт. сравнивали суточную и недельную), не оказывал существенного влияния на биоплёночную активность. Температура культивирования и наличие кислорода оказались способны как стимулировать, так и угнетать биоплёнкообразование в зависимости от исследуемого штамма [31]. Окрашивание калькофлуором показало, что в более старых биоплёнках по сравнению с молодыми вырабатывается больше экзополисахаридов, что может быть причиной повышенной устойчивости более старых биоплёнок *K. pneumoniae* к антибиотикам [32]. В состав поверхностной оболочки и матрикса биоплёнок входят полисахариды в количестве от 40 до 95 % (в т. ч. декстран, гиалуроновая кислота, целлюлоза и др.). Концентрация прочих химических компонентов сильно варьируется. Доля белков может составлять до 60 %, липидов – до 40 %, нуклеиновых кислот (внеклеточной ДНК и РНК) – 1–20 %. Данные соединения находятся в гидратированном состоянии, т. к. 80–90 % объёма биоплёнки занимает вода [33]. Клетки в биоплёнке колонизируют как абиотические, так и биотические поверхности более эффективно, чем их планктонные аналоги, независимо от их изначальных способностей к адгезии. Кроме того, клетки-биоплёнкообразователи, отделяясь от матрикса, быстрее поглощаются макрофагами и лучше выживают внутри них, чем планктонные и адгезированные клетки [34]. В исследовании K. Lathamani и соавт. изоляты *K. pneumoniae*, продуцирующие БЛРС (75,26 %), обладали исключительной способностью образовывать биоплёнку по сравнению с не образующими БЛРС (24,74 %) [35]. Другое недавнее исследование показало, что устойчивые к сыворотке штаммы продуцирующих БЛРС *K. pneumoniae* более распространены, чем не продуцирующие БЛРС [15]. M.M. Gharrah и соавт. наблюдали значительную корреляцию между продукцией БЛРС и биоплёнкой (сильной и умеренной), резистентностью сыворотки и геном *iss*. Более того, была выявлена значительная связь между не продуцирующими БЛРС и гипермуковязкостью [36]. Однако в другом исследовании большинство изолятов, продуцирующих БЛРС и КРС, были слабыми продуцентами биоплёнки (40 % и 60 % соответственно), и не было обнаружено корреляции между способностью образовывать более прочные биоплёнки и присутствием ферментов БЛРС и КРС в изолятах [37].

Z. Wen и соавт. обнаружили, что штаммы *hvKp* чаще образовывали биоплёнки (85,71 %) по сравнению с *cKp* (54,54 %). *hvKp* не только образовывали более плотные и более сплочённые биоплёнки, но также имели более сложный внеклеточный матрикс. Здесь же они показали, что штаммы *hvKp* имели более низкий процент устойчивости по сравнению с *cKp* для большинства протестированных антибиотиков, что вызывает дополнительный интерес к механизмам вирулентности патотипов [38]. B. Dan и соавт. в 2022 г. изучали взаимосвязь между характеристиками лекарственной устойчивости и образованием биоплёнки у штаммов *K. pneumoniae* и выявили корреляцию между штаммами, продуцирующими БЛРС, и образованием биоплёнки по сравнению со штаммами без фенотипа БЛРС. Кроме того, штаммы с МЛУ также с большей вероятностью образовывали биоплёнки, чем чувствительные штаммы. Уровень образования биоплёнки статистически значимо и отрицательно коррелировал с устойчивостью к цефалоспоринам [15]. R. Latha и соавт. при анализе 102 изолятов, выделенных у пациентов в 2022 г., на биоплёнкообразование идентифицировали небиоплёночные продуценты (1,02 %), умеренные (36,73 %) и сильные продуценты биоплёнок (62,24 %). Сильные продуценты биоплёнок продемонстрировали устойчивость ко многим антибиотикам. В этом же исследовании был предложен ген *magA* в качестве биомаркера для изолятов, сильно продуцирующих биоплёнку [39]. У.М. Немченко и соавт. установили особенности микробиоценоза толстого кишечника у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами и проанализировали способность к биоплёнкообразованию у штаммов *Klebsiella* spp., выделенных при исследовании. Было показано, что клебсиеллы обладали способностью к формированию биоплёночных сообществ (48,10 % у детей до года и 50 % у детей старше года). Выявлено, что наличие клебсиелл в кишечнике является значимым фактором риска развития дисбиозов 2–3-й степени, а при отсутствии *Klebsiella* spp. в составе кишечного микробиоценоза у детей независимо от возраста регистрировались дисбиотические нарушения 1-й степени [40]. В сравнительном исследовании изолятов *K. pneumoniae*, продуцирующей и не продуцирующей биоплёнку, с особым акцентом на металло-β-лактамазу, среди 40 изолятов *K. pneumoniae*, продуцирующих биоплёнку, 28 % были продуцентами БЛРС, 47 % – MBL и 25 % – AmpC-β-лактамаз. P.S. Pawar и соавт. сравнивают свои результаты с данными S. Kuinkel и соавт., согласно которым, наблюдалось 17,90 % продуцентов БЛРС, 33,30 % продуцентов MBL и 20,50 % продуцентов AmpC-β-лактамаз среди изолятов-продуцентов биоплёнки. В этом же исследовании они ссылаются на работу R. Dumaru и со-

авт., по данным которой 30,61 % продуцентов биоплёнок были продуцентами БЛРС и 26,53 % – продуцентами MBL [41]. Связь также выявлена между образованием биоплёнки и продукцией БЛРС у *K. pneumoniae*, выделенных из свежих фруктов и овощей. Среди выделенных изолятов *K. pneumoniae* 74,50 % были из овощей, тогда как остальные (25,50 %) были из свежих фруктов. Изоляты *K. pneumoniae* были устойчивы по крайней мере к трём различным классам антибиотиков, при этом цефтазидим (90 %) и цефотаксим (70 %) демонстрировали самые высокие показатели устойчивости. Более того, большинство (81 %) продуцентов БЛРС содержали ген *blaCTX-M*, в то время как меньшая доля изолятов несла гены *blaTEM* (30 %), *blaSHV* (11 %) или *blaOXA* (8 %) [42]. N.M. El Naggar и соавт. также показали потенциальную связь между продуцированием карбапенемазы и образованием биоплёнок. Все изоляты, содержащие *blaNDM-1*, продемонстрировали образование биоплёнки с различными уровнями, классифицированными как сильные (33,33 %), умеренные (22,22 %) или слабые (44,45 %). Изоляты, в которых присутствовали одновременно *blaNDM-1* и *blaKPC*, не демонстрировали сильного или умеренного образования биоплёнки. Изоляты, в которых присутствовали одновременно *blaNDM-1* и *blaOXA-48*, были преимущественно умеренными (48,65 %), за ними следовали слабые (32,43 %), ни у одного изолята не было сильной продукции биоплёнки. Эти результаты предполагают корреляцию между присутствием карбапенемаз и способностью к образованию биоплёнки [43].

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИЙ *K. PNEUMONIAE*

Известно, что бактерии, образующие биоплёнки, становятся всё более устойчивыми к действию антибиотиков и являются основной причиной смертности или заболеваемости. В обзоре R. Roy и соавт. 2018 г. описано действие различных молекул против биоплёнок различных бактерий, включая растительные активные соединения, хелатирующие агенты, пептидные антибиотики, лантибиотики и синтетические химические соединения вместе с их структурами и механизмом действия, суммируются литературные данные о соединениях против биоплёнок и особое внимание уделяется различным стратегиям или мишеням ингибирования биоплёнок [44]. В нашем обзоре мы рассмотрим некоторые перспективные стратегии для борьбы с биоплёнками *K. pneumoniae*. Для определения чувствительности бактерий к различным антимикробным препаратам в клинических лабораториях широко используется метод серийных разведений, позволяющий оценить минимальную ингибирующую и бактерицидную концентрации (MIC/MBC, minimum inhibiting concentration/minimum bactericidal concentration), что помогает в выборе эффективного лечения. Однако результаты MIC/MBC отражают эффективные дозировки для планктонных клеток, но не в биоплёнках, к тому же использование субингибирующих концентраций многих антибиотиков способны усиливать образование биоплёнок [45]. Для решения этой проблемы был разработан анализ оценки минимальной концентрации для уничтожения биоплёнок (MBEC, minimum biofilm eradication concentration). Исследования показывают, что для эффективного разрушения биоплёнки может потребоваться концентрация до 100 раз выше MIC. Однако применение таких доз осложняется тем, что они потенциально токсичны для организма [44, 46]. Выделяют следующие направления борьбы с биоплёнками: 1) предотвращение первичного инфицирования; 2) минимизация начальной адгезии микробных клеток; 3) разработка методов проникновения через матрикс биоплёнки биоцидов с целью подавления активности клеток внутри биоплёнки; 4) блокировка синтеза или разрушение матрикса; 5) нарушение межклеточного обмена информацией (ингибирование регуляции кворум-сенсинга) [47]. Подходы к борьбе с биоплёнками включают использование стратегий, которые предотвращают образование биоплёнок или нацелены на существующие биоплёнки (ослабление, разрушение или прямое уничтожение) [48]. Против биоплёнок бактерий используются несколько групп препаратов и методов. Особенно регулярно в последнее время появляются новые сообщения об изучении их комбинаций.

Антибиотики. По последним данным, появляется устойчивость к препаратам «последней линии», таким как колистин, что вызывает определённые терапевтические проблемы. По данным Д.С. Смольяниновой и соавт., уже в 2022 г. среди 500 больных, госпитализированных с обострением мочекаменной болезни, высевавшаяся *K. pneumoniae* в большинстве случаев имела устойчивость к четырём классам антибиотиков: пенициллинам, фторхинолонам, цефалоспоринам и аминогликозидам [49]. Комбинированная терапия антибиотиками, основанная на их синергических эффектах, способна расширить спектр клинического лечения. Для успешной терапии необходимо, чтобы антибиотики эффективно проникали через матрикс биоплёнки, а затем через клеточную оболочку и особенно через внешнюю мембрану, достигая своей цели [50]. Комбинации антибиотиков могут действовать синергетически, но определить оптимальную комбинацию сложно, поскольку стандартное тестирование на чувствительность малодостоверно по отношению к клеткам, защищённым биоплёнкой. Синергетическое действие антибиотиков в комбинации считается выгодным, так как более эффективно подавляется рост микроорганизмов. С другой стороны, проявляется их способность быстрее сформировать резистентность к антибиотикам, способствуя выживанию резистентных форм. Описаны различные эффективные комбинации антибактериальных препаратов. Так, например, комбинация тигециклина с амикацином и тигециклина с колистином показала синергизм против изолятов *K. pneumoniae* [24]. Д.В. Тапальский и соавт. определили синергидную активность комбинаций колистина с кларитромицином для 43 штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к колистину, которая усиливалась в присутствии меропенема или дорипенема. Авторы предполагают, что возможным механизмом синергидных взаимо-

действий является значительное увеличение проницаемости наружной мембраны для макролидов в присутствии даже небольших концентраций колистина, что делает возможным их доступ к внутриклеточным мишеням [51]. В другом исследовании показали синергизм комбинаций амоксициллина/клавуланата с колистином, меропенемом или амикацином в отношении 60–70 % изолятов в планктонной форме. В отношении биоплёночных изолятов (50–70 %) оказались эффективнее комбинации колистина с амоксициллином/клавуланатом, меропенемом или амикацином, а наиболее эффективной комбинацией был колистин-амикацин [52]. Ранее было установлено, что в биоплёнки *K. pneumoniae* плохо проникает ампициллин [33]. В исследовании 2000 г. было проанализировано проникновение двух антибиотиков: ампициллина – на биоплёнки штамма-мутанта с дефицитом продукции β-лактамаз, ципрофлоксацина – на биоплёнки штамма дикого типа *Klebsiella pneumoniae*. Оба штамма оказались устойчивы к антибиотикам, что не объяснялось инактивацией антибиотиков или медленной диффузией, поскольку эти антибиотики полностью проникали через биоплёнки [53]. Используя штамм *K. pneumoniae* (ATCC 10031), устойчивый к макролидам, O.V. Moshynets и соавт. продемонстрировали эффективность нескольких макролидов в подавлении роста биоплёнок в многолуночных планшетах, а также способность азитромицина повышать эффективность колистина метасульфоната в отношении биоплёнок [54].

Диспергаторы и ингибиторы биоплёнок. Дестабилизацию структуры биоплёнки можно рассматривать как способ устранения дополнительной защиты, обеспечиваемой биоплёнками, что делает биоплёнки более проницаемыми для противомикробных препаратов, а клетки в биоплёнке – более восприимчивыми к антибиотикам. Однако эта стратегия сопряжена с риском того, что дестабилизация структуры биоплёнки и разрыхление матрикса могут привести к отслоению клеток и дальнейшему распространению биоплёнок, что потенциально может привести ко всё более тяжёлым и долгосрочным последствиям [45]. ДНКаза I, DspB и α-амилаза не только ингибируют образование биоплёнки, но и разрушают зрелые биоплёнки у различных микробов [28]. Также сообщается, что ДНКаза вмешивается в структуру биоплёнок *K. pneumoniae*, влияя на их морфологию, биомассу, архитектуру и количество КОЕ, а декстраназа и лизоцим способны разрушать биоплёнки *K. pneumoniae* [48]. Изучено влияние 3-метил-2(5H)-фуранона и 2-гидроксикоричной кислоты, которые ингибировали образование биоплёнки на 67,38 % и 65,06 % соответственно. Кроме того, оставшаяся образовавшаяся биоплёнка была более чувствительна к гентамицину. Таким образом, эти молекулы могут быть разработаны в качестве дополнения к антибиотикам [55]. Тимол и пиперин – два природных биоактивных соединения с несколькими фармакологическими активностями. Тимол в сочетании со стрептомицином или канамицином показал синергический эффект в отношении предварительно сформированной биоплёнки *K. pneumoniae* при снижении минимальных значений концентрации каждого антибиотика в комбинации для уничтожения биоплёнки в 16–64 раза. Пиперин также действовал синергически с канамицином, снижая минимальные значения концентрации канамицина для уничтожения биоплёнок в комбинации в 8–16 раз [56]. Недавно было показано, что штаммы *Lactobacillus* противодействуют колонизации бактериями рода *Klebsiella*. Известно, что лактобациллы являются важным компонентом нормальной микрофлоры и обладают выраженной защитной функцией организма хозяина. Было обнаружено, что при совместном культивировании с клебсиеллами штаммы *Lactobacillus* синтезируют ряд новых ферментов. Авторы подразделили эти ферменты на три группы: 1) ферменты, гидролизующие клеточную стенку бактерий; 2) ферменты, гидролизующие нуклеиновые кислоты; 3) ферменты клеточного метаболизма. В совокупности эти ферменты помогали лактобактериям проявлять бактерицидное действие по отношению к биоплёнкам клебсиелл [57]. В исследовании 2019 г. было обнаружено, что протеиназа K эффективно расщепляет биоплёнки, образованными изолятами *K. pneumoniae*. При этом комбинация протеиназы K, метапериодата натрия ($NaIO_4$) и ДНКазы I разрушала биоплёнки всех изолятов независимо от мест их заражения [58].

Наноматериалы. Наноматериалы всё чаще рассматриваются в качестве альтернативы антибиотикам для борьбы с инфекциями, связанными с биоплёнками. Существуют липидные, полимерные и металлические наноматериалы, способствующие помимо непосредственного уничтожения или подавления микроорганизмов, транспортировать антибиотики или другие агенты через барьер биоплёнки, так называемые наноносители. Эксперименты *in vitro* показали, что оксид азота NO может уничтожить *K. pneumoniae*, вызывая разрушение оболочки бактериальных клеток. Было исследовано влияние NO на штаммы *cKp* и *hvKp*. Обработка *K. pneumoniae* низкомолекулярными донорами NO с увеличенным периодом отсутствия высвобождения приводила к ингибированию роста и снижению вязкости слизистой оболочки капсулы. Доноры NO также были высокоэффективны при уничтожении биоплёнок, полученных из *K. pneumoniae* [59]. Среди многих видов особое внимание привлекли наночастицы, ингибирующие образование биоплёнок и обладающие антимикробным эффектом, за счёт проникновения ионов металлов наночастиц в клетки и повреждения внутриклеточных структур посредством взаимодействия с ДНК и белками [60]. S. Chhibber и соавт. проведён анализ использования наночастиц серебра, функционализированных аминокислотами, отдельно и в сочетании с гентамицином для уничтожения биоплёнки *K. pneumoniae*. Наночастицы серебра, функционализированные аминокислотами, не только разрушали биоплёнку *in vitro*, но и снижали дозу гентамицина при совместном применении. Предполагается, что гистидин, являющийся катионной аминокислотой, обеспечивает защиту наночастиц серебра, и это приводит к электростатическому взаимодействию между ними и анионной мембраной бактериальных клеток [61]. В исследовании 2022 г. наночастицы феррита

цинка ($ZnFe_2O_4$) продемонстрировали антибактериальную эффективность в исследовании против биоплёнок *K. pneumoniae*. Они были способны ингибировать образование биоплёнки до 81,76 % и уменьшать зрелую биоплёнку до 56,22 % при минимальном значении ингибирующей концентрации 75 мкг/мл [62]. U.A. Hasanova и соавт. разработали метод функционализации поверхности наночастиц магнетита антибиотиками цефотаксимом и цефтриаксоном и протестировали на *Klebsiella* spp., обладающих МЛУ, тем самым усилили действие антибиотика и ингибировали развитие биоплёнки. Как предполагают авторы, приготовленные наноструктуры позволяют избежать разрушения β-лактамного кольца цефалоспоринов благодаря тому, что сидерофоры бактерии связывают железосодержащие наночастицы, насыщенные антибиотиками, и транспортируют их через микробную клетку. Таким образом наноструктуры играют роль «троянского коня», который вводит в заблуждение систему безопасности микробных клеток и способствует проникновению наноантибиотика в микробную клетку [63]. Недавно D.S. Khaleel и соавт. синтезировали наночастицы оксида железа, покрытые галловой кислотой (IONPs-GA). Минимальная ингибирующая концентрация наночастиц против *K. pneumoniae* составила 3,12 мг/мл, а анализ методом сканирующей электронной микроскопии показал, что прикрепление IONP-GA к поверхности клеток приводило к разрушению клеточной мембраны. Помимо этого, наночастицы влияли на регуляцию и уровень мРНК генов, кодирующих компоненты капсулы *K. pneumoniae* [64]. Помимо вышеперечисленных, появляется всё больше исследований по эффективному использованию наночастиц металлов и их оксидов против клебсиелл, например, в обзоре L. Shkodenko и соавт. представлен сравнительный анализ антибактериальных свойств наночастиц MgO, CuO, Ag-TiO_2 на планктонные клетки бактерий и биоплёнки *K. pneumoniae* [65].

Фаги, антимикробные пептиды и иммунизация. Бактериофаг – это вирус, который нацелен непосредственно на бактерию-хозяина и способен заражать и разрушать её посредством лизиса. Некоторые из них также обладают свойствами против биоплёнки, разрушая внеклеточный матрикс, увеличивая проницаемость антибиотиков во внутренний слой биоплёнки и ингибируя её образования путём остановки активности кворум-сенсинга [66, 67]. Известно, что бактериофаги специфичны, не влияют на эукариотические клетки и индуцируют бактериолиз с помощью механизмов, отличных от антибиотиков [24]. Бактериофаги, проникая в клетки бактерий вызывают их лизис, реплицируются и, нарушая целостность клеток, делают их менее устойчивыми к воздействию антибиотиков и других противомикробных препаратов, что способствует их синергетической комбинации [67]. В своей работе Е.А. Глазунов и соавт. исследовали воздействие бактериофага vB_KpnP_FZ12 на биоплёнки *K. pneumoniae* 315. Было показано, что бактериофаг способен эффективно разрушать структуру биоплёнки, кластеров, при этом значительно сокращая количество бактерий [68]. Е.М. Гордина и соавт. показали, что коммерческий препарат бактериофага был активен в отношении 36 % изолятов *K. pneumoniae*, включая 1 из 6 карбапенем-устойчивых изолятов. При совместной инкубации бактерий с фагом большинство изученных изолятов снижали биопленкообразование, но воздействие бактериофага на уже сформированные биоплёнки было менее выраженным, несмотря на снижение биомассы биопленок у 78 % изолятов *K. pneumoniae* [69]. S. Chhibber и соавт. исследовали эффект двухвалентных ионов кобальта Co^{2+} (в качестве антагониста железа) в сочетании с бактериофагом для предотвращения и разрушения биоплёнок *K. pneumoniae*. В результате наблюдалось значительное снижение численности бактерий как в молодых, так и в зрелых биоплёнках, обработанных Co^{2+} и фагом, кодирующим деполимеразу, в их комбинации. Была подтверждена роль фаговой деполимеразы, поскольку наблюдалось незначительное уничтожение биоплёнки не образующим деполимеразу бактериофагом в комбинации с ионами кобальта. Результаты подсчёта жизнеспособности были дополнительно подтверждены визуальным исследованием биоплёнок. Авторы утверждают, что обработка биоплёнок фаговыми деполимеразами в комбинациях с другими противомикробными препаратами может быть эффективной стратегией уничтожения различных бактериальных возбудителей, входящих в состав биоплёнок [70].

Пептиды являются перспективными соединениями в области борьбы с инфекциями. В своём обзоре G.H.A. de Souza и соавт. (2022) рассмотрели 1313 патентов, доступных в Espacenet, из которых только 14 были протестированы против штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к полимиксину. Авторы отметили, что все протестированные пептиды находятся на экспериментальной или доклинической стадии; клиническая стадия ещё не началась [71].

Помимо рассмотренных выше стратегий, набирает популярность изучение иммунизации организма против клебсиелл. Так, S.P.A. van der Lans и соавт. разработали метод, позволяющий идентифицировать антитела против *K. pneumoniae,* нацеленные на бактериальные поверхностные антигены, и обнаружили, что некоторые антитела могут действовать синергически [72]. По данным ВОЗ, на октябрь 2024 г., если будут разработаны и внедрены во всём мире новые вакцины против туберкулёза и *K. pneumoniae*, то ежегодно сократятся до 543 000 смертей, связанных с устойчивостью к противомикробным препаратам. Однако если вакцины против туберкулёза проходят клинические испытания, то против клебсиелл пока находятся на ранней стадии разработки. Поскольку серотипы K1 и K2 вызывают подавляющее большинство гипервирулентных инфекций, многие исследования нацелены на эти два серотипа при создании вакцин [73]. Так, например, недавно T.L. Lin и соавт. получили вакцины, конъюгированные с капсульными полисахаридами K1 и K2, которые вызвали иммунный ответ с высокими и устойчивыми титрами бактерицидных антител в эксперименте с мышами [74].

Фотодинамическая терапия (ФДТ). Механизм действия ФДТ заключается в генерации через каскад

промежуточных фотохимических реакций активных форм кислорода, главным образом синглетного кислорода, который образуется при взаимодействии молекул фотосенсибилизатора и кванта света. В свою очередь синглетный кислород, повреждая мембрану клетки и её внутренние структуры, запускает перекисное окисление липидов, что нарушает целостность мембраны и внутренних структур клетки, приводя к её гибели. ФДТ характеризуется выраженной ингибирующей активностью в отношении полирезистентных штаммов *K. pneumoniae*, что свидетельствует о перспективности её применения для лечения внутрибольничных гнойно-воспалительных процессов [75]. Целью исследования C. Liu и соавт. была оценка способности 5-аминолевулиновой кислоты (5-ALA) и её производного 5-ALA метилового эфира (MAL) в присутствии белого света вызывать фотодинамическую инактивацию планктонных клеток и биоплёнок *K. pneumoniae*. В присутствии белого света 5-ALA и MAL инактивировали планктонные клетки в зависимости от концентрации. Биоплёнки также были чувствительны к 5-аланинацетовой кислоте и MAL-опосредованной фотодинамической инактивации. Также были исследованы механизмы, с помощью которых 5-аланинацетовая кислота и MAL вызывали инактивацию у *K. pneumoniae*, продуцирующей БЛРС. Воздействие света на *K. pneumoniae* в присутствии 5-аланинацетовой кислоты или MAL вызывало расщепление геномной ДНК и быстрое высвобождение внутриклеточных биополимеров. С помощью просвечивающей электронной микроскопии также были обнаружены сильно денатурированные цитоплазматические компоненты и агрегированные рибосомы [76].

Электрический ток и ультразвук. Электрический ток способен усиливать действие некоторых противомикробных препаратов против бактерий, живущих в биоплёнках. Предполагается, что механизм антибактериальной активности электрического тока обусловлен токсичностью веществ, образующихся в результате электролиза (H_2O_2, свободных радикалов, молекул хлора), окислением ферментов и коферментов, повреждением мембраны и снижением скорости дыхания бактерий [77]. Недавно было показано, что воздействие частотой 0,8 Гц в течение одного часа повысило чувствительность *K. pneumoniae* к антибиотикам, ингибиторам образования клеточной стенки, белкам, β-лактамазе, ДНК и другим веществам. Также наблюдалось снижение биоплёнкообразования *K. pneumoniae* при воздействии сверхнизкочастотного импульсного электрического поля. Этот метод может быть использован в будущем для лечения инфекций *K. pneumoniae* [78].

Также против бактериальных биоплёнок может быть использован ультразвук. Так, например, X. Liu и соавт. наблюдали синергетический эффект в отношении *K. pneumoniae*, получавших однократное ультразвуковое воздействие (5 мин) или многократное ультразвуковое воздействие (5 мин каждые 8 ч) в сочетании с различными антибиотиками (меропенем, тигециклин, фосфомицин, амикацин и колистин). Амикацин и колистин не показали синергетического эффекта в сочетании с ультразвуком, в отличие от фосфомицина. Результаты показали, что ультразвуковое воздействие в сочетании с противомикробными препаратами оказывает синергетическое действие на биоплёнкообразующую *K. pneumoniae*. При этом многократное ультразвуковое воздействие может продлить время синергетического эффекта по сравнению с однократным [79].

Таким образом, на данный момент накоплено значительное количество исследований, посвящённых ингибированию и уничтожению биоплёнкообразующей *K. pneumoniae*. Вместе с тем большая часть используемых средств не является универсальной и становится эффективной только в комбинации с другими методами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антибиотикорезистентные и вирулентные штаммы *K. pneumoniae* регистрируются во всём мире. Исследование их вирулентности и разработка новых стратегий борьбы с данным возбудителем является одной из важнейших задач современной медицины, направленной на снижение заболеваемости и летальности от внутрибольничных и других тяжёлых инфекций.

На сегодняшний день лечение инфекций, вызванных бактериями *K. pneumoniae*, может быть затруднено по нескольким причинам. Многие штаммы *Klebsiella* приобрели мультирезистентность к антибиотикам, что делает их крайне опасными для пациентов с ослабленным иммунитетом, особенно в условиях стационара. Способность формировать биоплёнки на абиотических и биотических поверхностях является решающим признаком вирулентности *Klebsiella pneumoniae*. Данный микроорганизм может вызывать инфекции различной локализации, что требует индивидуального подхода к лечению, а биоплёнкообразование на тканях организма и медицинских устройствах (катетерах, имплантатах) существенно затрудняет лечение. Повсеместное распространение биоплёночных *K. pneumoniae* является важнейшим фактором сохранения и распространения микроорганизмов в медицинских учреждениях, существенно ограничивающих профилактические и лечебные мероприятия. Поэтому так важно знание особенностей течения биоплёночных инфекций и возможностей воздействия на биоплёнки. Традиционные антибактериальные препараты не всегда эффективны против плёнкообразующих бактерий, так как они плохо проникают внутрь биоплёночного матрикса. В связи с этим вирулентность и механизмы образования биоплёнки у *K. pneumoniae* требуют дальнейшего изучения и уточнения, что в дальнейшем позволит разрабатывать более эффективные подходы к лечению инфекций, вызванных этими бактериями. В некоторых случаях для эффективного лечения требуется использование комбинации противомикробных препаратов, что также может усложнять схему лечения и повышать риск побочных эффектов.

В завершение, на основе анализа литературных источников можно сформулировать несколько ключевых выводов:

- наблюдается рост устойчивости *K. pneumoniae* к препаратам последней линии, включая колистин, и в связи с этим *K. pneumoniae* стала предметом многочисленных исследований;
- вирулентность этой бактерии во многом связана с её капсулой, ЛПС, фимбриями, а также с выработкой карбапенемаз. Способность *K. pneumoniae* образовывать биоплёнки делает её особенно устойчивой к действию антибиотиков и иммунному ответу;
- ведутся активные исследования по выявлению факторов устойчивости *K. pneumoniae*, поскольку они необходимы для разработки более точных диагностических тестов, методов лечения, а также профилактики и мониторинга инфекций;
- использование комбинированной терапии с синергическими эффектами может расширить возможности клинического лечения, однако сложность состоит в определении оптимальных комбинаций;
- исследуются различные подходы, такие как применение наноматериалов, бактериофагов, противомикробных пептидов и фотодинамической терапии, электрического тока и ультразвука. Многие направления находятся на разных стадиях разработки и клинических испытаний, их успешное внедрение может значительно улучшить лечение инфекций, вызванных *K. pneumoniae* и другими устойчивыми бактериями.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Подопригора И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2020; 22(1): 4-19. [Chebotar IV, Bocharova YuA, Podoprigora IV, Shagin DA. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2020; 22(1): 4-19. (In Russ.)]

2. Эйдельштейн М.В., Шайдуллина Э.Р., Иванчик Н.В., Дехнич А.В., Микотина А.В., Склеенова Е.Ю., и др. Антибиотикорезистентность клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2024; 26(1): 67-78. [Edelstein MV, Shaidullina ER, Ivanchik NV, Dekhnich AV, Mikotina AV, Skleenova EYu, et al. Antimicrobial resistance of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Russian hospitals: Results of a multicenter epidemiological study. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2024; 26(1): 67-78. (In Russ.)]. doi: 10.36488/cmac.2024.1.67-78

3. Paudel S, Adhikari P, Singh KCS, Shrestha UT, Shah PK. Antibiogram and biofilm development among *Klebsiella pneumoniae* from clinical isolates. *Tribhuvan University Journal of Microbiology*. 2021; 8(1): 83-92. doi: 10.3126/tujm.v8i1.41198

4. Al-Ani I. Identification and characterization of OXA-48 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* clinical isolates in Baghdad. *Mustansiriya Medical Journal*. 2017; 16: 11-18.

5. Guo Y, Cen Z, Zou Y, Fang X, Li T, Wang J, et al. Whole-genome sequence of *Klebsiella pneumonia* strain LCT-KP214. *J Bacteriol*. 2012; 194(12): 3281. doi: 10.1128/JB.00531-12

6. Martin RM, Bachman MA. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018; 8: 4. doi: 10.3389/fcimb.2018.00004

7. Karami-Zarandi M, Rahdar HA, Esmaeili H, Ranjbar R. *Klebsiella pneumoniae*: An update on antibiotic resistance mechanisms. *Fut Microbiol*. 2023; 18(1): 65-81. doi: 10.2217/fmb-2022-0097

8. Шамина О.В., Самойлова Е.А., Новикова И.Е., Лазарева А.В. *Klebsiella pneumoniae*: микробиологическая характеристика, антибиотикорезистентность и вирулентность. *Российский педиатрический журнал*. 2020; 23(3): 191-197. [Shamina OV, Samoylova EA, Novikova IE, Lazareva AV. *Klebsiella pneumoniae*: Microbiological characterization, antimicrobial resistance, and virulence. Russian Pediatric Journal. 2020; 23(3): 191-197. (In Russ.)]. doi: 10.18821/1560-9561-2020-23-3-191-197

9. Агеевец В.А., Агеевец И.В., Сидоренко С.В. Конвергенция множественной резистентности и гипервирулентности у *Klebsiella pneumoniae*. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12(3): 450-460. [Ageevets VA, Ageevets IV, Sidorenko SV. Convergence of multiple resistance and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 22022; 12(3): 450-460. (In Russ.)]. doi: 10.15789/2220-7619-COM-1825

10. Kong Q, Beanan JM, Olson R, Macdonald U, Shon AS, Metzger DJ, et al. Biofilm formed by a hypervirulent (hypermucoviscous) variant of *Klebsiella pneumoniae* does not enhance serum resistance or survival in an *in vivo* abscess model. *Virulence*. 2012; 3(3): 309-318. doi: 10.4161/viru.20383

11. Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32(3): e00001-e00019. doi: 10.1128/cmr.00001-19

12. Liu C, Guo J. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* (hypermucoviscous and aerobactin positive) infection over 6 years in the elderly in China: Antimicrobial resistance patterns, molecular epidemiology and risk factor. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2019; 18(1): 4. doi: 10.1186/s12941-018-0302-9

13. Сергевнин В.П., Кудрявцева Л.Г., Пегушина О.Г. Частота выделения гипервирулентной *Klebsiella pneumoniae* у пациентов кардиохирургического стационара. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29(2): 114-120. [Sergevnin VI, Kudryavtseva LG, Pegyshina OG. Frequency of isolation of hypervirulent Klebsiella pneumoniae in cardiac surgical hospital patients. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2024; 29(2): 114-120, (In Russ.)]. doi: 10.51620/3034-1981-2024-29-2-114-120

14. Tutelyan AV, Shlykova DS, Voskanyan SL, Gaponov AM, Pisarev VM. Molecular epidemiology of hypervirulent *K. pneumoniae* and problems of health-care associated infections. *Bull Exp Biol Med*. 2022; 172(5): 507-522. doi: 10.1007/s10517-022-05424-3

15. Dan B, Dai H, Zhou D, Tong H, Zhu M. Relationship between drug resistance characteristics and biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* strains. *Infect Drug Resist*. 2023; 16: 985-998. doi: 10.2147/IDR.S396609

16. Ye T, Fung K, Lee I, Ko T, Lin C, Wong C, et al. *Klebsiella pneumoniae* K2 capsular polysaccharide degradation by a bacteriophage depolymerase does not require trimer formation. *mBio.* 2024; 15: e03519-23. doi: 10.1128/mbio.03519-23

17. Li Y, Ni M. Regulation of biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae*. *Front Microbiol*. 2023; 14: 1238482. doi: 10.3389/fmicb.2023.1238482

18. Li L, Gao X, Li M, Liu Y, Ma J, Wang X, et al. Relationship between biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* and updates on antibiofilm therapeutic strategies. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024; 14: 1324895. doi: 10.3389/fcimb.2024.1324895

19. Guerra MES, Destro G, Vieira B, Lima AS, Ferraz LFC, Hakansson AP, et al. *Klebsiella pneumoniae* biofilms and their role in disease pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022; 12: 877995. doi: 10.3389/fcimb.2022.877995

20. Riwu KHP, Effendi MH, Rantam FA, Khairullah AR, Widodo A. A review: Virulence factors of *Klebsiella pneumonia* as emerging infection on the food chain. *Vet World*. 2022; 15(9): 2172-2179. doi: 10.14202/vetworld.2022.2172-2179

21. Gao X, Wang H, Wu Z, Sun P, Yu W, Chen D, et al. The characteristic of biofilm formation in ESBL-producing *K. pneumoniae* isolates. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2024; 2024: 1802115. doi: 10.1155/2024/1802115

22. Clements A, Tull D, Jenney AW, Farn JL, Kim SH, Bishop RE, et al. Secondary acylation of *Klebsiella pneumoniae* lipopolysaccharide contributes to sensitivity to antibacterial peptides. *J Biol Chem*. 2007; 282(21): 15569-15577. doi: 10.1074/jbc.M701454200

23. Karampatakis T, Tsergouli K, Behzadi P. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Virulence factors, molecular epidemiology and latest updates in treatment options. *Antibiotics.* 2023; 12(2): 234. doi: 10.3390/antibiotics12020234

24. Маркелова Н.Н., Семенова Е.Ф. Возможные пути преодоления антибиотикорезистентности нозокомиальных патогенов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Stenotrophomonas maltophilia*. *Антибиотики и химиотерапия.* 2018; 63(11-12): 45-54. [Markelova NN, Semenova EF. Possible ways to overcome antibiotic resistance of nosocomial pathogens *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antibiotics and Chemotherapy.* 2018; 63(11-12): 45-54. (In Russ.)]. doi: 10.24411/0235-2990-2018-00058

25. Isler B, Aslan AT, Akova M, Harris P, Paterson DL. Treatment strategies for OXA-48-like and NDM producing *Klebsiella pneumoniae* infections. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2022; 20(11): 1389-1400. doi: 10.1080/14787210.2022.2128764

26. Скачкова Т.С., Шипулина О.Ю., Шипулин Г.А., Шеленков А.А., Янушевич Ю.Г., Михайлова Ю.В., и др. Изучение генетического разнообразия штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многопрофильном медицинском центре г. Москвы, с помощью секвенирования нового поколения. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2019; 21(1): 69-74. [Skachkova TS, Shipulina OYu, Shipulin GA, Shelenkov AA, Yanushevich YuG, Mikhaylova YuV, et al. Characterization of genetic diversity of the *Klebsiella pneumoniae* strains in a Moscow tertiary care center using next-generation sequencing. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2019; 21(1): 69-74. (In Russ.)].

27. Абатуров А.Е., Крючко Т.А. Диспергирование бактериальной биоплёнки и хронизация инфекционного процесса респираторного тракта. *Здоровье ребенка.* 2019; 14(5): 337-342. [Abaturov AE, Kryuchko TA. Dispersion of bacterial biofilm and chronization of respiratory tract infection. *Zdorov'e Rebenka.* 2019; 14(5): 337-342. (In Russ.)]. doi: 10.22141/2224-0551.14.5.2019.177411

28. Sharma D, Misba L, Khan AU. Antibiotics versus biofilm: An emerging battleground in microbial communities. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019; 16(8): 76. doi: 10.1186/s13756-019-0533-3

29. Хайтович А.Б., Мурейко Е.А. Чувство кворума микроорганизмов как фактор патогенности. *Таврический медико-биологический вестник.* 2018; 21(1): 214-220. [Khaitovich AB, Mureiko EA. Quorum sensing of microorganisms as a factor of pathogenicity. *Tavricheskiy medico-biologicheskiy vestnik.* 2018; 21(1): 214-220. (In Russ.)].

30. Karimi K, Zarei O, Sedighi P, Taheri M, Doosti-Irani A, Shokoohizadeh L. Investigation of antibiotic resistance and biofilm formation in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Microbiol*. 2021; 2021: 5573388. doi: 10.1155/2021/5573388

31. Игнатова Н.И., Александрова Н.А., Заславская М.И., Абрамычева Д.В. Влияние условий культивирования на интенсивность биоплёнкообразования штаммами *Klebsiella pneumoniae*. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2020; 65(8): 512-515. [Ignatova NI, Alexandrova NA, Zaslavskaya MI, Abramycheva DV. Evaluation of the influence of culturing on the intensity of biofilm formation by *Klebsiella pneumoniae* strains. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2020; 65(8): 512-515. (In Russ.)].

32. Singla S, Harjai K, Chhibber S. Susceptibility of different phases of biofilm of *Klebsiella pneumoniae* to three different antibiotics. *J Antibiot.* 2013; 66(2): 61-66. doi: 10.1038/ja.2012.101

33. Хрянин А.А., Кнорринг Г.Ю. Современные представления о биоплёнках микроорганизмов. *Фарматека.* 2020; 6: 34-42. [Khryanin AA, Knorring GY. Modern concepts of microbial biofilms. *Pharmateca.* 2020; 6: 34-42. (In Russ.)]. doi: 10.18565/pharmateca.2020.6.34-42

34. Guilhen C, Miquel S, Charbonnel N, Joseph L, Carrier G, Forestier C, et al. Colonization and immune modulation properties of *Klebsiella pneumoniae* biofilm-dispersed cells. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2019; 5(1): 25. doi: 10.1038/s41522-019-0098-1

35. Lathamani K, Subbannayya K. Biofilm formation and its correlation with ESBL production in *Klebsiella pneumoniae* isolated from a tertiary care hospital. *Int J Sci Res*. 2016; 5(2):1059-1062. doi: 10.21275/v5i2.nov161102

36. Gharrah MM, Mostafa El-Mahdy A, Barwa RF. Association between virulence factors and extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* compared to nonproducing isolates. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2017; 2017: 7279830. doi: 10.1155/2017/7279830

37. Sabença C, Costa E, Sousa S, Barros L, Oliveira A, Ramos S, et al. Evaluation of the ability to form biofilms in KPC-producing and ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples. *Antibiotics (Basel)*. 2023; 12(7): 1143. doi: 10.3390/antibiotics12071143

38. Wen Z, Chen Y, Liu T, Han J, Jiang Y, Zhang K. Predicting antibiotic tolerance in hvKp and cKp respiratory infections through biofilm formation analysis and its resistance implications. *Infect Drug Res*. 2024; 17: 1529-1537. doi: 10.2147/IDR.S449712

39. Latha R, Aravind S, Kavitha K, Thiyagarajan S, Pramodhini S, Aboobacker PA. Unraveling hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*

(hvKp): Leveraging the Maga gene as a biomarker for strong biofilm forming hvKp. *Research Sq*. 2024. doi: 10.21203/rs.3.rs-4190645/v1

40. Немченко У.М., Кунгурцева Е.А., Савелькаева М.В., Григорова Е.В., Иванова Е.И., Туник Т.В., и др. Микробиоценоз толстого кишечника и способность к биоплёнкообразованию штаммов *Klebsiella* spp. у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020; 4(176): 59-64. [Nemchenko UM, Kungurtseva EA, Savelkaeva MV, Grigorova EV, Ivanova EI, Tunik TV, et al. Microbiocenosis of colon and ability to biofilm formation of strains *Klebsiella* spp. In children with functional gastrointestinal disorders. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2020; 4(176): 59-64. (In Russ.)].

41. Pawar PS, Pawar SK, Patil SR, Patil HV, Mane PM. Comparative study of biofilm and non-biofilm producing *Klebsiella pneumoniae* with special reference to metallo-beta-lactamase production. *J Pure Appl Microbiol.* 2024; 18(2): 1025-1031. doi: 10.22207/JPAM.18.2.17

42. Shastry RP, Bajire SK, Banerjee S, Shastry KP, Hameed A. Association between biofilm formation and extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolated from fresh fruits and vegetables. *Curr Microbiol.* 2024; 81(7): 206. doi: 10.1007/s00284-024-03723-8

43. El Naggar NM, Shawky RM, Serry FME, Emara M. Investigating the relationship between carbapenemase production and biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *BMC Res Notes.* 2024; 17(1): 49. doi: 10.1186/s13104-024-06708-9

44. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*. 2018; 9(1): 522-554. doi: 10.1080/21505594.2017.1313372

45. Penesyan A, Paulsen IT, Gillings MR, Kjelleberg S, Manefield MJ. Secondary effects of antibiotics on microbial biofilms. *Front Microbiol*. 2020; 11: 2109. doi: 10.3389/fmicb.2020.02109

46. Mah TF. Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future Microbiol*. 2012; 7(9): 1061-1072. doi: 10.2217/fmb.12.76

47. Ермоленко З.М., Слукин П.В., Фурсова Н.К. Биоплёнки микроорганизмов в урологии: клиническая значимость и контроль связанных с ними инфекций. *Бактериология*. 2021; 6(2): 47-61. [Ermolenko ZM, Slukin PV, Fursova NK. Microbial biofilms in urology: Clinical significance and control of associated infections. *Bacteriology*. 2021; 6(2): 47-61. (In Russ.)]. doi: 10.20953/2500-1027-2021-2-47-61

48. Ribeiro SM, Cardoso MH, Cândido Ede S, Franco OL. Understanding, preventing and eradicating *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Future Microbiol*. 2016; 11(4): 527-538. doi: 10.2217/fmb.16.7

49. Смольянинова Д.С., Батищева Г.А., Габбасова Н.В., Гончарова Н.Ю. Структура антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae* у пациентов с мочекаменной болезнью. *Современные проблемы науки и образования*. 2022; 21(S2): 109-109. [Smolyaninova DS, Batishcheva GA, Gabbasova NV, Goncharova NYu. Structure of antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains in patients with urolithiasis. *Modern Problems of Science and Education.* 2022; 21(S2): 109-109. (In Russ.)].

50. Prajapati JD, Kleinekathöfer U, Winterhalter M. How to enter a bacterium: Bacterial porins and the permeation of antibiotics. *Chem Rev*. 2021; 121(9): 5158-5192. doi: 10.1021/acs.chemrev.0c01213

51. Тапальский Д.В., Петровская Т.А. Бактерицидная активность комбинаций антибиотиков в отношении экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* с устойчивостью к колистину. *Медицинские новости*. 2020; 2(305): 63-66. [Tapalski DV, Petrovskaya TA. Bactericidal activity of antibiotic combinations against extensively drug resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* with resistance to colistin. *Meditsinskie novosti.* 2020; 2(305): 63-66. (In Russ.)].

52. Bayatinejad G, Salehi M, Beigverdi R, Halimi S, Emaneini M, Jabalameli F. *In vitro* antibiotic combinations of colistin, meropenem, amikacin, and amoxicillin/clavulanate against multidrug-resistant *Klebsiella pneumonia* isolated from patients with ventilator-associated pneumonia. *BMC Microbiol.* 2023; 23(1): 298. doi: 10.1186/s12866-023-03039-w

53. Anderl JN, Franklin MJ, Stewart PS. Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiella pneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44(7): 1818-1824. doi: 10.1128/AAC.44.7.1818-1824.2000

54. Moshynets OV, Baranovskyi TP, Cameron S, Iungin OS, Pokholenko I, Jerdan R, et al. Azithromycin possesses biofilm-inhibitory activity and potentiates non-bactericidal colistin methanesulfonate (CMS) and polymyxin B against *Klebsiella pneumonia*. *PLoS One.* 2022; 17(7): e0270983. doi: 10.1371/journal.pone.0270983

55. Cadavid E, Echeverri F. The search for natural inhibitors of biofilm formation and the activity of the autoinductor C6-AHL in *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13884. *Biomolecules*. 2019; 9(2): 49. doi: 10.3390/biom9020049

56. Bisso Ndezo B, Tokam Kuaté CR, Dzoyem JP. Synergistic antibiofilm efficacy of thymol and piperine in combination with three aminoglycoside antibiotics against *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2021; 2021: 7029944. doi: 10.1155/2021/7029944

57. Шапошников Л.А., Тишков В.И., Пометун А.А. Лактобактерии и клебсиеллы: две противоположности в борьбе за здоровье организма. *Успехи биологической химии*. 2024; 64: 143-178. [Shaposhnikov LA, Tishkov VI, Pometun AA. *Lactobacilli* and *Klebsiella*: Two opposites in the fight for the health of the body. *Uspekhi Biologicheskoi Khimii.* 2024; 64: 143-178. (In Russ.)].

58. Singh AK, Yadav S, Chauhan BS, Nandy N, Singh R, Neogi K, et al. Classification of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* based on their *in vitro* biofilm forming capabilities and elucidation of the biofilm matrix chemistry with special reference to the protein content. *Front Microbiol.* 2019; 10: 669. doi: 10.3389/fmicb

59. Nguyen HK, Duke MM, Grayton QE, Broberg CA, Schoenfisch MH. Impact of nitric oxide donors on capsule, biofilm, and resistance profiles of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents*. 2024; 107339. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2024.107339

60. Арнаудова К.Ш., Астафьева О.В., Жаркова З.В., Якимец М.В. Новые технологии в борьбе с бактериальными биоплёнками. *Новые импульсы развития: вопросы научных исследований*. 2020; (6-2): 136-138. [Arnaudova KSh, Astafieva OV, Zharkova ZV, Yakimets MV. Influence of bacteriophages on functioning of bacterial biofilms. *New Impulses of Development: Issues of Scientific Research*. 2020; (6-2): 136-138. (In Russ.)].

61. Chhibber S, Gondil VS, Sharma S, Kumar M, Wangoo N, Sharma RK. A novel approach for combating *Klebsiella pneumoniae* biofilm using histidine functionalized silver nanoparticles. *Front Microbiol.* 2017; 8: 1104. doi: 10.3389/fmicb.2017.01104

62. Sharma RP, Raut SD, Jadhav VV, Mulani RM, Kadam AS, Mane RS. Assessment of antibacterial and anti-biofilm effects of zinc ferrite nanoparticles against *Klebsiella pneumoniae*. *Folia*

Microbiol (Praha). 2022; 67(5): 747-755. doi: 10.1007/s12223-022-00969-2

63. Hasanova UA, Ramazanov MA, Maharramov AM, Eyvazova QM, Agamaliyev ZA, Parfyonova YV, et al. Nano-coupling of cephalosporin antibiotics with Fe_3O_4 nanoparticles: Trojan horse approach in antimicrobial chemotherapy of infections caused by *Klebsiella* spp. *J Biomater Nanobiotechnol*. 2015; 6: 225-235. doi: 10.4236/jbnb.2015.63021

64. Khaleel DS, Mutter TY, Huang X. Potential mechanism of gallic acid-coated iron oxide nanoparticles against associated genes of *Klebsiella pneumoniae* capsule, antibacterial and antibiofilm. *Microsc Res Tech*. 2024; 87(11): 2774-2784. doi: 10.1002/jemt.24650

65. Shkodenko L, Kassirov I, Koshel E. Metal oxide nanoparticles against bacterial biofilms: Perspectives and limitations. *Microorganisms*. 2020; 8(10): 1545. doi: 10.3390/microorganisms8101545

66. Gholizadeh O, Ghaleh HEG, Tat M, Ranjbar R, Dorostkar R. The potential use of bacteriophages as antibacterial agents against *Klebsiella pneumoniae*. *Virol J*. 2024; 21(1): 191. doi: 10.1186/s12985-024-02450-7

67. Chegini Z, Khoshbayan A, Taati Moghadam M, Farahani I, Jazireian P, Shariati A. Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: A review. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2020; 19(1): 45. doi: 10.1186/s12941-020-00389-5

68. Глазунов Е.А., Зурабов Ф.М., Павлова И.Б., Толмачева Г.С. Воздействие вирулентных бактериофагов на биоплёнки *Klebsiella pneumoniae*. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2020; 1(4): 480-485. [Glazunov EA, Zurabov FM, Pavlova IB, Tolmacheva GS. Effects of the virulent bacteriophages on *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2020; 1(4): 480-485. (In Russ.)]. doi: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202004012

69. Гордина Е.М., Божкова С.А., Смирнова Л.Н. Антибактериальное и антибиопленочное действия бактериофагов в отношении *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023; (1): 59-63. [Gordina EM, Bozhkova SA, Smirnova LN. Anti-bacterial and anti-biofilm activity of bacteriophages against *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from orthopedic patients. *Pacific Medical Journal*. 2023; (1): 59-63. (In Russ.)]. doi: 10.34215/1609-1175-2023-1-59-63

70. Chhibber S, Nag D, Bansal S. Inhibiting biofilm formation by *Klebsiella pneumoniae* B5055 using an iron antagonizing molecule and a bacteriophage. *BMC Microbiol.* 2013; 13: 174. doi: 10.1186/1471-2180-13-174

71. de Souza GHA, Rossato L, de Oliveira AR, Simionatto S. Antimicrobial peptides against polymyxin-resistant *Klebsiella pneumoniae*: A patent review. *World J Microbiol Biotechnol*. 2023; 39(3): 86. doi: 10.1007/s11274-023-03530-6

72. van der Lans SPA, Bardoel BW, Ruyken M, de Haas CJC, Baijens S, Muts RM, et al. Agnostic B cell selection approach identifies antibodies against *K. pneumoniae* that synergistically drive complement activation. *Nat Commun.* 2024; 5(1): 8100. doi: 10.1038/s41467-024-52372-9

73. Feldman MF, Mayer Bridwell AE, Scott NE, Vinogradov E, McKee SR, Chavez SM, et al. A promising bioconjugate vaccine against hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019; 116(37): 18655-18663. doi: 10.1073/pnas.1907833116

74. Lin TL, Yang FL, Ren CT, Pan YJ, Liao KS, Tu IF, et al. Development of *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide conjugated vaccine candidates using phage depolymerases. *Front Immunol*. 2022; 13: 843183. doi: 10.3389/fimmu.2022.843183

75. Логунова Е.В., Наседкин А.Н. Современный взгляд на антимикробную фотодинамическую терапию (обзор литературы). *Лазерная медицина*. 2015; 19(2): 44-52. [Logunova EV, Nasedkin AN. Modern view on antimicrobial photodynamic therapy (review of literature). *Laser Medicine*. 2015; 19(2): 44-52. (In Russ.)].

76. Liu C, Zhou Y, Wang L, Han L, Lei J, Ishaq HM, et al. Photodynamic inactivation of *Klebsiella pneumoniae* biofilms and planktonic cells by 5-aminolevulinic acid and 5-aminolevulinic acid methyl ester. *Lasers Med Sci*. 2016; 31(3): 557-565. doi: 10.1007/s10103-016-1891-1

77. Del Pozo JL, Rouse MS, Patel R. Bioelectric effect and bacterial biofilms. A systematic review. *Int J Artif Organs*. 2008; 31(9): 786-795. doi: 10.1177/039139880803100906

78. Mohamed DH, Mohammed H, El-Gebaly RH, Adam M, Ali FM. Pulsed electric field at resonance frequency combat *Klebsiella pneumonia* biofilms. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2024; 108(1): 505. doi: 10.1007/s00253-024-13330-z

79. Liu X, Wang J, Weng CX, Wang R, Cai Y. Low-frequency ultrasound enhances bactericidal activity of antimicrobial agents against *Klebsiella pneumoniae* biofilm. *Biomed Res Int*. 2020; 2020: 5916260. doi: 10.1155/2020/5916260

Сведения об авторах

Фадеева Татьяна Владимировна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: fadeeva05@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4681-905X

Невежина Анна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: n4nnna@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1551-5440

Information about the authors

Tatiana V. Fadeeva – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: fadeeva05@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4681-905X

Anna V. Nevezhina – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: n4nnna@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1551-5440

ОБНАРУЖЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕГМЕНТИРОВАННОГО ФЛАВИПОДОБНОГО ВИРУСА ЯНГГОУ В КЛЕЩАХ *DERMACENTOR NUTTALLI* OL. (1929) НА ТЕРРИТОРИИ БУРЯТИИ

Карташов М.Ю. [1],
Ханхареев С.С. [2],
Кривошеина Е.И. [1],
Свирин К.А. [1],
Курушина В.Ю. [1],
Терновой В.А. [1]

[1] ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (630559, Новосибирская обл., п. Кольцово, Россия)
[2] Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Бурятия (670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 45Б, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Карташов Михаил Юрьевич,
e-mail: mikkartash@yandex.ru

Статья поступила: 25.06.2024
Статья принята: 09.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

РЕЗЮМЕ

Неблагополучная эпидемиологическая ситуация с трансмиссивными инфекциями, переносимыми клещами, может характеризоваться не только ростом встречаемости уже известных заболеваний, но и выявлением новых нозологических форм и возбудителей, роль которых пока остаётся малоизученной. Примером таких возбудителей является вирус Янггоу (YGTV, Yanggou tick virus), относящийся к группе сегментированных флавиподобных вирусов.

Цель исследования. *Поиск и молекулярно-генетическая характеристика генетических вариантов YGTV, обнаруженных в клещах Dermacentor nuttalli Ol. (1929) на территории Республики Бурятия.*

Материалы и методы. *В исследовании проанализировано 350 индивидуальных образцов имаго клещей вида D. nuttalli, собранных в весенне-летний период 2023 г. на территории пяти районов Республики Бурятия. Выявление РНК YGTV выполняли с помощью метода полимеразной цепной реакции с последующим определением нуклеотидной последовательности и проведением филогенетического анализа для каждого из 4 сегментов генома.*

Результаты. *В пробе клеща D. nuttalli, отловленного на территории Иволгинского района Республики Бурятия, была обнаружена РНК YGTV, что в дальнейшем было подтверждено секвенированием полученного фрагмента генома. Встречаемость РНК YGTV среди исследуемых клещей D. nuttalli в Бурятии составила 0,3 % (95%-й доверительный интервал: 0,1–1,6). Были разработаны праймеры, позволяющие получить фрагменты всех четырёх сегментов генома YGTV. Выявленный генетический вариант YGTV при проведении филогенетического анализа по всем четырём сегментам отчётливо группируется с последовательностями YGTV, обнаруженными ранее в Китае и России (Республика Горный Алтай и Тыва). Наибольшую степень идентичности выявленный вариант показывает с прототипом Erzin14-T20074.*

Заключение. *В исследовании впервые показано наличие YGTV на территории Республики Бурятия, что актуализирует необходимость мониторинга циркуляции этого вируса в природных очагах инфекций, переносимых клещами на этой территории, а также дальнейшего уточнения границ распространения флавиподобных вирусов, потенциально опасных для человека.*

Ключевые слова: *многокомпонентные флавиподобные вирусы, вирус Янггоу, YGTV, иксодовые клещи, Бурятия*

Для цитирования: Карташов М.Ю., Ханхареев С.С., Кривошеина Е.И., Свирин К.А., Курушина В.Ю., Терновой В.А. Обнаружение и молекулярно-генетическая характеристика сегментированного флавиподобного вируса Янггоу в клещах *Dermacentor nuttalli* Ol. (1929) на территории Бурятии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 76-84. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.8

DETECTION AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERIZATION OF SEGMENTED FLAVI-LIKE YANGGOU VIRUS IN *DERMACENTOR NUTTALLI* OL. (1929) TICKS IN BURYATIA

Kartashov M.Yu. [1],
Khankhareev S.S. [2],
Krivosheina E.I. [1],
Svirin K.A. [1],
Kurushina V.Yu. [1],
Ternovoi V.A. [1]

[1] State Scientific Center for Virology and Biotechnology of Rospotrebnadzor "Vector" (Koltsovo, Novosibirsk region 630559, Russian Federation)
[2] Directorate of the Federal Service for Supervision of Consumers Protection and Welfare in the Republic of Buryatia (Klyuchevkaya str. 45B, Ulan-Ude 670013, Russian Federation)

Corresponding author:
Mikhail Yu. Kartashov,
e-mail: mikkartash@yandex.ru

ABSTRACT

The unfavorable epidemiological situation with tick-borne vector-borne infections may be characterized not only by an increase in the occurrence of already known diseases, but also by the identification of new infections and pathogens, the role of which remains poorly understood. An example of such pathogens is Yanggou tick virus (YGTV), which belongs to the group of segmented flavi-like viruses.

The aim. *To detect and molecular genetic characterization of YGTV found in Dermacentor nuttalli Ol. (1929) ticks on the territory of the Republic of Buryatia.*

Materials and methods. *The study analyzed 350 individual samples of adult ticks of D. nuttalli species collected in the spring-summer period of 2023 on the territory of five districts of the Republic of Buryatia. The detection of YGTV RNA was performed by PCR followed by nucleotide sequence determination and phylogenetic analysis for each of the 4 genome segments.*

Results. *In one sample of the tick D. nuttalli, collected in the Ivolginsky district of the Republic of Buryatia, YGTV RNA was detected, which was further confirmed by sequencing of the obtained genome fragment. The incidence of YGTV RNA among the studied D. nuttalli ticks in Buryatia was 0.3 % (95 % CI: 0.1–1.6). Primers were designed to obtain fragments of all four segments of the YGTV genome. The identified genetic variant of YGTV, when analyzed phylogenetically across all four segments, clearly clusters with YGTV sequences found earlier in China and Russia (the Republic of Altai and Tyva). The detected variant shows the highest sequence identity with the prototype strain Erzin14-T20074.*

Conclusion. *The study shows for the first time the presence of YGTV in the territory of the Republic of Buryatia, which actualizes the need to monitor the circulation of this virus in natural foci of tick-borne infections in this territory, as well as to further clarify the boundaries of the spread of flavi-like viruses potentially dangerous for humans.*

Key words: *multicomponent flavi-like viruses, Yanggou tick virus, YGTV, ixodid ticks, Republic of Buryatia*

Received: 25.06.2024
Accepted: 09.12.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Kartashov M.Yu., Khankhareev S.S., Krivosheina E.I., Svirin K.A., Kurushina V.Yu., Ternovoi V.A. Detection and molecular genetic characterization of segmented flavi-like Yanggou virus in *Dermacentor nuttalli* Ol. (1929) ticks in Buryatia. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 76-84. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.8

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции, передающиеся клещами (ИПК), на территории Республики Бурятия имеют важное медицинское значение и характеризуются неблагополучной эпидемиологической ситуацией в течение последних десятилетий. Об этом свидетельствует повсеместное увеличение численности иксодовых клещей и расширение ареала их распространения, а также рост фиксируемых случаев обращений за медицинской помощью по поводу присасывания клещей и показателей заболеваемости ИПК, значительно превышающих общероссийские [1, 2]. В эпидемический сезон 2022 г. в медицинские организации Республики Бурятия по поводу укуса клеща обратились 4349 человек, показатель обращаемости при этом составил 454,2 на 100 тыс. населения при среднем по России 343,3 на 100 тыс. населения. Наползания и укусы иксодовых клещей регистрируются во всех районах Республики и в г. Улан-Удэ. К возбудителям ИПК в Восточной Сибири и Монголии относится широкий спектр патогенов вирусной и бактериальной природы: вирус клещевого энцефалита, боррелии, риккетсии, анаплазмы и эрлихии. Наличие природных очагов ИПК в Восточной Сибири обеспечивается наличием разнообразных возбудителей, переносчиков и их прокормителей. Территория Республики Бурятия характеризуется богатым разнообразием природных биотопов: лесотундровые редколесья на севере сменяются степными ландшафтами на юге. Таёжные, лесные, лесостепные и степные ландшафты, представленные на территории Бурятии, являются местами обитания иксодовых клещей. На территории Республики зарегистрированы как минимум четыре вида иксодовых клещей, являющихся переносчиками возбудителей трансмиссивных инфекций: *Ixodes persulcatus* P. Sch. (1930), *Dermacentor nuttalli* Ol. (1929), *Dermacentor silvarum* Ol. (1931) и *Haemaphysalis concinna* Koch. (1844) [3, 4]. Клещи вида *D. nuttalli* имеют широкое распространение в степной и лесостепной части Прибайкалья. Наиболее часто клещи данного вида встречаются в открытых степях с бедной кустарниковой растительностью, а также обнаруживаются на участках, граничащих с различными пастбищными угодьями или местами прогона скота, около водопоев, по обочинам дорог и тропинок. К основным прокормителям личинок и нимф *D. nuttalli* относятся узкочерепная полёвка, длиннохвостый суслик, даурский хомячок; половозрелые особи *D. nuttalli* в Предбайкалье прокармливаются почти исключительно на домашних животных [3].

Следует отметить, что напряжённая эпидемиологическая ситуация по ИПК может определяться не только ростом встречаемости уже известных нозологических форм, но и обнаружением новых возбудителей и вызываемых ими инфекций, роль которых в региональной инфекционной патологии остаётся мало- или вообще неизученной [5, 6]. Так, благодаря использованию методов высокопроизводительного секвенирования, выявлены и охарактеризованы сегментированные флавиподобные вирусы, отличающиеся от уже известных флавивирусов принципиально другим строением генома и представляющие обособленную группу в семействе *Flaviviridae* [7]. Данные вирусы имеют сегментированный одноцепочечный РНК-геном положительной полярности, в структуре которого прослеживается гомология с РНК-зависимой РНК-полимеразой (NS5) и хеликазой (NS3) «классических» флавивирусов [8].

Геномы многокомпонентных флавиподобных вирусов, обнаруженных в иксодовых клещах, состоят из 4 сегментов. Сегмент 1 и сегмент 3 кодируют неструктурные белки NS5-like и NS3-like соответственно. В сегментах 2 и 4 закодированы структурные белки, не имеющие известных гомологов как среди семейства *Flaviviridae*, так и среди других известных на сегодняшний день вирусов. Такие вирусы образуют группу Джингмен, названную по первому открытому представителю и включающую на сегодняшний день, помимо вируса Джингмен (Jingmen tick virus), целый ряд недавно открытых вирусов: вирус Алонгшан (ALSV, Alongshan virus), вирус Янггоу (Yanggou tick virus), вирус Могиана (Mogiana tick virus), вирус Сычуань (Sichuan tick virus) и др. Анализ литературы показывает, что для флавиподобных вирусов группы Джингмен характерно широкое распространение, и их представители обнаруживаются в различных регионах Африки, Евразии, Северной и Южной Америки [9–11]. Сегментированные флавиподобные вирусы распространены и на территории Российской Федерации, где они обнаруживаются в образцах голодных клещей видов *I. persulcatus, I. ricinus, D. reticulatus* и *D. nuttalli*, собранных в Калининградской, Ульяновской, Челябинской областях, а также в Республиках Карелия, Татарстан, Горный Алтай и Тыва [12–15]. Также выявлена достаточно большая встречаемость вируса Алонгшан на территории Восточной Сибири в клещах *I. persulcatus* (Республики Хакасия и Тыва, Иркутская область, Забайкальский край) [16].

YGTV был впервые обнаружен в клещах *D. nuttalli* в Китае и характеризуется большой гомологией с ранее открытым ALSV. На территории России YGTV был обнаружен на территории Республик Горный Алтай и Тыва в клещах *D. nuttalli* и *D. marginatus* [15].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поиск сегментированного флавиподобного вируса Янггоу (YGTV) в клещах *D. nuttalli*, обитающих на территории Республики Бурятия, с последующей молекулярно-генетической характеристикой выявленных генетических вариантов YGTV.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании проведён анализ 350 индивидуальных образцов имаго клещей вида *D. nuttalli*, собранных в весенне-летний период 2023 г. на территории пяти районов Республики Бурятия (рис. 1).

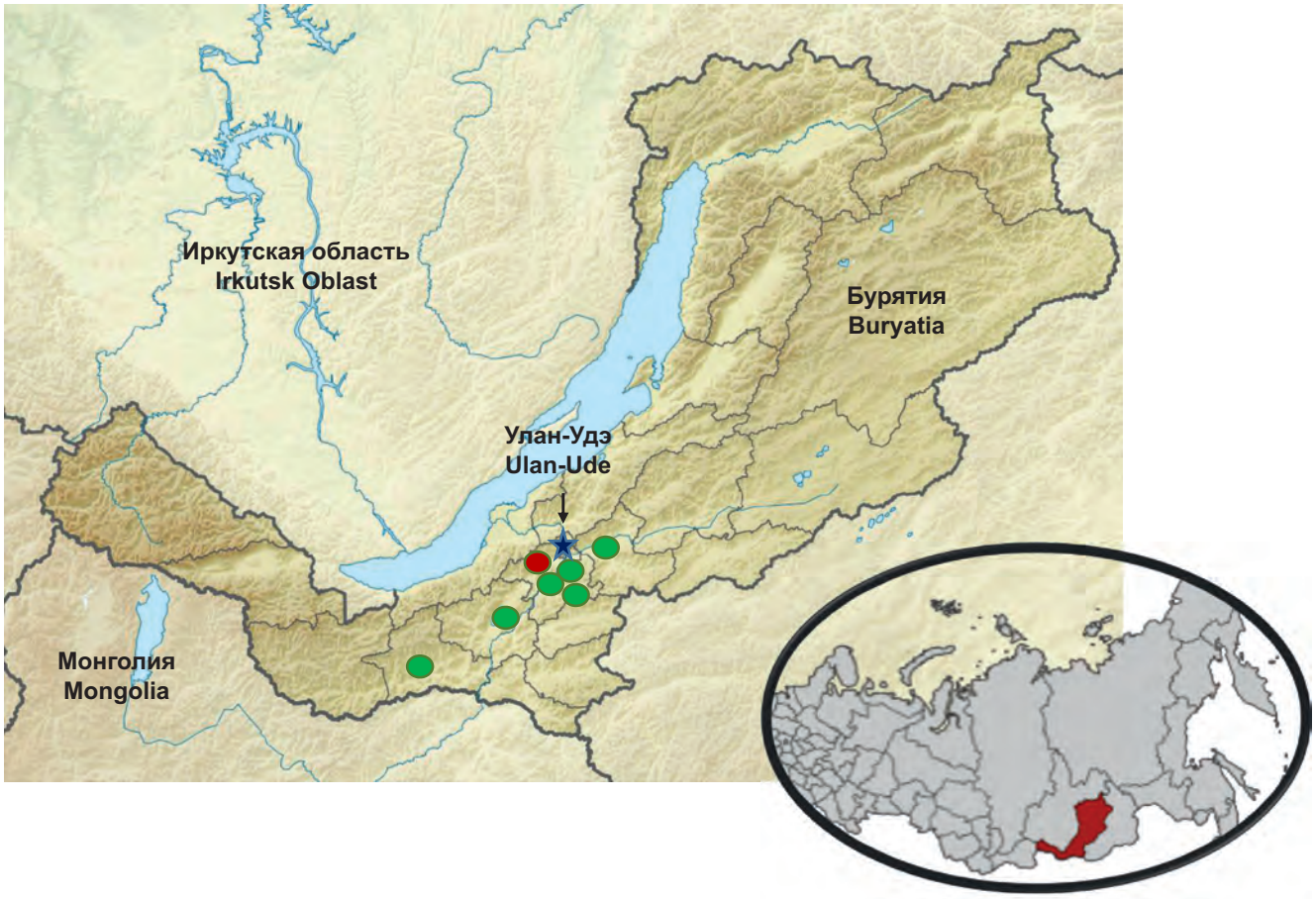


РИС. 1.
Места сбора клещей

FIG. 1.
Locations of tick collection sites

Сбор голодных клещей проводился путём отлова на тканевый флаг с растительности. До начала исследования клещи хранились при –70 °С индивидуально. Исследования проводили с соблюдением правил биобезопасности, регламентированных в МУ 1.3.2569-09 и СанПиН 3.3686-21.

Клещей отмывали 70%-м этанолом для удаления внешних загрязнений и наружной микрофлоры. Гомогенизацию клещей осуществляли с использованием лабораторного гомогенизатора Tissue Lyser (Qiagen, Германия) в 300 мкл стерильного физраствора. Выделение РНК из исследуемых проб клещей проводили методом фенол-хлороформной экстракции с использованием коммерческого набора (Биолабмикс, Россия) согласно инструкции производителя. Для получения вирусной кДНК использовали набор реагентов «Реверта-L-100» (ФБУН Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Скрининг полученных образцов на наличие генетического материала YGTV проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя скрининговые праймеры Yanggou_gly_1F и Yanggou_gly_1R, комплементарные фрагменту генома сегмента 2 (табл. 1). Постановка ПЦР проводилась на термоциклере T-1000 (Bio-Rad, США) в 25 мкл реакционной смеси БиоМастер HS-Taq ПЦР (Биолабмикс, Россия). Анализ продуктов амплификации выполняли посредством разделения фрагментов ДНК в 2%-м агарозном геле в трис-ацетатном буфере, содержащем 0,1 % бромистого этидия. Очистку ампликонов из агарозного геля проводили с использованием набора на основе микроколонок (Биосилика, Россия) согласно инструкции производителя.

Амплифицированные фрагменты генома секвенировали по Сэнгеру на генетическом анализаторе 3500 (Applied Biosystems, США). Постановку реакции секвенирования проводили с помощью набора реагентов для циклического секвенирования Big Dye Terminator Kit v. 3.1 (Thermo Fisher Scientific, США). Построение филогенетических деревьев выполняли в программе MEGA 11 [17] методом максимального правдоподобия и эволюционной модели Тамуры – Нея (TN93) с использованием референсных последовательностей различных сегментированных флавиподобных вирусов, депонированных в базе данных GenBank. Статистическую значимость топологии филогенетических деревьев оценивали методом Bootstrap-анализа, вычисления проводили для 1000 псевдовыборок.

ТАБЛИЦА 1

ПЕРЕЧЕНЬ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРАЙМЕРОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ДАННОЙ РАБОТЕ

TABLE 1

OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS USED IN THIS STUDY

Сегмент	Праймер	Структура праймера	Ожидаемая длина ампликонов (п.н.)	Температура отжига (°C)	Ссылка
2	Yanggou_gly_1F	ACTACTGGTTGCCGTCCTCG	305	52	[15]
	Yanggou_gly_1R	GTCGCTGCAGTCAAATATCT			
1	YG1_2F	AGATGAAGATAAACAGACCACCAC	900	60	Данное исследование
	YG1_2R	TGAATCTCGCCCTCTATCTC			
2	YG2_2F	AGATGCGGGAACAGATATTTGAC	895	60	
	YG2_2R	GCCAAACCAGTTATACAACCA			
3	YG3_2F	GACAGAAGGTACGATCCGAG	1089	60	
	YG3_2R	ATTCGCTTATCGAGGTGGTG			
4	YG4_2F	CATCCGAAGAATGTCCCTCC	885	60	
	YG4_2R	CCAGTGATGCCACCAGATAGAG			

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все образцы были проанализированы методом ПЦР с использованием скрининговых праймеров для сегмента 2 генома YGTV (табл. 2). В пробе клеща *D. nuttalli*, отловленного на территории Иволгинского района Республики Бурятия вблизи села Ключи (51.687606 с.ш., 107.173963 в.д.), была обнаружена РНК YGTV, что в дальнейшем было подтверждено секвенированием полученного фрагмента генома. Встречаемость РНК YGTV среди исследуемых клещей *D. nuttalli* в Бурятии составила 0,3 % (95%-й доверительный интервал: 0,1–1,6).

На втором этапе работы были определены нуклеотидные последовательности фрагментов каждого из четырёх сегментов генома выявленного изолята YGTV. Дизайн праймеров, необходимых для проведения ПЦР, осуществляли при помощи программы PerlPrimer v. 1.1.21 [18], используя вырожденную консенсусную нуклеотидную последовательность, полученную при множественном выравнивании известных на сегодняшний день последовательностей генома изолятов YGTV, доступных в базе данных GenBank. При конструировании олигонуклеотидных праймеров учитывались следующие требования: отсутствие протяжённых участков повторяющихся нуклеотидов; отсутствие комплементарных последовательностей длиной более трёх оснований внутри олигонуклеотидов; высокое содержание GC-оснований (не менее 50 %). При выборе оптимальных параметров проведения ПЦР была проведена серия экспери-

ТАБЛИЦА 2

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ YGTV В ИССЛЕДУЕМЫХ ПРОБАХ КЛЕЩЕЙ, СОБРАННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИИ

TABLE 2

DETECTION RATES OF YGTV IN THE STUDIED TICKS COLLECTED IN THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BURYATIA

Географический регион	Географические координаты	Количество исследуемых проб (*N*)	Количество положительных проб (*n*)
Джидинский район, с. Гэгэтуй	50.683752, 105.181199	50	0
Тарбагатайский район, с. Саратовка	51.537704, 107.346951	50	0
Тарбагатайский район, гора Спящий лев	51.537704, 107346951	50	0
Тарбагатайский район, окрестности с. Саянтуй	51,694972, 107.448139	50	0
Иволгинский район, окрестности с. Ключи	51.687606, 107.173963	50	1
Селенгинский район, окрестности г. Гусиноозерск	50.632847, 105.382886	50	0
Заиграевский район, окрестности с. Эрхирик	51.898049, 108.006255	50	0
Всего		350	1

ментов, в которых температуру гибридизации праймеров варьировали в диапазоне 56–62 °С (рис. 2). В итоге для наработки фрагментов генома выявленного варианта YGTV была использована температура отжига 62 °С.

Выявленные в работе нуклеотидные последовательности были депонированы в базу данных GenBank под номером PP358242 для фрагмента сегмента 1, PP358243 – для фрагмента сегмента 2, PP358244 –

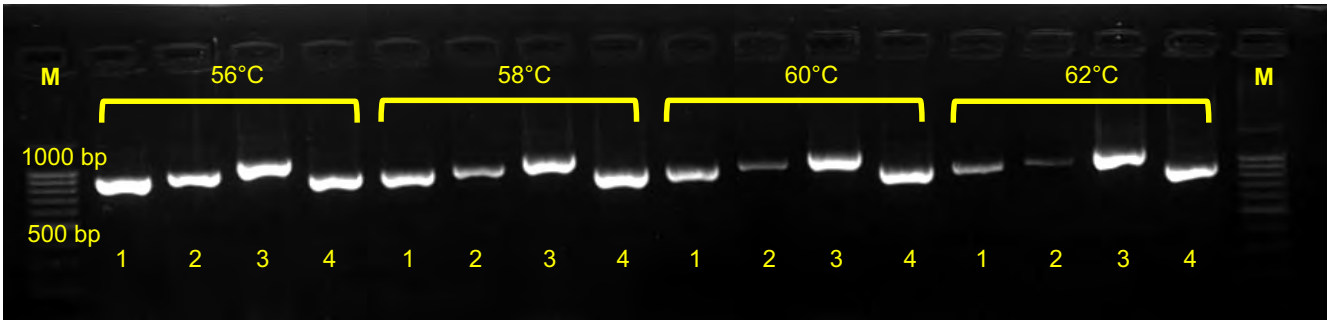


РИС. 2.
Оптимизация работы праймеров, необходимых для амплификации и определения нуклеотидных последовательностей фрагментов всех четырех сегментов генома YGTV

FIG. 2.
Optimization of the designed primers required for amplification and determination of nucleotide sequences of fragments of all four segments of the YGTV genome

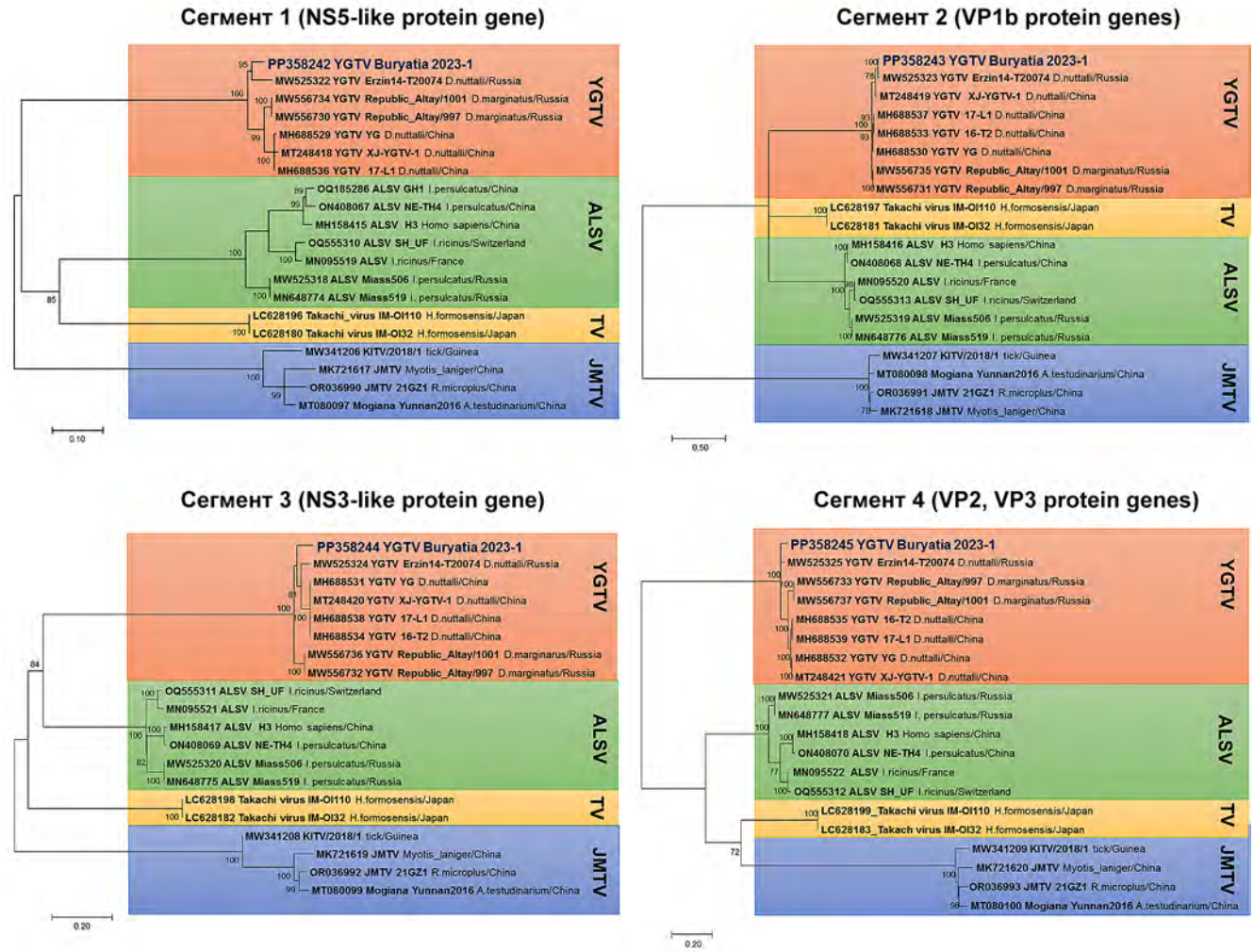


РИС. 3.
Филогенетические деревья выявленного варианта YGTV: длина и локализация анализируемых фрагментов для сегмента 1 – 698 п. н., для сегмента 2 – 796 п. н., для сегмента 3 – 1015 п. н., для сегмента 4 – 822 п. н.; используется эволюционная модель Тамуры – Нея (TN93)

FIG. 3.
Phylogenetic trees of the identified YGTV isolate: length of analyzed fragments for segment 1 – 698 bp, for segment 2 – 796 bp, for segment 3 – 1015 bp, for segment 4 – 822 bp; Tamura – Nei (TN93) evolutionary model is used

для фрагмента сегмента 3, PP358245 – для фрагмента сегмента 4.

Филогенетические деревья демонстрируют, что генетический вариант YGTV, циркулирующий в клещах *D. nuttalli* в Бурятии, по всем четырём сегментам отчётливо группируется с последовательностями YGTV, обнаруженными ранее в Китае и России (Республики Горный Алтай и Тыва) (рис. 3). Наибольшую степень идентичности выявленный вариант показывает с прототипом Erzin14-T20074, обнаруженным в клеще *D. nuttalli* в соседствующей с Бурятией Республике Тыва (идентичность при сравнении нуклеотидных последовательностей варьирует от 92,7 до 97,4 % для разных сегментов; идентичность выведенных аминокислотных последовательностей составляет более 99 %) (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты филогенетического анализа демонстрируют, что генетические варианты YGTV образуют две субклады в зависимости от вида клеща, в котором они были обнаружены (*D. nuttalli* или *D. marginatus*). Аналогичная ситуация характерна и для близкородственного вируса Алонгшан, изоляты которого разделяются в соответствии с основным видом переносчика группы *I. ricinus* и *I. persulcatus* [15, 16].

Для вирусов, обладающих сегментированным геномом, можно предположить события перегруппировки/рекомбинации, вносящие значительный вклад в их генетическое разнообразие. Однако топология филогенетических деревьев, построенных для фрагментов всех четырёх сегментов у выявленного изолята YGTV и прототипных вариантов практически полностью совпадает. Можно предположить, что геном YGTV достаточно стабилен как среди позвоночных, так и среди беспозвоночных, что позволяет вирусу быть хорошо адаптированным к обоим видам хозяев.

Ряд исследований демонстрируют потенциальную патогенность изучаемых флавиподобных вирусов, которые могут вызывать инфекционные заболевания у сельскохозяйственных животных и человека и тем самым создавать угрозу для здоровья населения [19, 20]. Случаи, подтверждающие медицинское значение данной группы вирусов, были зафиксированы в различных регионах. Так, например, на северо-востоке Китая вирус Алонгшан был выявлен в крови пациентов, обратившихся в медицинские учреждения после укуса клеща, с сильной головной болью, лихорадкой и другими симптомами, типичными для клинических проявлений других извест-

ТАБЛИЦА 3

СТЕПЕНЬ ИДЕНТИЧНОСТИ (%) НУКЛЕОТИДНОЙ (nuc.) И ВЫВЕДЕННОЙ АМИНОКИСЛОТНОЙ (aa) ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ВЫЯВЛЕННОГО ВАРИАНТА YGTV ПО СРАВНЕНИЮ С ПРОТОТИПНЫМИ ИЗОЛЯТАМИ ФЛАВИПОДОБНЫХ ВИРУСОВ

TABLE 3

SEQUENCE IDENTITY (%) OF THE NUCLEOTIDE (nuc.) AND AMINO ACID (aa) SEQUENCE OF THE IDENTIFIED YGTV GENETIC VARIANT IN COMPARISON WITH PROTOTYPE ISOLATES OF FLAVI-LIKE VIRUSES

	Штамм/изолят	Страна/регион	Источник выделения	Сегмент 1		Сегмент 2		Сегмент 3		Сегмент 4	
				nuc.	aa	nuc.	aa	nuc.	aa	nuc.	aa
YGTV	Erzin14-T20074	Россия, Республика Тыва	*Dermacentor nuttalli*	94,5	99,6	97,4	99,2	92,7	99,4	95,6	98,8
YGTV	Republic Altay/997/2016	Россия, Республика Горный Алтай	*Dermacentor marginatus*	93,7	98,7	93,7	97,7	92,8	99,1	92,1	96,7
YGTV	YG	Китай	*Dermacentor nuttalli*	93,1	98,2	93,8	98,8	93,1	99,7	93,5	98,1
YGTV	XJ-YGTV-1	Китай	*Dermacentor nuttalli*	92,4	97,4	95,9	99,2	92,8	99,4	93,5	97,8
ALSV	H3	Китай	*Homo sapiens*	72,3	83,2	62,1	66,2	73,2	86,1	68,7	64,1
ALSV	SH_UF	Щвейцария	*Ixodes ricinus*	72,9	81,1	64,3	66,8	75,4	86,2	69,6	65,5
ALSV	Miass506	Россия, Челябинская обл.	*Ixodes persulcatus*	71,8	81,2	64,5	65,7	75,2	85,9	68,8	65,4
JMTV	Yunnan2016	Китай	*Amblyomma testudinarium*	71,9	81,2	51,4	48,2	70,2	80,4	62,2	60,4
JMTV	Wenzhou/WZMI143/2016	Китай	*Myotis laniger*	70,5	79,4	50,7	48,3	70,3	80,3	63,7	60,1
TV	IM-OI32	Япония	*Haemaphysalis formosensis*	73,6	79,3	64	62,8	75	86	68	66

Примечание. YGTV – Yanggou tick virus; ALSV – Alongshan virus; JMTV – Jingmen tick virus; TV – Takachi virus.

ных трансмиссивных ИПК. Вирус Джингмен был изолирован в крови приматов в Уганде [21], в крови крупного рогатого скота в Бразилии [22] и в крови пациентов с диагнозом Крым-Конго геморрагической лихорадки в Косово [23]. Однако стоит отметить, что данные сведения до сих пор носят фрагментарный и ограниченный характер. Это не исключает вероятности того, что их роль в инфекционной патологии домашних животных и человека может быть более значимой, чем принято считать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в исследовании данные подтверждают необходимость дальнейшего мониторинга циркуляции YGTV в природных очагах ИПК в Бурятии. Сведения о циркуляции и генетическом разнообразии флавиподобных вирусов, представляющих потенциальную опасность для человека и животных, могут выступать основой для регулирования и корректировки профилактических и противоэпидемических мероприятий. Для понимания актуальной эпидемиологической обстановки, проведения регионально-ориентированной лабораторной диагностики и осуществления адекватных и своевременных профилактических мероприятий по отношению к ИПК на территории Республики Бурятия необходима актуальная и достоверная информация о спектре существующих на территории региона патогенов, циркулирующих в клещах, и их генетическом разнообразии.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2019-1665).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Арбатская Е.В., Шобоева Р.С., Ханхареев С.С., Абмэд Д., и др. Распространение клещевых инфекций в бассейне р. Селенга на территории Республик Бурятия и Монголия. *Acta biomedica scientifica*. 2012; 5(1): 206-209. [Danchinova GA, Khasnatinov MA, Arbatskaya EV, Shoboyeva RS, Khankhareyev SS, Abmed D, et al. The spread of the tick-boorne infections in the basin of Selenga river in Buryatia and Mongolia. *Acta biomedica scientifica*. 2012; 5(1): 206-209. (In Russ.)].

2. Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А. Туризм и проблема «клещевых» инфекций в Республике Бурятия. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015; 14(5): 36-43. [Danchinova GA, Lyapunov AV, Khasnatinov MA. Tourism and the problem of tick-borne infections in the Republic of Buryatia. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2015; 14(5): 36-43. (In Russ.)]. doi: 10.31631/2073-3046-2015-14-5-36-43

3. Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Злобин В.И., Козлова И.В., Верхозина М.М., Сунцова О.В., и др. Иксодовые клещи юга Восточной Сибири и Монголии и их спонтанная зараженность возбудителями природно-очаговых трансмиссивных инфекций. *Бюллетень сибирской медицины*. 2006; 5: 137-143. [Danchinova GA, Khasnatinov MA, Zlobin VI, Kozlova IV, Verkhozina MM, Sountsova OV, et al. Ixodid ticks in Southern part of Eastern Siberia and Mongolia and their spontaneous infectiveness by infectious agents. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2006; 5: 137-143. (In Russ.)]. doi: 10.20538/1682-0363-2006--137-143

4. Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Шулунов С.С., Арбатская Е.В., Бадуева Л.Б., Сунцова О.В., и др. Фауна и экология популяций иксодовых клещей переносчиков клещевых инфекций в Прибайкалье. *Acta biomedica scientifica*. 2007; (3): 86-89. [Danchinova GA, Khasnatinov MA, Shulunov SS, Arbatskaya EV, Badueva LB, Suntsova OV. Et al. Fauna and ecology of ixodid ticks in Pribaikalye. *Acta biomedica scientifica*. 2007; (3): 86-89. (In Russ.)].

5. Cai X, Cai X, Xu Y, Shao Y, Fu L, Men X, et al. Virome analysis of ticks and tick-borne viruses in Heilongjiang and Jilin provinces, China. *Virus Res*. 2023; 323: 199006. doi: 10.1016/j.virusres.2022.199006

6. Li Y, Bai Y, Liu W, Li J, Tian F, Han X, et al. Diversity analysis of tick-associated viruses in Northeast China. *Virol Sin*. 2023; 38(6): 961-965. doi: 10.1016/j.virs.2023.10.003

7. Qin XC, Shi M, Tian JH, Lin XD, Gao DY, He JR, et al. A tick-borne segmented RNA virus contains genome segments derived from unsegmented viral ancestors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111(18): 6744-6749. doi: 10.1073/pnas.1324194111

8. Maruyama SR, Castro-Jorge LA, Ribeiro JM, Gardinassi LG, Garcia GR, Brandão LG, et al. Characterisation of divergent flavivirus NS3 and NS5 protein sequences detected in *Rhipicephalus microplus* ticks from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2014; 109(1): 38-50. doi: 10.1590/0074-0276130166

9. Colmant AMG, Charrel RN, Coutard B. Jingmenviruses: Ubiquitous, understudied, segmented flavi-like viruses. *Front Microbiol*. 2022; 13: 997058. doi: 10.3389/fmicb.2022.997058

10. Temmam S, Bigot T, Chrétien D, Gondard M, Pérot P, Pommelet V, et al. Insights into the host range, genetic diversity, and geographical distribution of jingmenviruses. *mSphere*. 2019; 4(6): e00645-19. doi: 10.1128/mSphere.00645-19

11. Zhang X, Wang N, Wang Z, Liu Q. The discovery of segmented flaviviruses: Implications for viral emergence. *Curr Opin Virol*. 2020; 40: 11-18. doi: 10.1016/j.coviro.2020.02.001

12. Kholodilov IS, Litov AG, Klimentov AS, Belova OA, Polienko AE, Nikitin NA, et al. Isolation and characterisation of Alongshan virus in Russia. *Viruses*. 2020; 12(4): 362. doi: 10.3390/v12040362

13. Bugmyrin SV, Romanova LY, Belova OA, Kholodilov IS, Bespyatova LA, Chernokhaeva LL, et al. Pathogens in *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ricinus* ticks (Acari, Ixodidae) in Karelia (Russia). *Ticks Tick Borne Dis*. 2022; 13(6): 102045. doi: 10.1016/j.ttbdis.2022.102045

14. Kholodilov IS, Belova OA, Ivannikova AY, Gadzhikurbanov MN, Makenov MT, Yakovlev AS, et al. Distribution and characterisation of tick-borne flavi-, flavi-like, and phenuiviruses in the Chelyabinsk region of Russia. *Viruses*. 2022; 14(12): 2699. doi: 10.3390/v14122699

15. Kholodilov IS, Belova OA, Morozkin ES, Litov AG, Ivannikova AY, Makenov MT, et al. Geographical and tick-dependent distribution of flavi-like Alongshan and Yanggou tick viruses in Russia. *Viruses*. 2021; 13(3): 458. doi: 10.3390/v13030458

16. Карташов М.Ю., Кривошеина Е.И., Курушина В.Ю., Мошкин А.Б., Ханхареев С.С., Биче-оол Ч.Р., и др. Встречаемость и генетическое разнообразие вируса Алонгшан (Flaviviridae), выявленного в клещах на юге Восточной Сибири. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(2): 151-161. [Kartashov MYu, Krivosheina EI, Kurushina VYu, Moshkin AB, Khankhareev SS, Biche-ool CR, et al. Prevalence and genetic diversity of the Alongshan virus (Flaviviridae) circulating in ticks in the south of Eastern Siberia. *Problems of Virology*. 2024; 69(2): 151-161. (In Russ.)]. doi: 10.36233/0507-4088-223

17. Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol Biol Evol.* 2021; 38(7): 3022-3027. doi: 10.1093/molbev/msab120

18. Marshall OJ. PerlPrimer: Cross-platform, graphical primer design for standard, bisulphite and real-time PCR. *Bioinformatics.* 2004; 20(15): 2471-2472. doi: 10.1093/bioinformatics/bth254

19. Wu Z, Zhang M, Zhang Y, Lu K, Zhu W, Feng S, et al. Jingmen tick virus: An emerging arbovirus with a global threat. *mSphere.* 2023; 8(5): e0028123. doi: 10.1128/msphere.00281-23

20. Jia N, Liu HB, Ni XB, Bell-Sakyi L, Zheng YC, Song JL, et al. Emergence of human infection with Jingmen tick virus in China: A retrospective study. *EBioMedicine.* 2019; 43: 317-324. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.04.004

21. Ladner JT, Wiley MR, Beitzel B, Auguste AJ, Dupuis AP 2nd, Lindquist ME, et al. Multicomponent animal virus isolated from mosquitoes. *Cell Host Microbe*. 2016; 20(3): 357-367. doi: 10.1016/j.chom.2016.07.011

22. Souza WM, Fumagalli MJ, Torres Carrasco AO, Romeiro MF, Modha S, Seki MC, et al. Viral diversity of *Rhipicephalus microplus* parasitizing cattle in southern Brazil. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 16315. doi: 10.1038/s41598-018-34630-1

23. Emmerich P, Jakupi X, von Possel R, Berisha L, Halili B, Günther S, et al. Viral metagenomics, genetic and evolutionary characteristics of Crimean-Congo hemorrhagic fever orthonairovirus in humans, Kosovo. *Infect Genet Evol*. 2018; 65: 6-11. doi: 10.1016/j.meegid.2018.07.010

Сведения об авторах

Карташов Михаил Юрьевич – кандидат биологических наук, заведующий сектором молекулярной диагностики, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, e-mail: mikkartash@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7857-6822

Ханхареев Сергей Степанович – кандидат медицинских наук, руководитель, Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Бурятия, e-mail: org@03.rospotrebnadzor.ru, https://orcid.org/0000-0002-4884-7919

Кривошеина Екатерина Ильинична – научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, e-mail: krivosheina_ei@vector.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0001-5181-0415

Свирин Кирилл Андреевич – младший научный сотрудник отдела молекулярной вирусологии флавивирусов, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, e-mail: svirin_ka@vector.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0001-9083-1649

Курушина Валентина Юрьевна – стажёр-исследователь отдела молекулярной вирусологии флавивирусов, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, e-mail: kurushina_vyu@vector.nsc.ru, https://orcid.org/0009-0005-8148-5242

Терновой Владимир Александрович – кандидат биологических наук, врио заведующего отделом молекулярной вирусологии флавивирусов, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, e-mail: tern@vector.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0003-1275-171X

Information about the authors

Mikhail Yu. Kartashov – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Sector for Molecular Diagnostics, State Scientific Center for Virology and Biotechnology of Rospotrebnadzor "Vector", e-mail: mikkartash@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7857-6822

Sergey S. Khankhareev – Cand. Sc. (Med.), Director, Directorate of the Federal Service for Supervision of Consumers Protection and Welfare in the Republic of Buryatia, e-mail: org@03.rospotrebnadzor.ru, https://orcid.org/0000-0002-4884-7919

Ekaterina I. Krivosheina – Research Officer at the Department Molecular Virology of Flavaviruses, State Scientific Center for Virology and Biotechnology of Rospotrebnadzor "Vector", e-mail: krivosheina_ei@vector.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0001-5181-0415

Kirill A. Svirin – Junior Research Officer at the Department Molecular Virology of Flavaviruses, State Scientific Center for Virology and Biotechnology of Rospotrebnadzor "Vector", e-mail: svirin_ka@vector.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0001-9083-1649

Valentina Yu. Kurushina – Research Assistant at the Department Molecular Virology of Flavaviruses, State Scientific Center for Virology and Biotechnology of Rospotrebnadzor "Vector", e-mail: kurushina_vyu@vector.nsc.ru, https://orcid.org/0009-0005-8148-5242

Vladimir A. Ternovoi – Cand. Sc. (Biol.), Acting Head of the Department Molecular Virology of Flavaviruses, State Scientific Center for Virology and Biotechnology of Rospotrebnadzor "Vector", e-mail: tern@vector.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0003-1275-171X

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ
MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

АНДРОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭФФЕКТОВ АГОНИСТОВ ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ

Майбородин И.В.,
Шеплев Б.В.

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

Автор, ответственный за переписку:
Майбородин Игорь Валентинович,
e-mail: imai@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Проведён литературный поиск для изучения работ, посвящённых результатам применения агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ) у мужчин в клинических условиях и самцов животных в эксперименте. Практически все исследователи утверждают, что агонисты ГнРГ подавляют функции яичек. Но относительно механизмов этого эффекта нет однозначного мнения: часть учёных считают возможным прямое действие препаратов на клетки яичек, другие полагают такое воздействие опосредованным через другие гормоны, в том числе гипофизарные. Большинство опубликованных статей приводят факты об уменьшении массы с атрофией тканей предстательной железы и семенных пузырьков после применения аналогов ГнРГ. Эффект аналогичен хирургической кастрации, но проявляется несколько позже и иногда менее выражен, так как синтез тестостерона полностью не подавляется. Препараты данной группы при комплексном терапевтическом лечении рака предстательной железы обеспечивают сравнимую эффективность с орхиэктомией или высокими дозами эстрогенов, при этом зарегистрирована меньшая частота побочных эффектов. ГнРГ оказывает антипролиферативное действие на клеточные элементы карцином предстательной железы, но вместе с тем есть мнение о том, что агонисты ГнРГ не ингибируют пролиферацию клеток рака простаты, прямое подавление митотической активности вряд ли является основным механизмом противоопухолевого действия подобных препаратов. При изучении данных о защитном действии препаратов ГнРГ на клетки и ткани половых органов при химиотерапии и облучении обращает на себя внимание явная противоречивость публикаций: от хорошего эффекта с быстрым восстановлением функциональной активности до слабой или даже полностью отсутствующей положительной динамики. В любом случае противоречивость публикаций по каждому из аспектов эффектов ГнРГ свидетельствует об их малой изученности, целесообразности дальнейшего продолжения не только прикладных, но и фундаментальных исследований в связи с возможной высокой перспективностью.

Ключевые слова: *агонисты гонадотропин-рилизинг-гормона, самцы животных, пациенты мужского пола, яички, предстательная железа, тестостерон, рак простаты*

Статья поступила: 21.11.2023
Статья принята: 26.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Майбородин И.В., Шеплев Б.В. Андрологические аспекты эффектов агонистов гонадотропин-рилизинг-гормона в эксперименте и клинике. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 85-99. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.9

ANDROLOGICAL ASPECTS OF THE EFFECTS OF GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE AGONISTS IN EXPERIMENT AND CLINIC

Maiborodin I.V.,
Sheplev B.V.

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

Corresponding author:
Igor V. Maiborodin,
e-mail: imai@mail.ru

ABSTRACT

A literature search was made to study works devoted to the results of gonadotropin-releasing hormone agonists (GnRHa) using in men in clinical settings and male animals in experiments. Almost all researchers claim that GnRHa suppress testicular function. But there is no clear opinion regarding the mechanisms of this effect: some scientists believe that a direct effect of drugs on testicular cells is possible, others believe that such an effect is indirect through other hormones, including pituitary ones. Most published articles provide evidence of a decrease in mass with atrophy of prostate and seminal vesicle tissue after the use of GnRHa. The effect is similar to surgical castration, but appears somewhat later and sometimes less pronounced, since testosterone synthesis is not completely suppressed. In the complex therapeutic treatment of prostate cancer, drugs of this group provide comparable effectiveness to orchiectomy or high doses of estrogens, while a lower frequency of side effects has been recorded. GnRH has an antiproliferative effect on the cells of prostate carcinomas, but at the same time there is an opinion that GnRHa do not inhibit the proliferation of prostate cancer cells, and that direct suppression of mitotic activity is unlikely to be the main mechanism of the antitumor effect of such drugs. When studying the data on the protective effect of GnRH drugs on the cells and tissues of the genital organs during chemotherapy and radiation, attention is drawn to the obvious inconsistency of publications: from a good effect with a rapid restoration of functional activity, to weak or even completely absent positive dynamics. In any case, the inconsistency of publications on each aspect of the effects of GnRH indicates that they have been poorly studied, and the advisability of further continuing not only applied research, but also fundamental research, due to its possible high prospects.

Key words: *gonadotropin-releasing hormone agonists, male animals, male patients, testicles, prostate gland, testosterone, prostate cancer*

Received: 21.11.2023
Accepted: 26.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Maiborodin I.V., Sheplev B.V. Andrological aspects of the effects of gonadotropin-releasing hormone agonists in experiment and clinic. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 85-99. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.9

ВВЕДЕНИЕ

Гонадотропин-рилизинг-гормон (ГнРГ) – гипоталамический декапептид, опосредующий синтез и высвобождение гипофизарного лютеинизирующего гормона (ЛГ). Подобные полипептиды действуют главным образом на переднюю часть гипофиза, вызывая кратковременное быстрое увеличение выброса гонадотропина. У мужчин и самцов животных ГнРГ участвует в различных поведенческих и физиологических процессах, таких как высвобождение репродуктивных гормонов, сперматогенез, агрессивное поведение и метаболизм. Недавнее обнаружение нейронной сети кисспептин – нейрокинин – динорфин в головном мозге привело к быстрому прогрессу в контроле секреции ГнРГ. Система кисспептина играет фундаментальную роль в оси гипоталамус – гипофиз – гонады, поскольку является основным положительным модулятором клеток гипоталамуса, секретирующих ГнРГ [1, 2].

Репродуктивная функция имеет решающее значение для выживания вида, однако это энергозатратно и физически сложно. Подавление репродукции является физиологической адаптацией к определённым временным экологическим условиям. Супрессия фертильности позволяет приспосабливаться к неблагоприятным репродуктивным обстоятельствам и гарантировать выживание вида. Механизмы, лежащие в основе этого подавления репродуктивной функции, сложны, но завершаются снижением секреции ГнРГ гипоталамусом, что в свою очередь подавляет высвобождение гонадотропинов из гипофиза, тем самым нарушая функцию половых желез. Существуют значительные видовые различия ответа животных на антигонадальное и противогипофизарное влияние агонистов и антагонистов ГнРГ. Интенсивность ответа на агонисты ГнРГ, по-видимому, зависит от чувствительности гипофиза и присутствия рецепторов ГнРГ в органах-мишенях. Результаты, полученные на животных моделях, требуют тщательной интерпретации, прежде чем можно будет делать прогнозы относительно их возможных последствий для человека [3].

Когда агонисты ГнРГ вводят длительно в высоких супрафизиологических дозах, становится очевидным парадоксальный эффект чрезмерной стимуляции гипофиза, который включает в себя десенсибилизацию гипофиза к ГнРГ, подавление рецепторов ГнРГ в клетках-мишенях, резкое падение объёма выделяемого ЛГ и нарушение механизмов физиологической обратной связи, при этом снижается высвобождение гонадотропина. У пациентов мужского пола и самцов животных снижается чувствительность клеток Лейдига и блокируется секреция тестостерона до уровня кастрации. Эти эффекты иногда используются для разработки методов контрацепции и лечения преждевременного полового созревания [4–7].

Кроме того, аналоги ГнРГ применяют для лечения широкого спектра онкологических процессов, связанных с половыми гормонами, включая распространённый рак предстательной железы. Терапевтический эффект снижения уровней тестостерона, как при кастрации, в процессе лечения рака предстательной железы аналогами ГнРГ достигается без орхиэктомии, что позволяет избежать побочного действия эстрогенов на сердечно-сосудистую систему [8, 9].

Значительный объём ГнРГ выводится с мочой в неизменном виде или в виде фрагментов [10]. Самцам крыс длительно подкожно непрерывно вводили меченный ^{3}H Бусерелин, примерно 30 пмоль/24 ч осмотическими мининасосами в течение 4–7 дней. Признаки повышения концентрации ^{3}H были обнаружены только в гипофизе (примерно в 10 раз больше, чем в плазме крови). Суточное количество активности ^{3}H в моче было постоянным в течение всего периода инфузии. В пересчёте на мольную дозу 14,8 % Бусерелина выводится с мочой в виде интактного пептида, а 47,9 % – в виде отдельных фрагментов препарата. Делается вывод о том, что основным маршрутом элиминации Бусерелина является клубочковая фильтрация с последующей ферментативной деградацией части фильтрованного пептида энзимами тубулярных клеток почек. S.V. Moradi и соавт. [11] и J. Jyrkäs и соавт. [12] также сообщают возможности деградации ГнРГ *in vitro* клетками почек. Наибольшее количество метаболитов ГнРГ образовывалось при инкубации с микросомальной фракцией S9 почек.

Из-за широко распространённого долгосрочного клинического использования агонистов ГнРГ, имеющих полипептидную структуру, существует возможность появления антител к некоторым из них. Возможно создание вакцины против ГнРГ для уменьшения размеров семенников и снижения частоты осложнений, связанных с последующей хирургической кастрацией [13–16].

Следует отметить, что ГнРГ и его небольшие пептидные синтетические аналоги включены в раздел S2 Запрещённого списка Всемирного антидопингового агентства (WADA, World Anti-Doping Agency), поскольку стимулируют секрецию гипофизарного ЛГ и тестикулярного тестостерона [17].

Для обобщения результатов исследований влияния ГнРГ на органы репродуктивной системы у мужчин и самцов экспериментальных животных проведён поиск литературы в базах данных PubMed и PubMed Health.

ВЛИЯНИЕ АНАЛОГОВ ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА НА ЯИЧКИ И СПЕРМАТОГЕНЕЗ

В настоящее время растёт потребность в альтернативах хирургической кастрации, таких как имплантаты ГнРГ медленного высвобождения [18]. Хорошо известно, что агонисты ГнРГ могут подавлять функции яичек. Имеются данные о том, что ингибирующий эффект агонистов ГнРГ преимущественно обусловлен эндогенным высвобождением ЛГ, а не прямым действием пептида на уровне органов [19].

Вместе с этим есть результаты исследований, показывающие, что ГнРГ и его аналоги оказывают непосредственное воздействие на клетки яичка через стереоспецифические сайты узнавания. У бесхвостой амфибии

Pelophylax esculentus обнаружена прямая интратестикулярная активность кисспептина [20]. Пятидневным самцам крыс вводили однократно подкожно хорионический гонадотропин человека (ХГЧ; 600 МЕ/кг массы тела), ГнРГ (4 мкг/кг массы тела) или их комбинацию. Способность ГнРГ стимулировать выработку яичками прогестерона в присутствии высокой концентрации ХГЧ указывает на прямое гонадное действие пептида. Возможность такого действия была подтверждена присутствием в семенниках новорождённых крыс многочисленных рецепторов к ГнРГ [21]. Аналоги ГнРГ при лечении крипторхизма могут действовать как суррогат миниполового созревания, запуская дифференцировку Ad-сперматогоний посредством эпигенетических эффектов, опосредованных длинными некодирующими РНК [22].

Подавление полового созревания аналогами ГнРГ у педиатрических пациентов может приостановить созревание половых клеток и таким образом повлиять на потенциал фертильности. Влияние гормональной терапии на фертильность потенциально обратимо, но степень обратимости неясна [23]. Лечение аналогами ГнРГ (трипторелин) вызвало уменьшение объёма яичек у 43 из 49 подростков мужского пола. Уровни гонадотропинов и половых стероидов были подавлены в течение 3 месяцев. Лечение не пришлось корректировать из-за недостаточного эффекта ни у одного субъекта [5].

Необходимо отметить сообщение о случае экстракции спермы с последующей криоконсервацией из яичка у 16-летней трансгендерной женщины-подростка без прекращения длительной терапии агонистами ГнРГ и терапии феминизирующими гормонами (ацетат лейпролида в течение 4 лет и эстрадиол в течение 3 лет). В образце спермы были идентифицированы множественные ранние и поздние сперматиды, а также сперматагонии. То есть сперматогенез может происходить в присутствии агониста ГнРГ, прекращение терапии не всегда имеет существенное значение для получения спермы [24].

Для исследования прямого гонадального эффекта ГнРГ 15 незрелым (подтверждено морфологическими характеристиками яичка) 25-дневным самцам крыс линии Вистар подкожно вводили 1,25 мг ацетата Бусерелина на 1 г массы в течение 5 дней. В отличие от контрольных животных, у крыс, получавших Бусерелин, было обнаружено значительное увеличение апоптотической гибели клеток, по-видимому, вследствие прямого действия препарата на гонады [25].

Сравнивали гистологические изменения в семенном эпителии после имплантации депо-препаратов агониста ГнРГ лейпрорелина самцам крыс. Масса яичек заметно снизилась через 28 дней после введения препарата, вскоре после начала эксперимента в семенных канальцах крыс наблюдали массивную эксфолиацию незрелых сперматид и аномальных многоядерных гигантских клеток, вероятно, за счёт гиперстимулирующего воздействия препарата на ось гипоталамо-гипофиз-тестикулярной системы. Длительное введение аналога ГнРГ вызывало заметное уменьшение высоты эпителия и деформацию апикальной цитоплазмы в клетках Сертоли, что приводило к преждевременному отслоению сперматид от эпителия. В клетках Сертоли постепенно накапливались липидные капли [9].

Определяли влияние агониста ГнРГ длительного действия деслорелина на подавление и восстановление функции яичек и их придатков. Самцы крыс были разделены на опытных (n = 18; имплантат 4,7 мг деслорелина подкожно в течение 6 мес.) и контрольных (n = 10). Размеры яичек стали значительно меньше в опытной группе через 9 мес. после имплантации. Также в этой группе наблюдали значительно более низкие концентрации тестостерона, плохое качество спермы и меньший размер потомства. Супрессирующее действие деслорелина продолжалось до 11-го месяца после удаления имплантата [26].

Контроль популяций диких животных с целью смягчения конфликтов между человеком и дикой природой и распространения зоонозных заболеваний является постоянно растущей необходимостью [14]. Кроме, того, управление репродукцией в зоопарках, фермерских хозяйствах и ветеринарии требует контрацепции или физического разделения полов для обеспечения жизнеспособности популяции в неволе, но информация о влиянии паритета, возраста и использования противозачаточных средств на репродуктивное здоровье в течение всей жизни очень скудна [27].

В настоящее время в большинстве стран ветеринарам и владельцам домашних животных, желающим подавить фертильность у самцов собак, доступна только хирургическая стерилизация. Альтернативный подход к контрацепции – это имплантаты, постепенно высвобождающие ГнРГ, которые снижают чувствительность гипофиза к стимулирующему эффекту ГнРГ и тем самым блокируют функции яичек [28].

Имплантаты агонистов ГнРГ дают возможность обратимого временного подавления эндокринной и герминативной функции яичек у самцов собак. Точно так же гормональную кастрацию можно вызвать у котов и самцов крыс, но у самцов кроликов и морских свинок не было выявлено достаточной противозачаточной активности. Из рептилий на сегодняшний день продемонстрировано успешное применение деслорелина только у игуан [29].

ГнРГ активирует рецепторы, экспрессируемые на клетках Лейдига и клетках Сертоли соответственно, чтобы стимулировать сперматогенез в семенниках [2], но введение препарата ГнРГ длительного действия самцам собак вызвало дедифференцировку клеток Сертоли и Лейдига [30].

Однопомётным щенкам после рождения случайным образом были имплантированы подкожно деслорелина ацетат 18,8 мг или плацебо. Деслорелин отсрочил половое созревание (72,7 ± 4,8 против 35,8 ± 1,9 нед.; $p < 0,01$). У двух самцов, не достигших половой зрелости, после применения агониста ГнРГ наблюдали двусторонний крипторхизм. Гистоморфометрическое исследование семенников выявило уменьшение диаметра канальцев ($p < 0,05$), высоты и состава зародышевого эпителия ($p < 0,01$) [31].

Объём яичек значительно уменьшился у собак-самцов после применения агониста ГнРГ медленного высвобождения (деслорелина в дозе 4,7 мг). После удаления имплантата объёмы яичек возросли, но гистологические находки были весьма вариабельными: помимо остановки дифференцировки сперматогоний и сперматоцитов, у отдельных собак были обнаружены удлинённые сперматиды с нормальным сперматогенезом [32].

Характеризовали динамику изменений после пятимесячного лечения препаратом деслорелина замедленного высвобождения. Семи собакам-самцам породы бигль внедряли имплант с деслорелином, а три животных, получавшие физиологический раствор, служили контролем. Имплантаты деслорелина были удалены через 5 мес., после чего проведены подробные исследования яичек и спермы. Объём яичек быстро увеличивался после удаления имплантата и не отличался от контроля на 91-е сутки. Образцы эякулятов стали нормоспермическими между 84-м и 133-м днями. Гистологическая оценка ткани яичка в конце периода наблюдения (149 суток после удаления имплантата) выявила нормальный сперматогенез. Восстановление функций яичек сильно варьирует после применения аналогов ГнРГ, но тем не менее, все эффекты препарата являются обратимыми [33].

Стерильность у самцов приматов уже давно достигается посредством хирургической кастрации или вазэктомии. Однако эти методы необратимы, требуют хирургической процедуры и имеют нежелательные последствия, такие как образование гранулем сперматозоидов и длительное время восстановления. Изучали влияние деслорелина на объём яичек у самцов макак-резусов (*Macaca mulatta*). Самцы макак ($n = 4$) получали по два имплантата деслорелина по 4,7 мг подкожно в межлопаточную область. После имплантации средний объём яичек значительно уменьшился к 121-му дню [34].

1,3-месячным котам либо вводили имплантаты деслорелина в дозе 4,7 мг, либо оставляли без них ($n = 6$). Сперму удалось собрать у всех 6 контрольных животных, тогда как после воздействия агонистом ГнРГ получение спермы было невозможным, у этих же котов отсутствовало сексуальное поведение на протяжении всего периода исследования в 48 нед. Объём яичек уменьшался через 30 нед. У животных с имплантатами ($p < 0,05$). Состояние ткани яичек, диаметр семенных канальцев и экспрессия рецепторов к ЛГ в ткани семенников были хуже после введения агониста ГнРГ ($p < 0,05$), но не наблюдали различий в экспрессии рецепторов к фолликулостимулирующему гормону (ФСГ) между группами [35].

16 здоровым половозрелым котам вводили имплантат с 9,4 мг деслорелина. Качество спермы первоначально улучшилось, затем через 1 мес. после имплантации начало ухудшаться, а спустя 70 дней все животные стали стерильными. В начале 3-го мес. после лечения наблюдали значительное уменьшение объёма яичек и шипов полового члена (спикул). Нормальная фертильность восстанавливалась в среднем через 805 дней (750–850 дней), на этот срок гистология яичек оказалась нормальной. Следует отметить, что один из 16 котов не ответил на лечение [36].

У котов через 5, 6 и 7 мес. после установки имплантата ГнРГ-агониста (деслорелин 4,7 мг) была обнаружена вариабельная гистологическая картина герминального эпителия, на каждый срок присутствовали канальцы с удлинёнными или круглыми сперматидами, сперматоцитами и сперматогониями как наиболее развитыми зародышевыми клетками. У всех животных размеры семенников значительно различались между первой и последней датами. У всех котов развилась полная азооспермия, за исключением одного, но у него все сперматозоиды были неподвижны. Полная азооспермия подтверждает контрацептивный эффект как минимум в течение 7 мес. применённого ГнРГ-агониста [37].

Случайно выбранным котам ($n = 3$) в межлопаточный регион подкожно вводили имплантат деслорелина (4,7 мг), другие 3 служили контролем. Через 1 мес. после установки имплантата отметили увеличение концентрации сперматозоидов и их общего количества. За этим первоначальным стимулирующим эффектом спустя 2 мес. последовало снижение параметров семенной жидкости, уменьшение объёма яичек и исчезновение шипов полового члена. Один имплант в указанной дозе подавлял выработку спермы на 22–25 мес. Все коты продемонстрировали возврат к исходному состоянию спермы через 23–28 мес. после имплантации. Таким образом, агонист ГнРГ является безопасным вариантом для обратимого контроля репродукции котов в течение длительного периода времени [38].

Оценивали однократную дозу вакцины против гонадотропин-рилизинг-гормона в качестве альтернативы для контроля популяции капибары, живущей на свободном выгуле. Самцы ($n = 3$) получили 1 мл вакцины против ГнРГ внутримышечно, а контрольная группа ($n = 2$) – 1 мл фиктивного раствора. По сравнению с контрольной группой яички самцов после вакцинации имели выраженную атрофию ($p < 0,05$), олигозооспермию и большее количество сперматозоидов в статической фазе развития. У самцов капибар наблюдали 100%-е бесплодие на протяжении всего периода исследования, продолжавшегося в течение 18 мес., и, что не менее важно, лечение не повлияло на альфа-характеристики самцов и социальную целостность группы, что крайне важно для успешных усилий по контролю популяции диких животных [14].

Гистологическое исследование яичек взрослых самцов саблерогой антилопы (*Oryx dammah*) после применения в качестве временного метода контрацепции подкожного имплантата деслорелина (14,1 и 9,4 мг) не выявило сперматогенетической активности. Несмотря на совместное проживание самцов с двумя плодовитыми самками, за период наблюдения наступления беременностей не зафиксировано. Однако через 10–11 мес. после применения имплантата деслорелина произошло плодотворное спаривание, приведшее к рождению здорового телёнка. После окончания лечения наблюдали повышение уровня общей активности и иерархические изменения в соответствии с гормональными аберрациями. Следовательно, можно предположить прекращение контрацептивного эффекта спустя 10 мес. после имплантации [39].

У жеребцов, не предназначенных для разведения, может представлять интерес обратимое подавление функции семенников агонистами ГнРГ. Шетландские жеребцы получали 4,7 мг (n = 7) или 18,8 мг деслорелина (n = 5) или оставались интактными (n = 5). Общее количество сперматозоидов временно увеличивалось, а процент ESR1-положительных (рецептор к эстрогену) временно снизился только при использовании 18,8 мг деслорелина. Не было найдено различий между группами по проценту подвижных сперматозоидов с неповреждёнными мембранами и с фрагментированной ДНК. Таким образом, имплантаты деслорелина модулируют функцию гипофиза у жеребцов, но не до такой степени, чтобы влиять на функцию яичек [40].

Кроме того, шетландских жеребцов дважды иммунизировали против ГнРГ с интервалом в 4 нед. Через 3 нед. было начато ежедневное лечение агонистом ГнРГ бусерелином (4 мкг/день в течение 4 нед., а затем 8 мкг/день). Общее количество сперматозоидов снизилось после вакцинации, но увеличилось лишь незначительно в ответ на бусерелин. Подвижность сперматозоидов и процент с неповреждённой оболочкой были уменьшены после вакцинации и при коррекции бусерелином вернулись к исходным значениям. Объём яичек снизился после вакцинации против ГнРГ и начал возрастать под воздействием бусерелина [16].

Окружность мошонки самцов половозрелых габонских оленей в контроле (21,0 ± 0,1 см) была больше, чем спустя 17 мес. у животных, длительно получавших подкожные имплантаты с 7,4 мг деслорелина (19,9 ± 0,2 см; $p < 0,05$), характерный для самцов запах также был сильнее в контроле ($p < 0,05$). Имплантат негативно влиял на все показатели спермы: общее количество сперматозоидов в эякуляте, подвижность сперматозоидов и процент сперматозоидов с нормальной морфологией. Метод эффективен для подавления репродукции, но не вызвал азооспермии. Отдельные самцы демонстрировали признаки сохранения фертильности [15].

7 молодым баранам (3–5,5 мес.) с целью подавления начала полового созревания вводили препарат аналога ГнРГ с медленным высвобождением (4,7 мг деслорелина), контролем служили 7 животных того же возраста без имплантата. Через 5 мес. у 75 % животных в группе с применением аналога ГнРГ развитие семенников было подавлено, но гистологическое исследование выявило в их ткани сперматогенез. Наступление половой зрелости у молоди баранов невозможно полностью подавить применением имплантата с медленным высвобождением ГнРГ [18].

Хирургическую кастрацию домашних кроликов-самцов проводят для контроля воспроизводства, контроля гиперсексуальности и маркировки территории, уменьшения агрессии между самцами и против людей. Альтернативы хирургической кастрации необходимы из-за относительно высокого анестезиологического риска у этого вида животных. Новозеландским белым гибридным и немецким гигантским кроликам-самцам перипубертатного возраста (n = 10) в качестве средства гормональной кастрации внедряли имплантат деслорелина в дозе 4,7 мг. Животные соответствующего возраста без введения имплантата служили взрослым контролем (n = 5); животные, кастрированные в день 0, являлись ювенильным контролем (n = 7). После лечения сперматогенез не был нарушен по сравнению со взрослым контролем. Применение имплантата агониста ГнРГ с медленным высвобождением препарата не вызывает гормональной кастрации у кроликов-самцов в течение 90 дней [41].

Мелкие особи рыб (*Argyrosomus regius*) при выращивании в неволе часто производят мало молок, иногда низкого качества и в течение ограниченного периода времени. Самцам (n = 5) вводили 15,0 ± 0,2 мкг/кг агониста ГнРГ в виде инъекции или 51,0 ± 5,1 мкг/кг как имплантат. Также протестировано многократное применение имплантатов с препаратом ГнРГ (n = 8; 57,5 ± 7,5 мкг/кг каждые 3 нед. в течение 70 дней). Производство молок было улучшено имплантатами с незначительными изменениями качества спермы (увеличение процента подвижных сперматозоидов) [42].

Исследования на животных показали, что ген *POU1F1* оказывает большое влияние на регуляцию функции рецепторов к ГнРГ и гена *Gata2*. Также *POU1F1* контролирует эволюцию гонадотропов и предотвращает их накопление в избыточном уровне. Однако необходимы дальнейшие исследования для выяснения всех функций *POU1F1* [43].

Полиморфизм промотора FSHB-211 G>T влияет на реакцию гипофиза на экзогенную стимуляцию ГнРГ за счёт снижения продукции ФСГ (нарушение транскрипционной активности) и увеличения секреции ЛГ. Различие генотипов (FSHB c.-211G>T) может приводить к нарушению ответа и на эндогенную, и на экзогенную стимуляцию ГнРГ, что будет способствовать уменьшению объёма яичек и количества сперматозоидов у пациентов, несущих один или два аллеля T. Учитывая ретроспективный характер исследования и небольшое количество носителей TT, результаты следует интерпретировать с осторожностью [44].

Таким образом, практически все исследователи утверждают, что агонисты ГнРГ длительного действия подавляют функции яичек. Но относительно механизмов этого эффекта нет однозначного мнения: часть учёных считает возможным прямое действие препаратов на клетки яичек (присутствие специфических рецепторов на клетках Лейдига, апоптоз клеточных элементов, уменьшение количества сперматозоидов и т. п.), другие полагают такое воздействие опосредованным через другие гормоны, в том числе гипофизарные. Скорее всего, имеет место и прямое, и опосредованное влияние ГнРГ на семенники, а превалирование того или иного эффекта зависит от дозы препарата и исходного гормонального статуса. Изменения функций яичек сопровождаются уменьшением их массы, но эти изменения чаще всего являются обратимыми, что очень важно для применения аналогов ГнРГ в качестве контрацептивных препаратов. Необходимо учитывать видовую специфичность действия препаратов ГнРГ, что у некоторых животных аналоги ГнРГ могут оказаться неэффективными.

ЭФФЕКТЫ АГОНИСТОВ ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА НА СОСТОЯНИЕ ПРИДАТКОВ ЯИЧКА И ПРЕДСТАТЕЛЬНУЮ ЖЕЛЕЗУ

Взрослым самцам крыс линии Вистар вводили 0, 3, 10 или 50 мкг/кг мощного аналога ГнРГ (Бусерелин) ежедневно подкожно. Хотя масса семенных пузырьков снизилась на 50 % на 42-й день лечения, вес простаты не изменился по сравнению с исходным и был значительно ниже, чем в возрастном контроле на этот срок. Лечение Бусерелином тормозит развитие гипертрофии простаты, но не вызывает регрессию нормального органа [45].

На нормальных самцах крыс сравнивали эффекты подкожного введения препарата-депо аналога ГнРГ Золадекс с изменениями, вызванными хирургической кастрацией. Аналог депо ГнРГ вызывал первоначальное увеличение веса вентральной простаты через 4 дня, но спустя 10 и 17 дней вес железы и яичек уменьшался. Хирургическая кастрация в значительной мере снижала массу простаты уже через 4 дня [46].

Максимальное снижение веса вентральной части простаты и семенных пузырьков у крыс при эстрогеновом воздействии составляло 73–78 %, но после применения аналога ГнРГ было явно менее выражено (33–41 %), к 8 нед. величина значения этого показателя уже статистически значимо не отличалась от исходных данных [47]. Когда сильный агонист ГнРГ Бусерелин (0,04–25 мкг/кг/день) вводили самцам крыс ежедневно в течение 15 дней, масса простаты снижалась после кратковременного увеличения в первые дни лечения, но не так сильно, как после орхиэктомии, поскольку секреция тестостерона никогда полностью не подавлялась [48].

Ежедневное введение в течение 5 мес. сильного ГнРГ в сочетании с чистым антиандрогеном Нилутамидом пациентам мужского пола и взрослым самцам крыс в эксперименте вызывает выраженное снижение массы с развитием значительной атрофии вентральной простаты и семенных пузырьков до 9 % и 15 % от контроля соответственно. В применяемых дозах вследствие перенастройки оси гипофиз – яичко ни один из этих методов лечения самостоятельно не влиял на вес простаты и оказывал лишь минимальное ингибирующее действие на вес семенных пузырьков. Эффект агониста ГнРГ обусловлен блокадой стероидогенеза яичками; следует отметить, что среди исследованных видов человек наиболее чувствителен к такому влиянию агонистов ГнРГ [49, 50].

Двухнедельное лечение Бусерелином заметно уменьшало появление клеток в S-фазе в предстательной железе взрослых самцов крыс. В то же время Бусерелин ацетат оказывает потенцирующее влияние на пролиферацию клеток эпителия вентральных отделов предстательной железы кастрированных крыс при наличии физиологического уровня экзогенного тестостерона. Этот эффект может незначительно влиять на результат гормональной терапии агонистом ГнРГ *in vivo* [51].

Половозрелые самцы крыс породы Вистар получали 300 мкг/кг (низкая доза) и 500 мкг/кг (высокая доза) Бусерелина подкожно в течение 5 дней, контрольным животным вводили физиологический раствор. Толщина эпителия семяобразующих канальцев была статистически значимо снижена в опытных группах по сравнению с контролем. Наблюдали значительное увеличение апоптотической гибели клеток в группе с инъекциями высоких доз по сравнению с группами, получавшими меньшие дозы, и контрольной [52]. Гистологическая картина придатков яичка и семенных канальцев самцов крыс показала различную сохранность в группе с введением ГнРГ длительного действия деслорелина через 6 мес. по сравнению с контролем; эффект сохранялся до 11-го мес. после извлечения имплантата [26].

Введение аналога ГнРГ из расчёта 54 мкг/кг 1 раз в сутки в течение 3 нед. вызвало небольшое, но статистически значимое уменьшение веса вентральной простаты у мышей. Вес семенных пузырьков, однако, не отличался от такового в контроле. Аналог ГнРГ не оказывает «кастрационного» эффекта на указанные половые органы самцов мышей и поэтому не является подходящей моделью для исследования подобных соединений [53].

Восемь собак со спонтанной доброкачественной гиперплазией предстательной железы получали ежедневные подкожные инъекции 25 мкг Бусерелина в течение 3 мес. Вес предстательной железы до лечения оценивали по трёхмерным измерениям во время открытой операции. Через 3 мес. лечения вес простаты уменьшился на 50–60 %. У двух кастрированных контрольных животных в течение 3 мес. вес железы сократился примерно на 70 %. Гистологическая картина простаты кастрированных или леченых Бусерелином животных была сходной и свидетельствовала о значительной атрофии железистого эпителия и преобладании стромы. Уровни активности кислой фосфатазы и аргининэстеразы (маркеры андрогенного действия) в предстательной железе, экспрессии стероидных рецепторов к андрогенам, эстрогенам и прогестерону были сходными после Бусерелина или кастрации [54]. Вместе с этим есть данные о том, что после удаления имплантатов деслорелина объём предстательной железы у собак быстро восстанавливался и не отличался от контроля на 49-й день. Восстановление функций яичек сильно варьирует после применения аналогов ГнРГ, но, тем не менее, все эффекты препарата являются обратимыми [33].

Большинство опубликованных статей приводит факты об уменьшении массы с атрофией тканей предстательной железы и семенных пузырьков после применения аналогов ГнРГ. Эффект аналогичен хирургической кастрации, но проявляется несколько позже и иногда менее выражен, так как синтез тестостерона полностью не подавляется. Вместе с этим есть мнение, что ГнРГ тормозит развитие гипертрофии железы, но не вызывает дегенерации нормального органа.

ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТОВ ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА НА КРОВОТОК И СОСУДИСТОЕ РУСЛО ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ САМЦОВ ЖИВОТНЫХ

Влияние агониста ГнРГ на вазомоторную активность в яичках изучали у взрослых крыс после гипофизэктомии. В течение 1 часа после введения 1 мкг агониста ГнРГ никакого эффекта на вазомоцию не наблюдали, но через 2 часа характер пульсирующего кровотока изменился на непрерывный у 50 % животных. Через 4 ч после инъекции препарата вазомоция не была обнаружена в яичках всех животных. Однако на этот срок увеличилось количество полиморфноядерных лейкоцитов в микрососудах яичек, и некоторые из таких клеточных элементов мигрировали в интерстициальные пространства [55].

Подкожная инъекция 1 мкг агониста ГнРГ или 5 мкг ХГЧ взрослым мышам приводила к увеличению проницаемости эндотелия для введённого внутривенно голубого красителя Эванса (Evans blue) в интерстициальные пространства и в межклеточную жидкость яичка. Такие изменения, вероятно, связаны с увеличением проницаемости сосудов, но, в отличие от ситуации у крыс, это не сопровождалось ни накоплением полиморфноядерных лейкоцитов в кровеносных сосудах яичка, ни образованием крупных межэндотелиальных клеточных разрывов в посткапиллярных венулах [56].

Определяли, вызывают ли множественные небольшие дозы ГнРГ увеличение кровотока в яичках и температуры мошонки у баранов. Эксперимент проводили в конце сезона размножения (май-июнь). Семь однолетних животных получали почасовые дозы 7 нг аналога ГнРГ (ацетат Бусерелина) внутривенно, начиная с 8:00 утра, в течение 1 нед., а ещё семь особей оставались в качестве контроля. За 1 ч до первой дозы ГнРГ (7:00) и спустя 0, 1, 2, 4, 7 и 10 ч проводили ультразвуковые исследования яичек в В-режиме на частоте 7,5 МГц. Каждое яичко исследовали отдельно, поместив датчик вертикально. Изображения анализировали с помощью специального программного обеспечения с использованием метода точечного замера в четырёх точках диаметром 1 см на одном и том же месте изображения. Одновременно измеряли поверхностную ректальную, анальную и мошоночную температуру с помощью лазерного термометра. Сделан вывод, что множественные малые дозы ГнРГ вызывают быстрое увеличение содержания жидкости в яичках, не сопровождаемое изменениями температуры поверхности мошонки [57]. Кроме того, после применения аналога ГнРГ бусерелина ацетата у баранов Оссими через 1–3 ч произошло заметное снижение значений резистивного индекса и индекса пульсации по данным импульсно-волнового допплеровского сканирования яичек ($p < 0,05$) [58].

Температуру поверхности мошонки и концентрации тестостерона в сыворотке крови годовалых бычков ($n = 23$) с низкой продукцией спермы оценивали до и после введения 10,5 мкг Бусерелина ацетата. Термографические изображения мошонки регистрировали через 0, 15, 30, 45 и 60 мин после инъекции ГнРГ, тогда как забор крови проводили только через 60 мин после этого. По результатам термометрии животные были разделены на две группы: снижение ($n = 10$) или повышение ($n = 13$) температуры мошонки. Через 60 мин у бычков с пониженной температурой мошонки были диагностированы более высокие концентрации тестостерона по сравнению с животными с высокой температурой: 14,32 ± 0,53 против 10,30 ± 1,37 нг/мл ($p < 0,05$) соответственно. Репродуктивные показатели в обеих группах улучшились после введения ГнРГ, что привело к увеличению количества осеменяющих доз из каждой коллекции спермы. Возможно, снижение температуры поверхности мошонки через 1 ч после обработки ГнРГ было связано с улучшением выработки спермы [59].

Большинство полученных результатов свидетельствуют об отсутствии влияния препаратов ГнРГ на кровоток и сосудистое русло половых органов самцов животных. Вместе с этим наблюдали изменения характера кровотока, который вместо пульсообразного становился непрерывным. Кроме того, агонисты ГнРГ вызывают увеличение проницаемости сосудов яичка с накоплением и миграцией через эндотелий нейтрофилов (у крыс) или без этого (мыши).

ИЗМЕНЕНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА У ПАЦИЕНТОВ МУЖСКОГО ПОЛА И САМЦОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Проведено плацебо-контролируемое, слепое, проспективное рандомизированное перекрёстное исследование с участием 40 мужчин в возрасте от 19 до 73 лет с индексом массы тела от 20 до 34,3 кг/м^2. Наблюдали возрастное, но не связанное с индексом массы тела снижение секреции ГнРГ и чувствительности к тестостерону клеток Лейдига. Содержание тестостерона было отрицательно связано как с возрастом, так и с объёмом висцеральной жировой ткани. Продукция ЛГ в ответ на введение субмаксимальной дозы ГнРГ не зависела от возраста. Пожилой возраст и, собственно, старение связаны с ослаблением секреции тестостерона, что может быть обусловлено дисфункцией клеток Лейдига и снижением стимуляции гипофиза, вызванным уменьшением выброса ГнРГ, но не снижением чувствительности желез-продуцентов гонадотропных гормонов к ГнРГ [60].

Клетки Лейдига семенников млекопитающих вырабатывают тестостерон в ответ на ЛГ [61]. ГнРГ активирует рецепторы, экспрессируемые на клетках Лейдига и клетках Сертоли, и таким образом стимулирует секрецию тестостерона семенниками [2]. После однократной инъекции ГнРГ наблюдали значительное увеличение концентрации тестостерона в плазме крови [58]. Имплантаты, постепенно высвобождающие агонисты ГнРГ, дают возможность обратимого временного подавления эндокринной функции яичек [29, 34], так как снижают чувствительность гипофиза к стимулирующему эффекту ГнРГ, блокируют высвобождение ЛГ гипофизом посредством

каскадного эффекта, тем самым уменьшая выработку тестостерона яичками и снижая его концентрацию в плазме [2, 28]. У крыс после применения 4,7 мг деслорелина длительного действия подкожно через 6 мес. наблюдали очень низкие концентрации тестостерона, что продолжалось до 11-го мес. после удаления имплантата [26]. У пациентов, переведённых с антагониста на агонист ГнРГ, не происходит увеличения выработки тестостерона, несмотря на всплеск выброса ЛГ [62].

Имплантаты агонистов ГнРГ медленного высвобождения используют для обратимого медикаментозного снижения функции яичек у собак-самцов в качестве альтернативы хирургическому вмешательству [32, 63]. После имплантации препарата деслорелина в дозе 4,7 мг 5 взрослым самцам собак породы бигль концентрация тестостерона в их сыворотке крови значительно снизилась к началу аспермии на 14-й (4 особи) или 21-й день (1 животное), но вернулась к исходному уровню к 105-му дню (15-я нед.). Деслорелин привёл к невосприимчивости яичек к ЛГ, не влияя на чувствительность к андрогенам [30].

50 здоровых собак-самцов (12–48 мес.; 9–40 кг) получали 4,7 мг деслорелина в виде имплантатов ($n = 45$) или служили в качестве контрольной группы ($n = 5$). Уровень тестостерона не различался между группами животных до лечения, но был значительно снижен во все моменты времени после применения препарата. После удаления имплантата содержание плазменного тестостерона увеличилось, но «перезапуск» был вариабельным в зависимости от индивидуального уровня исходного тестостерона. Имплантаты деслорелина представляют собой подходящую альтернативу хирургической кастрации с индивидуальными вариациями, которые следует учитывать при использовании в клинической практике [32]. Есть данные, что содержание тестостерона в крови собак быстро увеличивается после удаления имплантата с деслорелина (5 мес. в тканях) и не отличались от контроля уже на 14-е сут. [33].

У интактных кобелей ($n = 42$) разных пород введение ГнРГ вызывало повышение концентрации ЛГ, ФСГ, эстрадиола и тестостерона в плазме крови. После хирургической кастрации базальные и ГнРГ-индуцированные уровни ФСГ и ЛГ в плазме резко возрастали, но снизились базальные и ГнРГ-индуцированные концентрации эстрадиола и тестостерона. После химической кастрации при использовании деслорелина содержание ЛГ и ФСГ в плазме крови стало ниже, чем до применения ГнРГ-агониста, и ниже по сравнению с аналогичным интервалом после хирургической кастрации. Введение ГнРГ уже химически кастрированным самцам собак вызывало значительное увеличение концентрации в плазме ЛГ, но не ФСГ, что указывает на дифференциальную регуляцию высвобождения этих гонадотропинов. Через 4,4 мес. (в среднем 133 ± 4 дня) гонадотрофы гипофиза снова стали чувствительны к ГнРГ у кобелей с имплантатами [63].

После имплантации по 4,7 мг деслорелина длительного высвобождения 4 самцам макак-резусов подавление секреции тестостерона наблюдали у всех субъектов, но время от имплантации до снижения уровня тестостерона и длительность такого эффекта различались. У двух макак произошла гормональная супрессия к 26-му дню после имплантации и продолжалась не менее 6 мес. У двух других обезьян гормональная супрессия отмечена через 2 мес.; из этих двух у одной содержание тестостерона оставалось ниже нормы в течение 70 дней, а у другой – не менее 245 дней. Деслорелин может безопасно подавлять секрецию тестостерона у самцов макак-резусов, но при определении временных точек для реимплантации и потенциального возвращения к репродуктивной активности следует учитывать индивидуальные различия в начале и продолжительности действия [34].

Имплантат деслорелина (4,7 мг) подавляет половое диморфное поведение у половозрелых котов без каких-либо побочных эффектов и с полной обратимостью, однако продолжительность подавления очень индивидуальна [64]. По данным R. Novotny и соавт. [37], длительное применение имплантата деслорелина в дозе 4,7 мг у котов привело к значительному снижению содержания тестостерона в период между 5 и 7 мес. Но R. Nuñez Favre и соавт. [38] отметили резкое снижение концентрации тестостерона в сыворотке крови уже через 2–4 нед. после применения этого же препарата в указанной дозе.

У взрослых самцов *Oryx dammah* концентрация тестостерона в плазме крови в день установки имплантата деслорелина (14,1 мг или 9,4 мг) была выше, чем через 3 мес., но с различными вариациями результата [39]. Интактные жеребцы отвечают на введение агониста ГнРГ бусерелина высвобождением тестостерона, чего не было ($p < 0,001$) в группах с инъекциями бусерелина после имплантаций деслорелина в дозе 4,7 или 18,8 мг. Падение уровня тестостерона на фоне иммунизации против ГнРГ можно отменить инъекциями бусерелина [16, 40]. У самцов половозрелых габонских оленей агонист ГнРГ медленного высвобождения привёл к снижению концентрации тестостерона ($p < 0,05$), но не до неопределяемого уровня [15].

У баранов и самцов кроликов имплантаты деслорелина в дозе 4,7 мг не приводят к заметному изменению концентрации тестостерона в крови даже через 5 мес. [41]. *Argyrosomus regius* отвечают на имплантацию препарата агониста ГнРГ повышением уровней тестостерона и 11-кетотестостерона в плазме крови [42].

Несомненно, аналоги ГнРГ за счёт действия на гипофиз и, возможно, периферические мишени меняют соотношение гормонов в организме. У самцов животных происходит практически полная блокада продукции ФСГ, ЛГ и тестостерона, несмотря на дифференциальную регуляцию их высвобождения. Необходимо обратить внимание на то, что в некоторых случаях не было найдено изменений сывороточного тестостерона после применения ГнРГ, а иногда сообщают даже о восстановлении и увеличении секреции гонадотропинов и тестостерона, что, возможно, связано с видоспецифичностью эффекта ГнРГ-агонистов.

ЭФФЕКТ АГОНИСТОВ ГОНАДОТРОПИН-РИЛИЗИНГ-ГОРМОНА ПРИ РАКЕ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Высокоэффективные агонисты ГнРГ широко применяю для лечения рака предстательной железы человека, андроген-зависимой патологии. ГнРГ оказывает антипролиферативное действие на клеточные элементы карцином предстательной железы. Вместе с этим увеличивается митотическая активность клеток лимфоидной ткани; это указывает на то, что этот рилизинг также является важным иммуномодулятором [65]. Длительное лечение аналогами ГнРГ андроген-чувствительного рака простаты обычно подавляет как синтез, так и высвобождение гонадотропинов, что приводит к истощению уровня тестостерона в яичках [9].

Химическую кастрацию при раке предстательной железы можно провести посредством применения агонистов ГнРГ. Их эффект отличается начальной вспышкой секреции гонадотропинов и тестостерона. Хотя этот препарат первоначально подавляет синтез ЛГ и ФСГ, после окончания лечения происходит восстановление уровня ФСГ. Этот отскок потенциально вреден, учитывая возможную экспрессию рецепторов ФСГ в тканях рака простаты [66]. Следует учитывать, что в то время как медикаментозная (агонист ГнРГ) или хирургическая кастрация снижает уровень тестостерона в сыворотке примерно на 97 %, значительная концентрация тестостерона и дигидротестостерона остаётся в предстательной железе и продолжает активировать андрогенные рецепторы [8].

В то время как однократная доза Бусерелина стимулирует выделение гонадотропинов гипофизом, многократные дозы вызывают его обратимую десенсибилизацию, и эта специфическая блокада поддержки гонад гонадотропином обеспечивает основу для эффективности препарата в условиях, зависящих от секреции половых гормонов. Таким образом, Бусерелин обеспечивает сравнимую эффективность с орхиэктомией или высокими дозами эстрогенов при лечении гормоночувствительного рака простаты и при этом имеет меньшую частоту побочных эффектов: меньше вероятность развития серьёзных неблагоприятных эффектов со стороны сердечно-сосудистой системы и не были отмечены даже болезненные приливы. На ранней стадии лечения аналоги ГнРГ могут быть особенно полезны в сочетании с антиандрогенами [67]. Однако другие исследователи отмечают, что уменьшение выработки половых стероидов при продолжении лечения ГнРГ всё-таки приводит к приливам и потере либидо у большинства пациентов [68].

Воздействие агонистом ГнРГ в сочетании с антиандрогеном Нилутамидом уменьшало секрецию андрогенов и, следовательно, облегчало действие антиандрогена в андроген-зависимых тканях. Такое комбинированное лечение целесообразно при терапии андроген-зависимых патологий у человека, особенно при аденокарциноме предстательной железы и, возможно, при доброкачественной гиперплазии этого органа [49]. Клинический и эндокринный ответ на препарат-депо Золадекс был оценен у 55 нелеченых пациентов с запущенным раком предстательной железы. Подавление гонадных андрогенов было достигнуто у всех пациентов [67].

Крысам с гормонзависимой аденокарциномой простаты (R3327-H) имплантировали агонист ГнРГ Золадекс-депо каждые 2, 4 или 6 нед. Скорость роста опухоли была одинаковой в группе после хирургической кастрации и у животных, получавших каждые 2 нед. Золадекс, но значительно ниже, чем у крыс, леченых Золадексом каждые 6 нед., и в группе без лечения. Скорость роста рака у животных, получавших препарат каждые 4 нед., оказалась незначительно выше, чем после кастрации. Концентрация тестостерона, измеренная во время лечения Золадексом, коррелировала с кинетикой роста опухоли. Гистология опухоли показала, что стромальные, а также железистые эпителиальные клетки реагировали как на кастрацию, так и на лечение Золадексом. Однако в опухолях крыс, получавших Золадекс каждые 4 или 6 нед., наблюдали прогрессирующее нарастание признаков восстановления клеточных элементов рака, сравнимое с нелеченными опухолями. Имплантация Золадекса даёт эффективную и полную андрогенную депривацию только у крыс с двумя режимами возобновления депо. Необходимо внимательно следить за сроками введения Золадекса-депо при лечении рака предстательной железы [69].

Считается, что Бусерелин действует, главным образом подавляя ось гипофиз – яички и, следовательно, уменьшая уровень тестостерона. Так как сайты связывания аналогов ГнРГ присутствуют на ткани опухоли предстательной железы, можно предположить, что эти препараты могут также воздействовать непосредственно на опухоль. Два мощных агониста ГнРГ (Золадекс и Бусерелин) оказывают значительное и дозозависимое антипролиферативное прямое действие на андроген-независимые клетки рака предстательной железы человека DU 145 после 4 дней воздействия. Ингибирующему эффекту Золадекса и Бусерелина полностью противодействует одновременная обработка клеток сильным антагонистом ГнРГ, что позволяет предположить, что действие агонистов ГнРГ может быть опосредовано специфическими рецепторами [70].

Длительная терапия препаратом-депо вызывает частичную ремиссию или стабилизацию заболевания примерно у 75 % мужчин с ранее не леченным раком предстательной железы, что эквивалентно частоте, достигнутой при орхиэктомии или применении диэтилстильбестрола (стильбэстрол). Реакция на ГнРГ более быстрая, чем на диэтилстилбестрол, а ГнРГ переносится лучше, но повышение уровня тестостерона в начале терапии ГнРГ может привести к «вспышке» заболевания у мужчин с раком простаты. Таким образом, ГнРГ являются эффективной альтернативой хирургии или терапии эстрогенами рака предстательной железы. Выбор между ГнРГ и орхиэктомией может быть сделан на основе предпочтений пациента в отношении лечения, а также конкретных характеристик личности больного [68].

Агонист ГнРГ, вводимый взрослым мужчинам при раке предстательной железы, вызывает заметное ингибирование продукции сывороточного тестостеро-

на и дигидротестостерона до уровней кастрации в течение 1–2 нед. Снижение уровня андрогенов в сыворотке крови сопровождается объективной ремиссией рака примерно в 75 % случаев Введение чистого антиандрогена мужчинам при раке предстательной железы, уже получающим агонист ГнРГ, не влияет на индуцированную агонистом ГнРГ блокировку биосинтеза андрогенов: более того, объективные признаки ремиссии заболевания были быстро отмечены у 8 из 10 пациентов [50].

79 пациентов с местно-распространённым и/или метастатическим раком предстательной железы были пролечены биоразлагаемой формой агониста ГнРГ Гозерелина-депо (имплантат Золадекс подкожно 3,6 мг с 4-недельными интервалами). Среднее время наблюдения составило 24,2 мес. Наилучшая объективная доля ответов была найдена у 62 % пациентов. Уровень сывороточного тестостерона повышался после первой инъекции депо, а затем в конечном итоге снижался до диапазона кастрации (менее 0,6 нг/мл) между 15-м и 27-м днями (медиана – 21 день) терапии у большинства больных. Такой уровень тестостерона всё ещё был обнаружен через 48 мес. после начала лечения Гозерелин-депо. Через 6 мес. после начала лечения в 66,7 % случаев в первичной опухолевой ткани были обнаружены явные признаки гистологической регрессии. Аденокарцинома характеризуется значительно более высокой реакцией на применение агонистов ГнРГ, чем анапластическая карцинома [47].

Чтобы блокировать влияние андрогенов, поступающих из всех источников, на рост рака предстательной железы, использовали гормональную терапию, основанную на медицинской кастрации, достигнутой с помощью мощного агониста ГнРГ, в сочетании с введением чистого антиандрогена, который нейтрализует действие андрогенов надпочечников, а также тех, которые всё ещё секретируются в небольших количествах яичками даже во время лечения агонистом ГнРГ. Исследование было выполнено на 10 пациентах с запущенной карциномой предстательной железы. Боль в костях, простатизм и общее самочувствие улучшились на 60–90 % в течение 1 мес. после начала лечения у всех пациентов. Через 2 мес. лечения минимальный уровень боли в костях сохранялся только у одного пациента, который изначально уже был прикован к постели. Сканирование костей показало снижение объёма метастазов на 70–90 % после 3–5 мес. лечения. Уровни кислой фосфатазы были снижены на 60–90 % через 2 мес. лечения у 3 из 4 пациентов, которые имели повышенное содержание до терапии. Отмеченное объективное и субъективное улучшение, таким образом, произошло очень быстро у 9 из 10 пациентов, получавших комбинированную терапию, в то время как у оставшегося пациента задокументировано только субъективное улучшение [71].

Большинство случаев рака мочеполовой системы само по себе оказывают негативное влияние на мужскую фертильность, особенно у пациентов, переживших рак в подростковом или молодом возрасте. Кроме того, более выраженным супрессивным эффектом обладают все методы лечения онкологических заболеваний. Среди прочих, сохранение фертильности, возможно, включает гормональные манипуляции аналогами ГнРГ, но этот вопрос до сих пор остаётся спорным [72, 73]. При изучении литературных данных о защитном действии препаратов ГнРГ на клетки и ткани половых органов при химиотерапии и облучении обращает на себя внимание явная противоречивость публикаций: от хорошего эффекта с быстрым восстановлением функциональной активности до слабой или даже полностью отсутствующей положительной динамики. Эти аспекты влияния ГнРГ на половую систему мужчин и самцов животных наименее изучены и нуждаются в дальнейших исследованиях в связи с возможной высокой перспективностью.

Основная масса работ по изучению токсичности и онкогенности агонистов ГнРГ свидетельствуют об отсутствии указанных побочных эффектов. Единичные работы, указывающие на развитие опухолей в результате применения препаратов ГнРГ, носят предположительный характер, но их всё равно надо принимать во внимание. Вместе с работами, демонстрирующими отсутствие онкогенного потенциала агонистов ГнРГ, имеется сообщение о развитии альфа-фетопротеин-негативной гепатоцеллюлярной карциномы с метастазированием в брюшную стенку в пределах ранее (с детства) существовавшей подкожной липомы. Опухоль появилась после лечения Лейпрорелином и ацетатом Бусерелина рака предстательной железы без метастазов. Не исключено, что предыдущее антиандрогенное лечение рака простаты способствовало развитию альфа-фетопротеин-отрицательного и андроген-рецептор-отрицательного подкожного абдоминального метастаза в стенку уже существующей липомы [74].

Андрогенная депривационная терапия является основным методом лечения метастатического рака предстательной железы; кроме агонистов ГнРГ, эффект может быть достигнут антагонистами гормона, что связано со значительно более низким уровнем общей смертности и сердечно-сосудистых событий по сравнению с агонистами [75]. В последнее время появились препараты антагонистов ГнРГ для перорального применения (Релуголикс), которые не менее эффективны, чем применяемые парентеральные препараты (дегареликс), при лечении рака простаты, но имеют меньшую частоту и выраженность нежелательных побочных явлений [76]

За счёт прямого и опосредованного влияния на половые органы пациентов мужского пола агонисты ГнРГ широко и успешно применяют в комплексном терапевтическом лечении рака предстательной железы. Ингибирующему эффекту ГнРГ полностью противодействует одновременное применение *in vitro* сильного антагониста, что позволяет предположить, что непосредственное действие на опухоль опосредовано специфическими рецепторами. Аналоги ГнРГ обеспечивают сравнимую эффективность с орхиэктомией или высокими дозами эстрогенов, и при этом зарегистрирована меньшая частота побочных эффектов. ГнРГ оказывает антипролиферативное действие на клеточные элементы карцином предстательной железы с увеличением митотической активности клеток лимфоидной ткани. Вместе с этим есть мнение о том, что агонисты ГнРГ

не ингибируют полностью пролиферацию клеток рака простаты, прямое подавление митотической активности вряд ли является основным механизмом противоопухолевого действия подобных препаратов. В любом случае необходимо внимательно следить за сроками введения имплантатов с длительным высвобождением активных субстанций при лечении рака предстательной железы, учитывать тип опухоли и её гормончувствительность, а также возможность гормонального отскока после окончания лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно сделать заключение, что основные исследования эффекта агонистов ГнРГ на репродуктивные органы мужчин и самцов экспериментальных животных были начаты ещё в конце прошлого столетия, но продолжаются и в настоящее время. Практически все исследователи утверждают, что агонисты ГнРГ подавляют функции яичек. Но относительно механизмов этого эффекта нет однозначного мнения: часть учёных считают возможным прямое действие препаратов на клетки яичек, другие полагают такое воздействие опосредованным через другие гормоны, в том числе гипофизарные. Кроме того, агонисты ГнРГ вызывают увеличение проницаемости сосудов яичка с накоплением и миграцией через эндотелий нейтрофилов (у крыс) или без этого (мыши). Изменения функций яичек сопровождаются уменьшением их веса, но эти изменения чаще всего являются обратимыми. Большинство опубликованных статей приводят факты об уменьшении массы с атрофией тканей предстательной железы и семенных пузырьков после применения аналогов ГнРГ. Эффект аналогичен хирургической кастрации, но проявляется несколько позже и иногда менее выражен, так как синтез тестостерона полностью не подавляется. Аналоги ГнРГ за счёт действия на гипофиз и, возможно, периферические мишени, меняют соотношение гормонов в организме: происходит практически полная блокада продукции ФСГ, ЛГ и тестостерона. Агонисты ГнРГ широко и успешно применяют в комплексном терапевтическом лечении рака предстательной железы. Препараты данной группы обеспечивают сравнимую эффективность с орхиэктомией или высокими дозами эстрогенов, при этом зарегистрирована меньшая частота побочных эффектов. ГнРГ оказывает антипролиферативное действие на клеточные элементы карцином предстательной железы, но вместе с этим есть мнение о том, что агонисты ГнРГ не ингибируют пролиферацию клеток рака простаты, прямое подавление митотической активности вряд ли является основным механизмом противоопухолевого действия подобных препаратов. При изучении данных о защитном действии препаратов ГнРГ на клетки и ткани половых органов при химиотерапии и облучении обращает на себя внимание явная противоречивость публикаций: от хорошего эффекта с быстрым восстановлением функциональной активности до слабой или даже полностью отсутствующей положительной динамики. Основная масса работ по изучению токсичности и онкогенности агонистов ГнРГ свидетельствует об отсутствии указанных побочных эффектов. В любом случае противоречивость публикаций по каждому из аспектов эффектов ГнРГ свидетельствует об их малой изученности, целесообразности дальнейшего продолжения не только прикладных, но и фундаментальных исследований в связи с возможной высокой перспективностью.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2022–2024 гг. «Изучение морфологических и молекулярных особенностей органопатий при изолированном и сочетанном воздействии ведущих метаболических факторов риска хронических неинфекционных заболеваний» (код темы FGMU-2022-0030, № государственной регистрации 122032300164-6). Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей оборудования, реактивов и лекарственных препаратов авторы не получали.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Meccariello R, Fasano S, Pierantoni R. Kisspeptins, new local modulators of male reproduction: A comparative overview. *Gen Comp Endocrinol*. 2020; 299: 113618. doi: 10.1016/j.ygcen.2020.113618

2. Zhao W, Adjei M, Zhang Z, Yuan Z, Cisang Z, Song T. The role of GnRH in Tibetan male sheep and goat reproduction. *Reprod Domest Anim.* 2023; 58: 1179-1187. doi: 10.1111/rda.14432

3. Evans MC, Anderson GM. The role of RFRP neurons in the allostatic control of reproductive function. *Int J Mol Sci*. 2023; 24: 15851. doi: 10.3390/ijms242115851

4. Verrotti A, Penta L, Zenzeri L, Lucchetti L, Giovenali P, De Feo P. True precocious puberty following treatment of a Leydig cell tumor: Two case reports and literature review. *Front Pediatr.* 2015; 3: 93. doi: 10.3389/fped.2015.00093

5. Schagen SE, Cohen-Kettenis PT, Delemarre-van de Waal HA, Hannema SE. Efficacy and safety of gonadotropin-releasing hormone agonist treatment to suppress puberty in gender dysphoric adolescents. *J Sex Med.* 2016; 13: 1125-1132. doi: 10.1016/j.jsxm.2016.05.004

6. Giannakopoulos A, Fryssira H, Tzetis M, Xaidara A, Kanaka-Gantenbein C. Central precocious puberty in a boy with 22q13 deletion syndrome and *NOTCH-1* gene duplication. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2016; 29: 1307-1311. doi: 10.1515/jpem-2015-0484

7. Pereira SA, Oliveira FCB, Naulé L, Royer C, Neves FAR, Abreu AP, et al. Mouse testicular Mkrn3 expression is primarily interstitial, increases peripubertally, and is responsive to LH/hCG. *Endocrinology*. 2023; 164: bqad123. doi: 10.1210/endocr/bqad123

8. Labrie F. Combined blockade of testicular and locally made androgens in prostate cancer: A highly significant medical progress

based upon intracrinology. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015; 145: 144-156. doi: 10.1016/j.jsbmb.2014.05.012

9. Hori JI, Koga D, Kakizaki H, Watanabe T. Differential effects of depot formulations of GnRH agonist leuprorelin and antagonist degarelix on the seminiferous epithelium of the rat testis. *Biomed Res*. 2018; 39: 197-214. doi: 10.2220/biomedres.39.197

10. Demir A, Büyükgebiz A, Aydin A, Hero M. Quantification of overnight urinary gonadotropin excretion predicts imminent puberty in girls: A semi-longitudinal study. *Hormones (Athens)*. 2023; 23(1): 141-145. doi: 10.1007/s42000-023-00499-7

11. Moradi SV, Varamini P, Toth I. Evaluation of the biological properties and the enzymatic stability of glycosylated luteinizing hormone-releasing hormone analogs. *AAPS J*. 2015; 17: 1135-1143. doi: 10.1208/s12248-015-9769-x

12. Jyrkäs J, Lassila T, Tolonen A. Extrahepatic *in vitro* metabolism of peptides; comparison of human kidney and intestinal S9 fraction, human plasma and proximal tubule cells, using cyclosporine A, leuprorelin, and cetrorelix as model compounds. *J Pharm Biomed Anal*. 2023; 225: 115219. doi: 10.1016/j.jpba.2022.115219

13. Birrell JR, Schulman ML, Botha AE, Ganswindt A, Fosgate GT, Bertschinger HJ. Vaccination against GnRH as a prelude to surgical castration of horses. *Equine Vet J*. 2021; 53: 1141-1149. doi: 10.1111/evj.13411

14. Rosenfield DA, Nichi M, Losano JDA, Kawai G, Leite RF, Acosta AJ, et al. Field-testing a single-dose immunocontraceptive in free-ranging male capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*): Evaluation of effects on reproductive physiology, secondary sexual characteristics, and agonistic behavior. *Anim Reprod Sci*. 2019; 209: 106148. doi: 10.1016/j.anireprosci.2019.106148

15. Giriboni J, Lacuesta L, Santiago-Moreno J, Ungerfeld R. Chronic use of a GnRH agonist (deslorelin) or immunization against GnRH: Effects on testicular function and sperm quality of bucks. *Domest Anim Endocrinol*. 2020; 71: 106395. doi: 10.1016/j.domaniend.2019.106395

16. Gautier C, Aurich J, Kaps M, Okada CTC, Wagner LH, Melchert M, et al. Re-stimulation of testicular function in GnRH-vaccinated stallions by daily GnRH agonist treatment. *Theriogenology*. 2022; 194: 27-34. doi: 10.1016/j.theriogenology.2022.09.011

17. Zvereva I, Dudko G, Dikunets M. Determination of GnRH and its synthetic analogues' abuse in doping control: Small bioactive peptide UPLC-MS/MS method extension by addition of *in vitro* and *in vivo* metabolism data; evaluation of LH and steroid profile parameter fluctuations as suitable biomarkers. *Drug Test Anal*. 2018; 10: 711-722. doi: 10.1002/dta.2256

18. Prestel L, Joerling J, Failing K, Wagner H, Wehrend A. Suppression of reproductive function in juvenile rams by a slow-release gonadotropin-releasing hormone implant. *Open Vet J*. 2022; 12: 171-181. doi: 10.5455/OVJ.2022.v12.i2.3

19. Yutong M, Liang Y, Chunjie S, Xiaolin G, Xiaoyan G, Lin D, et al. Pharmacological and toxicological studies of a novel goserelin acetate extended-release microspheres in rats. *Front Pharmacol*. 2023; 14: 1125255. doi: 10.3389/fphar.2023.1125255

20. Meccariello R, Fasano S, Pierantoni R. Kisspeptins, new local modulators of male reproduction: A comparative overview. *Gen Comp Endocrinol*. 2020; 299: 113618. doi: 10.1016/j.ygcen.2020.113618

21. Huhtaniemi IT, Clayton RN, Catt KJ. Gonadotropin-releasing hormone agonist analog-induced steroidogenic lesion in the neonatal rat testis: Evidence for direct gonadal action. *Endocrinology*. 1984; 115: 233-238. doi: 10.1210/endo-115-1-233

22. Hadziselimovic F, Verkauskas G, Vincel B, Stadler MB. Testicular expression of long non-coding RNAs is affected by curative GnRHa treatment of cryptorchidism. *Basic Clin Androl*. 2019; 29: 18. doi: 10.1186/s12610-019-0097-3

23. Cheng PJ, Pastuszak AW, Myers JB, Goodwin IA, Hotaling JM. Fertility concerns of the transgender patient. *Transl Androl Urol*. 2019; 8: 209-218. doi: 10.21037/tau.2019.05.09

24. Adeleye AJ, Stark BA, Jalalian L, Mok-Lin E, Smith JF. Evidence of spermatogenesis in the presence of hypothalamic suppression and low testosterone in an adolescent transgender female: A case report. *Transgend Health*. 2023; 8: 104-107. doi: 10.1089/trgh.2021.0034

25. Peirouvi T, Salami S. GnRH agonist induces apoptosis in seminiferous tubules of immature rats: Direct gonadal action. *Andrologia*. 2010; 42: 231-235. doi: 10.1111/j.1439-0272.2009.00982.x

26. Eşki F, Çetin N, Uslu S, Uslu BA, Şendağ S, Yörük M, et al. Effects of long-term release GnRH agonist "deslorelin" on testicular HSP expression, accessory sex glands and testicular functions in adult male rats. *Theriogenology*. 2013; 134: 104-111. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.05.016

27. Goblet CC, Moresco A, Garner MM, Agnew DW, Newell-Fugate AE. Retrospective characterization of reproductive tract lesions in relation to age, parity, and contraception in captive suidae and tayassuidae. *Theriogenology*. 2019; 127: 137-144. doi: 10.1016/j.theriogenology.2019.01.012

28. Driancourt MA, Briggs JR. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist implants for male dog fertility suppression: A review of mode of action, efficacy, safety, and uses. *Front Vet Sci*. 2020; 7: 483. doi: 10.3389/fvets.2020.00483

29. Stempel S, Goericke-Pesch S. GnRH-Agonisten in der Kleintierpraxis – Was wissen wir 13 Jahre nach der EU-Zulassung? [GnRH agonist implants in small animal practice – What do we know 13 years following EU registration?]. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*. 2020; 48: 420-432. (In German). doi: 10.1055/a-1274-9268

30. Balogh O, Somoskői B, Kollár E, Kowalewski MP, Gram A, Reichler IM, et al. Anti-Müllerian hormone, testosterone, and insulin-like peptide 3 as biomarkers of Sertoli and Leydig cell function during deslorelin-induced testicular downregulation in the dog. *Theriogenology*. 2021; 175: 100-110. doi: 10.1016/j.theriogenology.2021.08.017

31. Faya M, Marchetti C, Priotto M, Grisolía M, D'Francisco F, Gobello C. Postponement of canine puberty by neonatal administration of a long term release GnRH superagonist. *Theriogenology*. 2018; 118: 190-195. doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.05.043

32. Vasetska A, Körber H, Pilgram C, Schuler G, Aslan S, Saral G, et al. The use of a 4.7 mg deslorelin slow release implant in male dogs in the field. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*. 2023; 51: 231-241. doi: 10.1055/a-2142-4194

33. Stempel S, Körber H, Reifarth L, Schuler G, Goericke-Pesch S. What happens in male dogs after treatment with a 4.7 mg deslorelin implant? II. Recovery of testicular function after implant removal. *Animals (Basel)*. 2022; 12: 2545. doi: 10.3390/ani12192545

34. Tran HD, Carroll KE, Mackiewicz AL, Ardeshir A, Stockinger D, de Lucena T, et al. Effects of deslorelin on testosterone secretion and testicular volume in male rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *J Am Assoc Lab Anim Sci Epub*. 2023; 62(6): 525-530. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-22-000116

35. Mehl NS, Khalid M, Srisuwatanasagul S, Swangchan-Uthai T, Sirivaidyapong S. GnRH-agonist implantation of prepubertal male cats affects their reproductive performance and testicular LH receptor and FSH receptor expression. *Theriogenology*. 2016; 85: 841-848. doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.10.031

36. Romagnoli S, Baldan A, Ferro S, Righetti C, Scenna L, Gabai G, et al. Length of efficacy and effect of implant location in adult tom cats treated with a 9.4 mg deslorelin subcutaneous implant. *J Feline Med Surg*. 2019; 21: 507-519. doi: 10.1177/1098612X18788157

37. Novotny R, Vitasek R, Bartoskova A, Cizek P, Prinosilova P, Novakova K. Azoospermia with variable testicular histology after 7 months of treatment with a deslorelin implant in toms. *Theriogenology*. 2015; 83: 1188-1193. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.12.026

38. Nuñez Favre R, García MF, García Mitacek MC, Rearte R, Fontaine C, de la Sota RL, et al. Reestablishment of sperm quality after long-term deslorelin suppression in tomcats. *Anim Reprod Sci*. 2018; 195: 302-308. doi: 10.1016/j.anireprosci.2018.06.008

39. Bonacina E, Negri G, Mattiello S, Gabai G, Groppetti D. Deslorelin subcutaneous implants in Oryx dammah males for reproductive control. *Theriogenology*. 2020; 149: 72-78. doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.03.018

40. Gautier C, Schmidt K, Aurich J, Aurich C. Effects of implants containing the GnRH agonist deslorelin on testosterone release and semen characteristics in Shetland stallions. *Anim Reprod Sci*. 2018; 195: 230-241. doi: 10.1016/j.anireprosci.2018.05.027

41. Goericke-Pesch S, Groeger G, Wehrend A. The effects of a slow release GnRH agonist implant on male rabbits. *Anim Reprod Sci*. 2015; 152: 83-89. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.11.002

42. Fakriadis I, Zanatta EM, Fleck RPDS, Sena Mateo DL, Papadaki M, Mylonas CC. Endocrine regulation of long-term enhancement of spermiation in meagre (*Argyrosomus regius*) with GnRHa controlled-delivery systems. *Gen Comp Endocrinol*. 2020; 297: 113549. doi: 10.1016/j.ygcen.2020.113549

43. Baş F, Abalı ZY, Toksoy G, Poyrazoğlu *Ş, Bundak* R, Güleç *Ç,* et al. Precocious or early puberty in patients with combined pituitary hormone deficiency due to POU1F1 gene mutation: Case report and review of possible mechanisms. *Hormones (Athens)*. 2018; 17: 581-588. doi: 10.1007/s42000-018-0079-4

44. Sansone A, Schubert M, Tüttelmann F, Krallmann C, Zitzmann M, Kliesch S, et al. Pituitary response to GnRH stimulation tests in different FSHB-211 G/T genotypes. *Hum Reprod*. 2021; 36: 1376-1382. doi: 10.1093/humrep/deab033

45. Trachtenberg J. The effect of the chronic administration of a potent luteinizing hormone releasing hormone analog on the rat prostate. *J Urol.* 1982; 128: 1097-1100.

46. Lamberts SW, Uitterlinden P, de Jong FH. Rat prostatic weight regression in reaction to ketoconazole, cyproterone acetate, and RU 23908 as adjuncts to a depot formulation of gonadotropin-releasing hormone analogue. *Cancer Res.* 1988; 48(21): 6063-6068.

47. Kuber W, Treu T, Kratzik C, Girsch E, Zeillinger R, Spona J. Chemical castration using a depot LHRH-agonist as a palliative therapy concept in prostatic carcinoma – Clinical, endocrinological and experimental studies. *Wien Klin Wochenschr.* 1990; 102: 640-647.

48. Moguilewsky M, Tournemine C. The antiandrogen anandron potentiates the castrating effect of the LH-RH agonist buserelin in the rat. *Am J Clin Oncol.* 1988; 11(Suppl 2): S148-S151.

49. Séguin C, Cusan L, Bélanger A, Kelly PA, Labrie F, Raynaud JP. Additive inhibitory effects of treatment with an LHRH agonist and an antiandrogen on androgen-dependent tissues in the rat. *Mol Cell Endocrinol.* 1981; 21: 37-41.

50. Labrie F, Dupont A, Belanger A, Lefebvre FA, Cusan L, Monfette G, et al. New hormonal treatment in cancer of the prostate: Combined administration of an LHRH agonist and an antiandrogen. *J Steroid Biochem*. 1983; 19: 999-1007.

51. Maezawa H, Komatsu H, Kawaoi A, Ueno A. Potentiating effect of buserelin acetate, an LHRH agonist, on the proliferation of ventral prostatic epithelial cells in testosterone-treated castrated rats. *Int J Urol*. 1997; 4: 411-416.

52. Khadivi B, Peirouvi T, Javanmardi MZ, Rasmi Y. Short-term buserelin administration induces apoptosis and morphological changes in adult rat testes. *Acta Cir Bras*. 2017; 32: 140-147. doi: 10.1590/s0102-865020170206

53. van Steenbrugge GJ, Romijn JC, de Jong FH, Schröder FH. Unresponsiveness of the reproductive organs of the male mouse to treatment with a potent luteinizing hormone-releasing hormone agonist (ICI-118,630). *Urol Res.* 1984; 12: 175-178.

54. Dubé JY, Frenette G, Tremblay RR, Tremblay Y, Bélanger A. Involution of spontaneous benign prostatic hyperplasia in the dog under the influence of chronic treatment with a LHRH agonist. *Prostate.* 1984; 5: 417-423.

55. Damber JE, Bergh A, Widmark A. Effect of an LHRH-agonist on testicular microcirculation in hypophysectomized rats. *Int J Androl*. 1987; 10: 785-791.

56. Bergh A, Damber JE. Treatment with an LHRH agonist or hCG increases interstitial fluid volume and permeability to Evans blue in the mouse testis. *Int J Androl*. 1988; 11: 449-456.

57. Ungerfeld R, Fila D. Testicular fluid content evaluated by ultrasound image computer-assisted analysis increases with small-dose multiple GnRH injections in rams. *Reprod Domest Anim*. 2011; 46: 720-723. doi: 10.1111/j.1439-0531.2010.01735.x

58. El-Shalofy AS, Hedia MG. Effects of buserelin administration on testicular blood flow and plasma concentrations of testosterone and estradiol-17β in rams. *Domest Anim Endocrinol.* 2021; 77: 106646. doi: 10.1016/j.domaniend.2021.106646

59. Vencato J, Cestaro L, Vazzana I, Carrer G, Carlo E, Dara S, Stelletta C. Integrated evaluation of scrotal temperature and testosteronemia after GnRH administration in young bulls with low semen production. *Reprod Domest Anim*. 2014; 49: 481-486. doi: 10.1111/rda.12315

60. Roelfsema F, Liu PY, Takahashi PY, Yang RJ, Veldhuis JD. Dynamic interactions between LH and testosterone in healthy community-dwelling men: Impact of age and body composition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020; 105: e628-e641. doi: 10.1210/clinem/dgz246

61. Chung JY, Brown S, Chen H, Liu J, Papadopoulos V, Zirkin B. Effects of pharmacologically induced Leydig cell testosterone production on intratesticular testosterone and spermatogenesis. *Biol Reprod*. 2020; 102: 489-498. doi: 10.1093/biolre/ioz174

62. Taniguchi H, Katano T, Nishida K, Kinoshita H, Matsuda T, Ito S. Elucidation of the mechanism of suppressed steroidogenesis during androgen deprivation therapy of prostate cancer patients using a mouse model. *Andrology*. 2016; 4: 964-971. doi: 10.1111/andr.12213

63. Spruijt A, Kooistra H, Oei C, Vinke C, Schaefers-Okkens A, De Gier J. The function of the pituitary-testicular axis in dogs prior

to and following surgical or chemical castration with the GnRH-agonist deslorelin. *Reprod Domest Anim*. 2023; 58: 97-108. doi: 10.1111/rda.14266

64. Gültiken N, Aslan S, Ay SS, Gülbahar MY, Thuróczy J, Koldaş E, et al. Effect of deslorelin on testicular function, serum dihydrotestosterone and oestradiol concentrations during and after suppression of sexual activity in tom cats. *J Feline Med Surg*. 2017; 19: 123-131. doi: 10.1177/1098612X15615381

65. Enomoto M, Mori T, Park MK. GnRH agonist Buserelin affects colony-forming efficiency of HHUA and Jurkat cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 289: 1180-1187. doi: 10.1006/bbrc.2001.6131

66. Oduwole OO, Poliandri A, Okolo A, Rawson P, Doroszko M, Chrusciel M, et al. Follicle-stimulating hormone promotes growth of human prostate cancer cell line-derived tumor xenografts. *FASEB J*. 2021; 35: e21464. doi: 10.1096/fj.202002168RR

67. Beacock CJ, Buck AC, Zwinck R, Peeling WB, Rees RW, Turkes A, et al. The treatment of metastatic prostatic cancer with the slow release LH-RH analogue Zoladex ICI 118630. *Br J Urol*. 1987; 59: 436-442. doi: 10.1111/j.1464-410x.1987.tb04842.x

68. Sandow J. Clinical applications of LHRH and its analogues. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1983; 18: 571-592. doi: 10.1111/j.1365-2265.1983.tb00595.x

69. Geldof AA, de Voogt HJ, Rao BR. Renewal timing of long-acting depot luteinizing hormone-releasing hormone agonist (Zoladex) is critical in the treatment of hormone-dependent rat prostatic carcinoma (R3327-H). *Prostate*. 1987; 11: 281-290. doi: 10.1002/pros.2990110308

70. Dondi D, Limonta P, Moretti RM, Marelli MM, Garattini E, Motta M. Antiproliferative effects of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonists on human androgen-independent prostate cancer cell line DU 145: Evidence for an autocrine-inhibitory LHRH loop. *Cancer Res*. 1994; 54: 4091-4095.

71. Labrie F, Dupont A, Belanger A, Cusan L, Lacourciere Y, Monfette G, et al. New hormonal therapy in prostatic carcinoma: Combined treatment with an LHRH agonist and an antiandrogen. *Clin Invest Med*. 1982; 5: 267-275.

72. Rousset-Jablonski C, Chevillon F, Dhedin N, Poirot C. Préservation de la fertilité chez les adolescents et jeunes adultes traités pour cancer [Fertility preservation in adolescents and young adults with cancer]. *Bull Cancer*. 2016; 103: 1019-1034. (In French). doi: 10.1016/j.bulcan.2016.10.008

73. Gulino G, Distante A, Akhundov A, Bassi PF. Male infertility and urological tumors: Pathogenesis and therapeutical implications. *Urologia*. 2023; 90: 622-630. doi: 10.1177/03915603221146147

74. Zachau L, Zeckey C, Schlue J, Sander J, Meyer-Heithuis C, Winkler M, et al. Haematogenous abdominal wall metastasis of differentiated, alpha-fetoprotein-negative hepatocellular carcinoma after previous antiandrogen therapy within a site of lipoma manifestation since childhood. *World J Surg Oncol*. 2012; 10: 98. doi: 10.1186/1477-7819-10-98

75. Abufaraj M, Iwata T, Kimura S, Haddad A, Al-Ani H, Abusubaih L, et al. Differential impact of gonadotropin-releasing hormone antagonist versus agonist on clinical safety and oncologic outcomes on patients with metastatic prostate cancer: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur Urol*. 2021; 79: 44-53. doi: 10.1016/j.eururo.2020.06.002

76. Sari Motlagh R, Abufaraj M, Mori K, Aydh A, Rajwa P, Katayama S, et al. The efficacy and safety of Relugolix compared with Degarelix in advanced prostate cancer patients: A network meta-analysis of randomized trials. *Eur Urol Oncol*. 2022; 5: 138-145. doi: 10.1016/j.euo.2021.07.002

Сведения об авторах

Майбородин Игорь Валентинович – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории инвазивных медицинских технологий, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», e-mail: imai@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8182-5084

Шеплев Борис Валентинович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инвазивных медицинских технологий, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», e-mail: shepa@icloud.com, https://orcid.org/0009-0008-4140-3531

Information about the authors

Igor V. Maiborodin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer at the Laboratory of Invasive Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: imai@mai.ru, https://orcid.org/0000-0002-8182-5084

Boris V. Sheplev – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Invasive Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: shepa@icloud.com, https://orcid.org/0009-0008-4140-3531

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АКТИГРАФИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ХАРАКТЕРИСТИК СНА

Трусов Г.А.,
Коробейникова А.В.,
Гетманцева Л.В.,
Бакоев С.Ю.,
Ломов А.Н.,
Кескинов А.А.,
Юдин В.С.

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России (119121, г. Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Трусов Георгий Александрович,
e-mail: gtrusov@cspfmba.ru

РЕЗЮМЕ

Научные исследования указывают на важность суточных ритмов для здоровья; их нарушение связано с различными заболеваниями. Это привело к развитию циркадной медицины, акцентирующей внимание на использовании знаний о физиологических ритмах для оптимизации методов лечения и диагностики. В данной работе освещается роль актиграфии, неинвазивного метода оценки циклов активности и отдыха, в изучении и диагностике сна. Актиграфы, носимые устройства в форме часов, используют датчики движения для мониторинга активности, обеспечивая важные данные о качестве сна. Особое внимание уделено методологии получения актиграфических данных и анализу параметров сна, что включает оценку общего времени сна, эффективности сна и частоты пробуждений. Важность точной методологии и валидированных алгоритмов для анализа данных актиграфии подчёркивается через обзор различных алгоритмов оценки сна и их применение в клинических и исследовательских условиях. Дополнительно статья исследует возможности использования искусственного интеллекта, включая машинное и глубокое обучение, для улучшения анализа данных о сне. В заключении отмечается, что несмотря на надёжность актиграфии как метода определения фаз сна, необходимы дополнительные исследования для её валидации в клиническом применении. Это подчёркивает потенциал актиграфии как важного инструмента в циркадной медицине и изучении сна, требующего дальнейшего развития и интеграции с новыми технологическими достижениями.

Ключевые слова: *актиграф, циркадные ритмы, машинное обучение, фазы сна, неинвазивный мониторинг*

Статья поступила: 03.11.2023
Статья принята: 12.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Трусов Г.А., Коробейникова А.В., Гетманцева Л.В., Бакоев С.Ю., Ломов А.Н., Кескинов А.А., Юдин В.С. Использование актиграфии для оценки характеристик сна. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 100-110. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.10

USING ACTIGRAPHY TO ASSESS SLEEP CHARACTERISTICS

Trusov G.A.,
Korobeinikova A.V.,
Getmantseva L.V.,
Bakoev S.Yu.,
Lomov A.N.,
Keskinov A.A.,
Yudin V.S.

Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks (Pogodinskaya str. 10 build. 1, Moscow 119121, Russian Federation)

Corresponding author:
Georgii A. Trusov,
e-mail: gtrusov@cspfmba.ru

ABSTRACT

Research points to the importance of circadian rhythms for health; their disruptions are associated with various diseases. This has led to the development of circadian medicine, which focuses on using knowledge of physiological rhythms to optimize treatment and diagnostic methods. Our article highlights the role of actigraphy, a non-invasive method for assessing sleep-wake cycles, in the study and diagnosis of sleep. Actigraphs, wearable devices shaped like watches, use motion sensors to monitor activity, providing important data on sleep quality. Particular attention is given to the methodology for obtaining actigraphy data and the analysis of sleep parameters, which includes the assessment of total sleep time, sleep efficiency, and frequency of awakenings. The importance of accurate methodology and validated algorithms for actigraphy data analysis is emphasized through a review of various sleep assessment algorithms and their application in clinical and research settings. Additionally, the paper explores the potential use of artificial intelligence, including machine and deep learning, to improve sleep data analysis. The conclusion emphasizes that despite the reliability of actigraphy for determining sleep phases, additional studies are needed to validate it in clinical use. This highlights the potential of actigraphy as an important tool in circadian medicine and sleep studies, which requires its further development and integration with new technological advances.

Key words: *actigraph, circadian rhythms, machine learning, sleep phases, non-invasive monitoring*

Received: 03.11.2023
Accepted: 12.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Trusov G.A., Korobeinikova A.V., Getmantseva L.V., Bakoev S.Yu., Lomov A.N., Keskinov A.A., Yudin V.S. Using actigraphy to assess sleep characteristics. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 100-110. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.10

СОКРАЩЕНИЯ

BMAL1 – ARNT-подобный белок мозга и мышц (brain and muscle ARNT-like 1)
CLOCK – белок циркадных локомоторных циклов выхода kaput (circadian locomotor output cycles kaput)
CNN – свёрточная нейронная сеть (convolutional neural network)
CRY – фотолиазоподобный флавопротеин, принадлежащий к семейству криптохромов/фотолиаз (cryptochrome)
DL – глубокое обучение (deep learning), разновидность машинного обучения, в рамках которого искусственные нейронные сети обучаются на огромных объёмах данных
DT – дерево решений (decision tree)
iRBD – идиопатическое расстройство поведения во сне с быстрым движением глаз (idiopathic REM sleep behaviour disorder)
KNN – модель K-ближайшего соседа (K nearest neighbors)
LSTM – рекуррентная нейронная сеть долгой краткосрочной памяти (long short-term memory)
MESA – многоэтническое исследование атеросклероза (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis)
ML – машинное обучение (machine learning), направление искусственного интеллекта, сосредоточенное на создании систем, которые обучаются и развиваются на основе получаемых ими данных
NREM – фаза сна без быстрых движений глаз (non-rapid eye movement sleep), состояние глубокого сна
PER – белок циркадного ритма (period circadian protein)
PIM – режим измерения пропорционального интегрирования (proportional integral mode)
REM – фаза сна с быстрым движением глаз (rapid eye movement), характеризующаяся повышенной активностью головного мозга
REV-ERBα – подсемейство ядерных рецепторов 1
RF – метод случайного леса (random forest)
SE – эффективность сна (sleep efficiency)
SVM – метод опорных векторов (support vector machine)
TIB – время пребывания в постели (time in bed)
TOB – время пребывания вне постели (time out of bed)
UCSD – Калифорнийский университет Сан-Диего (University of California San Diego)
WASO – пробуждение после наступления сна (wakefulness after sleep onset)
ZCM – режим пересечения нуля (zero-cross mode)
БКГ – баллистокардиография, метод исследования деятельности сердца путём графической регистрации движений тела человека, обусловленных сердечными сокращениями и движением крови по крупным сосудам
КИХ – конечная импульсная характеристика (FIR, finite impulse response)
ПСГ – полисомнография
ПТС – потребительские технологии сна, приложения и устройства, которые предназначены для измерения и даже улучшения сна; могут быть сгруппированы в носимые устройства, ближайшие устройства и автономные мобильные приложения
СХЯ – супрахиазматическое ядро
ТАТ – режим времени выше порогового значения (turnaround time)
ФПГ – фотоплетизмография, метод скрининговой диагностики состояния сосудов
ЭКГ – электрокардиография, исследование частоты и ритма сердечных сокращений
ЭМГ – электромиография, исследование активности мышц лица и тела
ЭОГ – электроокулограаафия, исследование движения глаз
ЭЭГ – электроэнцефалография, исследование электрической активности мозга

ВВЕДЕНИЕ

Сон – жизненно важный процесс, качество которого влияет на все сферы жизнедеятельности организма. Так, нарушения сна связаны с развитием многих заболеваний, включая депрессию, гипертонию, ожирение и нейродегенеративные заболевания [1]. Сон рассматривается как универсальное явление у животных и является характеристикой, которая меняется в зависимости от времени суток. Большинство животных имеют распределённый характер сна в течение 24 часов, но, как правило, более активны в определённое время. Однако время сна – это лишь один аспект циркадного процесса, хотя и наиболее очевидный для нас в нашей повседневной жизни. Циркадный процесс определяет не только начало и продолжительность сна, но и многие другие параметры, такие как температура тела, артериальное давление, уровень кортизола, аппетит, жажда, настроение и агрессия; на самом деле почти каждый процесс в организме находится под циркадным контролем [2–5].

Долгое время учёные делали акцент на исследованиях природы сна, однако число инструментов, отслеживающих его общие характеристики (длительность, качество, частота), было ограничено. В XXI веке основным методом отслеживания изменений биопотенциалов головного мозга во сне являлась полисомнография. Этот метод предоставляет информацию о физиологических параметрах сна и позволяет точно идентифицировать его отклонения. Принцип метода полисомнографии основан на длительной регистрации диагностически важных физиологических параметров. Однако метод отличается трудоёмкостью исполнения и требует наличия специализированного дорогостоящего оборудования.

Человеческое тело циклически проходит через две фазы сна: фаза 1 – сон с быстрыми движениями глаз (REM, rapid eye movement), фаза 2 – сон с небыстрыми движениями глаз (NREM, non-rapid eye movement), который далее делится на три стадии – N1 (лёгкий сон; 5 % от всего времени сна), N2 (глубокий сон; 45 %) и N3 (самый глубокий медленный сон; 25 %). Каждая фаза и стадия сна имеет характерные изменения в мышечном тонусе, паттернах мозговых волн и движениях глаз. Тело проходит через все эти стадии примерно от 4 до 6 раз каждую ночь, в среднем 90 минут на каждый цикл [6].

Циркадные ритмы млекопитающих представляют собой клеточный автономный механизм, основанный на транскрипции и состоящий из множества положительных (например, BMAL1) и CLOCK) и отрицательных (например, PER, CRY, REV-ERBα) компонентов. Один пол-

ный «цикл» компонентов основных биологических часов занимает примерно 24 часа (немного меньше у грызунов и немного больше у людей). Эти биологические часы, обнаруженные во всех клетках млекопитающих, можно разделить на центральные и периферические. Центральные биологические часы (часто называемые «главными») находятся в супрахиазматическом ядре (СХЯ), специализированной области гипоталамуса, состоящей примерно из 10 000 нейронов. Таким образом, периферические биологические часы (часто называемые «ведомыми») расположены в других частях тела, включая области мозга, не относящиеся к СХЯ. Для центральных часов первичный стимул – это свет (сигнал, посылаемый через ретиногипоталамический тракт), в то время как периферические часы чувствительны к нейрогуморальной модуляции.

Главные биологические часы «переустанавливаются», обеспечивая синхронность между организмом и окружающей средой, а также поддерживая внутреннюю синхронность (т. е. правильную временную синхронизацию между различными клетками/органами). Таким образом, проблемы могут возникать из-за образа жизни, нарушающего циркадные ритмы (например, посменная работа, путешествия через часовые пояса), и болезненных состояний (например, ожирение, сахарный диабет), когда активность в неподходящее время суток приводит к смещению циркадных часов, что усугубляет патогенез заболеваний [7].

Качество сна является важным аспектом здоровой жизни. Нарушения сна являются ранними симптомами различных заболеваний (например, болезни Паркинсона, деменции с телами Леви [8]), которые можно лечить гораздо эффективнее, если диагностировать их на продромальной стадии, то есть на стадии, когда присутствуют ранние симптомы или признаки заболевания, но совокупность наблюдаемых признаков не позволяет поставить классический клинический диагноз. К группе расстройств сна относятся, например, бессонница, синдром беспокойных ног, идиопатическое расстройство поведения во сне с быстрым движением глаз (iRBD, idiopathic REM sleep behaviour disorder), парасомния или апноэ во сне [9].

Мониторинг и измерение параметров сна – это обширная область исследований, в которой используются множество различных подходов. В исследованиях широко представлены методы оценки качества сна, такие как анкеты и дневники [10], бесконтактные устройства [11], контактные устройства [12] и полисомнография (ПСГ) [13]. «Золотым стандартом» исследования сна является ПСГ, которая основана на использовании устройства, состоящего из нескольких датчиков: электроэнцефалографии (ЭЭГ) – для измерения активности мозга, электроокулографии (ЭОГ) – для изучения движения глаз, электромиографии (ЭМГ) – для оценки активности мышц или активации скелетных мышц, электрокардиографии (ЭКГ) – для мониторинга сердечного ритма [14]. Эти записи затем вручную оцениваются экспертами для классификации характеристик сна. Существует множество причин, по которым проведение ПСГ не всегда целесообразно, а основными недостатками метода являются дороговизна и высокая трудоёмкость проведения исследования [15]. Перспективным подходом к решению этих проблем являются потребительские технологии сна (ПТС) [16]. Они дешевле и более удобны для пациента, чем ПСГ, но, к сожалению, пока не подходят для клинических исследований [17]. Точность их классификации стадий сна в настоящее время не достигает уровня ПСГ, а готовые программно-аппаратные решения часто имеют запатентованный алгоритм, что делает их «чёрным ящиком» без доступа к исходным данным. Тем не менее, в последние годы интерес к ПТС возрос [18].

ПТС – это доступные широкому кругу людей технологии, связанные с отслеживанием сна, например, мобильные электронные устройства, носимые устройства (браслеты) и другие технологии. Потребительские технологии сна классифицируются по способу сбора данных и условно делятся на группы:

- приложения для мобильных устройств, интегрированные с мобильной операционной системой и использующие функции мобильных устройств, такие как камера или микрофон;
- носимые устройства (на теле или прикреплённые к одежде);
- встроенные устройства (интегрированные в мебель или другие приспособления в естественной среде сна);
- аксессуары;
- ресурсы для настольных компьютеров/веб-сайтов [19].

Актиграфия как метод определения циклов сна/бодрствования основан на регистрации движений запястья с помощью цифровых устройств, называемых актиграфами. Уже более двух десятилетий метод актиграфии используется в исследованиях сна и циркадных ритмов [20]. В работах указывается ограниченная польза актиграфии [21], например при диагностике бессонницы [22], циркадной дисритмии или синдрома недостаточного сна [23]. В обзорах о роли актиграфии в исследованиях сна и циркадных ритмов было показано [24], что метод актиграфии имеет тенденцию переоценивать общее время сна и эффективность сна, а также недооценивать задержку засыпания и пробуждение после наступления сна у взрослых, причём эти различия были значительно больше у людей с хроническими заболеваниями. Возраст, хронические нарушения сна, сопутствующие заболевания, симптомы, снижение двигательной активности, инвалидность и другие проблемы, связанные с хроническими состояниями, могут искажать показатели актиграфии по сравнению с ПСГ и должны учитываться в будущих исследованиях.

РАЗДЕЛ 1. МЕТОДОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ АКТИГРАФИЧЕСКИХ ДАННЫХ

Актиграфы – это небольшие устройства в форме часов, которые обычно надеваются на запястье недоминирующей руки и содержат датчики движения (ак-

селерометры) для мониторинга и регистрации движений [25]. Актиграф производит непрерывный электрический сигнал (напряжение), когда носящий устройство человек находится в движении. После преобразования движения в аналоговую электрическую форму из этого непрерывного сигнала собираются значения измерений со скоростью обновления 10 Гц, то есть 10 измерений в секунду. Многие устройства имеют встроенный датчик освещённости. Как правило, устройство номинально откалибровано между 0 и 1200 люкс с высоким разрешением. Это позволяет различать небольшие изменения освещённости, которые могут происходить во время сна (рука прячется под одеялом в очень темной комнате) и помогает определить время пребывания в постели. Отобранные сигналы напряжения обрабатываются в трёх режимах анализа: информации о частоте, продолжительности и интенсивности движения [26]. Режим пересечения нуля (ZCM, zero-cross mode) представляет количество раз за период, когда сигнал пересекает пороговое значение, и является мерой частоты движения. Режим времени выше порогового значения (TAT, turnaround time) – это количество времени (в десятых долях секунды), в течение которого уровень сигнала превышает пороговое значение. Этот режим в некоторой степени связан с интенсивностью движения тела, но был заменён после того, как был разработан режим пропорционального интегрирования (PIM, proportional integral mode). Режим PIM является мерой интенсивности или силы движения и представляет собой площадь под кривой для каждой эпохи. Одновременный сбор данных в режимах ZCM и PIM удобен для экспериментов, поскольку он способствует сбору большого объёма информации о движении без фактической записи необработанного сигнала движения.

Несмотря на разнообразие имеющихся в продаже актиграфов, лишь для некоторых устройств, используемых в крупномасштабных исследованиях, доступна информация о применяемой методологии оценки параметров сна. Как правило, актиграфы носят в течение нескольких дней, и в это время прибор записывает данные о движении несколько раз в секунду, сохраняет информацию за каждую минуту дня, в результате чего получается 1440 наблюдений (точек данных о движении запястья) за 24-часовой период. Затем эти данные загружаются в компьютер, где с помощью специализированного программного обеспечения автоматически рассчитываются циклы сна/бодрствования на основе определённого алгоритма, а затем оцениваются параметры сна отдельно для каждого дня или 24-часового периода [26]. Затем оценки сна усредняются по дням, чтобы получить более стабильный показатель для участника. Хотя программное обеспечение выявляет около двух десятков параметров сна, лишь немногие из них обычно используются в исследованиях [27], а именно: общее время сна, эффективность сна (SE, sleep efficiency), латентность сна, пробуждение после наступления сна (WASO, wakefulness after sleep onset) и количество пробуждений [28].

Накоплено большое количество сообщений о применении актиграфии как в исследовательских, так и в клинических условиях [26], однако можно отметить ограниченное количество публикаций, демонстрирующих методологию получения различных параметров сна из цифровых отчётов с актиграфов. Кроме того, отсутствует консенсус в определении наступления и прекращения сна, что приводит к противоречивому представлению параметров сна в различных исследованиях [18]. Понимание методов, используемых для получения параметров сна из данных о движении запястья, необходимо для принятия обоснованных решений относительно интерпретации параметров и их надлежащего использования. Из-за отсутствия литературы, подробно описывающей оценку параметров сна, этот процесс часто остаётся по сути «черным ящиком», особенно для тех, кто не вовлечён непосредственно в это направление исследований. Углубление понимания методологии, связанной с получением показателей сна по данным актиграфии, поможет, с одной стороны, улучшить интерпретацию полученных параметров и, следовательно, их надлежащее применение в будущих исследованиях, с другой – позволит исследователям пересмотреть определение некоторых параметров сна для лучшего решения конкретной задачи (например, расширить использование ранее игнорируемых параметров сна, таких как интраиндивидуальная изменчивость и другие) и привести к разработке новых показателей сна [27]. Одной из важных задач исследований является анализ существующих алгоритмов, используемых для оценки циклов сна/бодрствования по данным движения, и демонстрация правил/методов, используемых для оценки параметров сна по данным движения запястья. Важно прояснить, как входные данные (данные о движении, регистрируемые актиграфом) преобразуются в выходные (параметры сна, оцениваемые программным обеспечением актиграфа), чтобы исследователи имели более полное представление об этом процессе.

РАЗДЕЛ 2. МЕТОДОЛОГИЯ ОЦЕНКИ ПАРАМЕТРОВ СНА

При проведении актиграфических исследований, связанных со сном, одной из основных целей анализа данных является разграничение стадий физической активности и покоя во время сна с общим предположением о различной интенсивности движений в каждой из них. За десятилетия исследований в области вычислительных подходов для дифференцирования стадий сна и бодрствования были разработаны и исследованы различные алгоритмы с точки зрения их точности, чувствительности или специфичности в разделении стадий и двунаправленных переходов между ними. Часть таких подходов в основном опирается на анализ интенсивности сигнала от эпохи к эпохе, однако в настоящее время признаются и новые методы, основанные на технике машинного обучения [28].

Алгоритмы оценки сна (также известные как функции оценки сна) – это математические выражения, которые используют данные об активности (движения за-

пястья) в качестве входных данных и определяют, бодрствовал ли субъект, носящий устройство, или спал в течение каждой минуты, когда собирались данные об активности. Алгоритм преобразует данные о движении запястья (часто называемые «показателями активности») в серию из 0 и 1 (часто называемых «показателями сна» или «показателями сна/бодрствования»).

Существуют различные утверждённые алгоритмы оценки сна/бодрствования на основе данных о движении запястья (табл. 1). Как правило, алгоритм, применяемый для оценки сна, зависит от устройства, используемого для мониторинга движения; режима работы (частоты съёмки данных), длины эпохи и возраста исследуемой популяции.

В работах F. Jokar и соавт. и D.M. Roberts и соавт. [29, 30] описываются несколько алгоритмов оценки сна по данным актиграфии: алгоритм Вебстера [31] как самый ранний автоматический подход; группа алгоритмов Саде [32] и алгоритм Коула – Крипке [33], которые являются наиболее узнаваемыми; алгоритм Сазонова [34]. Ещё два алгоритма, которые являются менее популярными, но всё же встречаются в исследовательских работах [35]: алгоритм Калифорнийского университета Сан-Диего (UCSD, University of California San Diego) [36] и алгоритм клиники Скриппса [37].

Алгоритм Коула – Крипке считается подходящим для использования во взрослой популяции, поскольку он был разработан с участием субъектов в возрасте от 35 до 65 лет. Роджер Дж. Коул и Дэниел Ф. Крипке адаптировали метод подсчёта баллов, разработанный Дж.Б. Вебстером с помощью экспериментального актиграфа Motionlogger Sleep Watch (Ambulatory Monitoring Inc., США) в 1992 г. Он был разработан с использованием 10, 30 и 60 с эпох с высоким уровнем точности, полученным на основе собранных данных в 10-секундных эпохах. Целью алгоритма Коула – Крипке является создание алгоритма, выполняющего классификацию сна/бодрствования на основе актиграфических данных, собранных за ночь. Алгоритм Коула – Крипке состоит из трёх этапов. Первый этап выполняется посредством понижающей дискретизации сигнала до 1/60 Гц, описанный авторами как «схлопывание в 1-минутные эпохи» актиграфического сигнала, собранного в режиме ZCM. На втором этапе выполняется нормализация данных эпох и затем, на третьем, определяются периоды последовательных «активных» (период бодрствования) и «неактивных» эпох (период сна). Алгоритм Коула – Крипке имеет много общего с некоторыми другими алгоритмами. Хронологически первым алгоритмом такого рода является алгоритм Вебстера. Основными отличиями являются количество эпох, учитываемых в уравнении, определяющем алгоритм, и иная процедура ресемплинга данных, полученных с актиграфа.

Другим алгоритмом, практически идентичным алгоритму Вебстера, является алгоритм Клиники Скриппса. Основное отличие которого заключается в том, что в качестве входных данных используются подсчёты активности с коммерчески доступного устройства марки Actiwatch, а эпохи составляют 30 с.

Ещё одним вариантом алгоритма Коула – Крипке является алгоритм UCSD. Алгоритм USCD был получен в результате исследования пяти здоровых, нормально спящих субъектов в возрасте от 20 до 30 лет. В этом случае формула идентична алгоритму Коула – Крипке, но используются другие коэффициенты. Могут применяться различные наборы коэффициентов, позволяющие обрабатывать различные типы входных данных. Все сигналы независимо от типа данных собирают в 1-минутные эпохи.

Алгоритмы Коула – Крипке, Вебстера, UCSD и Клиники Скриппса начинают с понижения дискретизации сигнала, а затем применяют очень похожие уравнения к дискретизированному сигналу. Это сходство позволяет назвать эти алгоритмы семейством Коула – Крипке.

Алгоритм Саде был разработан доктором Ави Саде во время его работы в Университете Брауна в 1994 г. и считается подходящим для молодых людей, поскольку он был разработан с участием субъектов в возрасте от 10 до 25 лет. В общих чертах этот алгоритм определяет состояние сна, исследуя активность актиграфа в течение 11-минутного скользящего окна. Оценку сна можно провести для любого заданного окна (независимо от того, спит человек или нет), учитывая параметры «время пребывания в постели» (TIB, time in bed) и «время пребывания вне постели» (TOB, time out of bed), что позволяет анализировать данные о каждой минуте сна.

Как и другие алгоритмы, алгоритм Саде содержит фильтр низких частот в форме скользящего среднего. Аналогично алгоритму Коула – Крипке, в алгоритме Саде коэффициенты были получены путём адаптации данных к вектору бинарной классификации (сон/бодрствование), полученному из записей в течение одной ночи ПСГ параллельно с актиграфическими записями. Однако в отличие от алгоритма Коула – Крипке, переменные (т. е. операции, вычисленные на некотором количестве эпох, а также количество эпох), используемые в алгоритме Саде, получены путём дискриминантного анализа, который из заданного набора переменных выделил те, которые имеют наибольшую значимость. Алгоритмы Саде, как и все другие рассмотренные подходы, направлены на сглаживание актиграфического сигнала перед применением некоторого фиксированного порога для различения сна и бодрствования.

E. Sazonov и соавт. [34] предложили другой подход, используя в логистической регрессии только активность текущей и восьми предыдущих эпох. Данные, использованные в этой работе, были собраны в исследовании, в котором изучался сон у младенцев с помощью ПСГ. Акселерометр, использованный в их исследовании, измерял частоту 50 Гц и был прикреплён к подгузнику ребёнка, что позволяло ему контролировать своё положение в кроватке. Данные с этого устройства впоследствии дискретизировались в 8-битный сигнал, дающий фактически диапазон из 256 значений, названных «компьютерными единицами», и этот дискретный сигнал использовался для построения алгоритма. Как и ранее описанные алгоритмы, этот также построен путём подгонки предполагаемой формулы к вектору, состоя-

ТАБЛИЦА 1

ОСНОВНЫЕ АЛГОРИТМЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В АКТИГРАФИИ

TABLE 1

BASIC ALGORITHMS USED IN ACTIGRAPHY

Автор алгоритма	Тип модели	Входные данные	Сложность модели	Описание
van Hees V.T. и соавт. [39]	Эвристическая	Ускорение	Низкая	Алгоритм, использующий в качестве входных данных вместо величины ускорения производный угол наклона руки для идентификации сна. Сном считается период с низкочастотными изменениями угла наклона руки. Учитывается диапазон угла z в течение 5 минут для классификации сна или бодрствования.
Sundararajan K. и соавт. [40]	Случайный лес	Ускорение	Высокая	Этот алгоритм обнаружения сна был обучен путём применения модели RF на данных 134 взрослых участников, которые носили браслет на запястье с акселерометром во время полисомнографии в течение одной ночи. По сравнению с алгоритмом ван Хиса этот алгоритм даёт более точное предсказание сна.
Palotti J. и соавт. [41]	Свёрточная нейронная сеть	Счёт	Высокая	Глубокая нейронная сеть, обученная на наборе данных многоэтнического исследования атеросклероза (MESA, Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis; *n* =1454) с использованием слоя свёрточной нейронной сети.
	Сеть долгой краткосрочной памяти	Счёт	Высокая	Глубокая нейронная сеть, обученная на наборе данных MESA (обучение *n* =1454) с использованием слоя долговременной памяти.
Cole R.J., Kripke D.F. и соавт. [33]	Регрессия	Счёт	Средняя	Обычно используемая модель линейной регрессии. Алгоритм требует 60 с эпох для подсчёта сна/бодрствования.
Oakley N.R. [42]	Регрессия	Счёт	Средняя	Модель линейной регрессии с обученным порогом. Может применяться с 15, 30, 60 или 120 с эпохами при низком, среднем и высоком пороге чувствительности
Sadeh A. и соавт. [32]	Регрессия	Счёт	Средняя	Обычно используемая модель линейной регрессии. Алгоритм часто используется для исследования физической активности среди детей.
Sazonov E. и соавт. [34]	Регрессия	Счёт	Средняя	Модель логистической регрессии, обученная на младенцах по датчику на месте подгузника.

щему из классификации сна и бодрствования, полученной из параллельной записи ПСГ.

В работе P. Biegański и соавт. [19] рассмотрены популярные алгоритмы актиграфии в рамках унифицированной математически последовательной структуры, состоящей из трёх этапов:

1. Разбивка данных на эпохи.
2. Линейная свёртка с эмпирически выбранными коэффициентами.
3. Пересчёт (необязательно), например минуты, оценённой как сон, в бодрствование после нескольких минут, оценённых как бодрствование.

Правильная трактовка первого шага как понижающей дискретизации, которая является хорошо известной процедурой обработки сигнала, позволяет, например, выявить алиасинг (наложение), вносимый применяемыми процедурами, и разработать правильные. Новизна такого подхода состоит в наблюдении того, что коэффициенты, используемые в различных алгоритмах для шага свёртки, во всех случаях фактически приводят к низкочастотной фильтрации с конечной импульсной характеристикой (КИХ) с очень похожими частотами среза. Они показывают, как их определяющие уравнения на самом деле являются формой свёртки сигнала и некоторого эмпирически подобранного ядра – фактически КИХ-фильтра.

Рассмотренные алгоритмы полагаются на передискретизацию входных данных в качестве первого шага анализа, обычно с помощью некоторых нестандартных процедур. Стоит отметить, что эти процедуры (первоначально называемые «свёртыванием») являются потенциальными источниками артефактов алиасинга (наложения), поскольку теорема Найквиста требует фильтрации низких частот перед понижающей дискретизацией, чтобы избежать их. Эти наблюдения позволяет обоснованно проектировать такие фильтры для новых алгоритмов, используя знания и инструменты обработки сигналов, и эффективно анализировать существующие подходы.

РАЗДЕЛ 3. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА

Перспективным подходом к оценке сна является использование физиологических данных в сочетании с достижениями в области искусственного интеллекта (ИИ) за последние 10 лет. Эти достижения открывают путь к измерению и улучшению сна по-новому. По-видимому, наблюдается равномерное разделение между использованием машинного (ML, machine learning) и глубокого обучения (DL, deep learning). Для ML наиболее распространёнными моделями являются SVM (support vector machine) и Random Forest/Decision Trees (RF/DT), которые являются родственными моделями. Для DL популярны CNN (convolutional neural network), LSTM (long short-term memory) и архитектура, объединяющая их – CNN-LSTM [38].

В области использования необработанных (сырых) сигналов с DL-моделями для классификации сна существует потенциал к дальнейшему развитию. Результаты работ показывают, что модели являются одними из лучших в классификации 3 и 5 стадий сна, что имеет значение, поскольку с увеличением количества стадий сна возрастает и сложность, особенно при дифференциации между N1 и N2. Преобразование сигнала в спектрограмму и превращение задачи в задачу классификации изображений – интересный подход с большим потенциалом, поскольку это область, в которой DL демонстрирует исключительно высокие результаты. Это также позволяет использовать нейронные сети, предварительно обученные на других визуальных задачах, и точно настроить их для сна. Чтобы правильно использовать возможности DL-моделей, необходимо большое количество данных. Одним из способов увеличения количества данных, используемых для обучения, является использование синтетически сгенерированных данных. Это было замечено в области классификации движений глаз, которая имеет определённые параллели с классификацией стадий сна.

Другим способом улучшения моделей является объединение модальностей для создания комплексного сигнала. Часто в работах встречается объединение акселерометра с кардиологическим датчиком: было показано, что объединение с демографической информацией повышает производительность модели. Особенно интересны более продвинутые методы, такие как сеть слияния. Примером такого метода в контексте классификации стадий сна является нейронная сеть, которая принимает 30-секундный сегмент сигнала от фотоплетизмографии в качестве входного сигнала в одном канале и соответствующий сегмент от акселерометра в качестве входного сигнала во втором канале с последними слоями сети, объединяющими их выход перед классификацией. Эти решения не ограничиваются только двумя модальностями или использованием архитектуры CNN. В дополнение к увеличению модальностей существует также аспект индивидуализации моделей. Это можно сделать, исследуя эффект с помощью модели, обученной на общей популяции, и дорабатывая её для конкретного участника или демографической группы.

РАЗДЕЛ 4. ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛАССИФИКАЦИИ СТАДИЙ СНА

Оценка производительности и сравнение подходов к использованию моделей в разных статьях не является простой задачей. Наиболее распространёнными показателями, наблюдаемыми в исследованиях, являются чувствительность, точность, оценка F1, каппа Коэна и матрица путаницы (confusion matrix) классов сна. Безусловно, наиболее распространённой является точность, но у этого показателя есть серьёзный недостаток, поскольку стадии сна по своей природе неравномерны. Интуитивное понимание чувствительности состоит в том, что это доля истинных положительных результатов, которые были правильно классифицированы, а точность – это доля истинных положительных результатов всего, что классифицировано как положительное. Оценка F1 – это гармоническое среднее значение точности и чувствительности. Эти три варьируются от 0 до 1, где 1 – наивысший балл. Каппа Коэна представляет собой измерение, которое также учитывает, что правильная классификация может произойти случайно, и колеблется от –1 с полным несогласием, до 1, являющегося полным согласием. Матрица путаницы – это просто матрица, которая показывает классификацию всех моделей по сравнению с тем, что является основной истиной, и сообщается либо в процентах, либо в общем количестве классифицированных. Матрица путаницы имеет то преимущество, что показывает, с какими классами борется модель и как они неправильно классифицируются.

В текущем ландшафте исследований ПТС приводится различная терминология для описания стадий сна. В таблице 2 показано, какие классы сворачиваются по мере уменьшения количества стадий сна.

ТАБЛИЦА 2
РАЗЛИЧНЫЕ КЛАССИФИКАЦИИ СТАДИЙ СНА

TABLE 2
DIFFERENT CLASSIFICATIONS OF SLEEP STAGES

Количество стадий сна	Терминология				
5	W	N1	N2	N3	R
4	Бодрствование	Поверхностный	Глубокий		R
3	Бодрствование	Медленный (NREM)		Быстрый (REM)	
2	Бодрствование		Сон		

Наиболее распространённой обычно является 2-стадийная классификация сна, равномерное распределение встречаемости существует между 4 и 5 стадиями классификации, а 3 стадии встречаются реже всего. Наиболее распространёнными применяемыми датчиками являются акселерометры. В числе популярных подходов можно отметить использование датчиков, измеряющих сердечную активность с помощью фотоплетизмографии (ФПГ), ЭКГ и баллистокардиографии (БКГ).

В классификации сна/бодрствования распределение времени в течение ночи благоприятствует сильному сну, поскольку участники спят обычно большую часть ночи, поэтому просто классифицируя все стадии как сон, модель достигает высокой точности. Для полного цикла быстрого сна взрослого человека распределение времени в каждой стадии сна составляет приблизительно 5 % (N1), 50 % (N2), 20 % (N3) и 25 % (REM) [43]. Это приводит к тому, что N1 встречается реже, и, следовательно, возникает та же проблема правильной классификации. Чтобы учесть этот исходный дисбаланс в распределении обучающих данных, существует несколько метрик для описания производительности модели.

Для 2-стадийной классификации сна большинство исследований, точность которых превышает 90 %, сочетают ФПГ с акселерометром. Для 3-стадийной классификации сна, похоже, что модель CNN-LSTM на основе БКГ значительно превосходит другие подходы. Для 4-ступенчатой классификации сна на сегодняшний день наилучшую диагностическую точность имеет модель K-ближайшего соседа (KNN, K nearest neighbors) за счёт объединения бесконтактного микроволнового датчика и инфракрасного датчика. Для 5-ступенчатой классификации сна точность не является хорошим показателем, и задача заключается в дифференциации N1 и N2. Наиболее успешными подходами, которые достигают самого высокого N1%, не жертвуя при этом другими стадиями сна, являются те, которые используют архитектуру на основе CNN, которая принимает необработанный сигнал вместо разработки функций с ЭЭГ [38].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные устройства для оценки сна (актиграфы) являются полезными инструментами для определения параметров циклов сна/бодрствования и успешно используются во многих исследованиях.

«Золотого стандарта» для оценки сна в настоящее время не существует. Применяемые методы имеют преимущества и недостатки, поэтому разрабатываемые подходы следует комбинировать и адаптировать к конкретным потребностям. Несмотря на то, что метод ПСГ является лучшим с точки зрения точности, он требует специального оборудования и медицинской поддержки.

Точность и надёжность аппаратных устройств (актиграфов) постоянно повышаются с развитием технологий, что ведёт к росту приверженности к их использованию, поскольку они требуют меньше усилий от пациента.

Исследования показали, что актиграфия является достаточно надёжным методом определения фаз сна со средней чувствительностью более 90 %, но использование актиграфии в качестве диагностического инструмента требует дополнительных исследований для получения более точной диагностической картины и валидации для клинического применения.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Patterson MR, Nunes AAS, Gerstel D, Pilkar R, Guthrie T, Neishabouri A, et al. 40 years of actigraphy in sleep medicine and current state of the art algorithms. *NPJ Digit Med*. 2023; 6(1): 51. doi: 10.1038/s41746-023-00802-1

2. Patke A, Young MW, Axelrod S. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020; 21(2): 67-84. doi: 10.1038/s41580-019-0179-2

3. Gamble KL, Silver R. Circadian rhythmicity and the community of clockworkers. *Eur J Neurosci*. 2020; 51(12): 2314-2328. doi: 10.1111/ejn.14626

4. Logan RW, McClung CA. Rhythms of life: Circadian disruption and brain disorders across the lifespan. *Nat Rev Neurosci*. 2019; 20, 49-65. doi: 10.1038/s41583-018-0088-y

5. Yu X, Franks NP, Wisden W. Brain clocks, sleep, and mood. *Adv Exp Med Biol*. 2021; 1344: 71-86. doi: 10.1007/978-3-030-81147-1_5

6. Lambert I, Peter-Derex L. Spotlight on sleep stage classification based on EEG. *Nat Sci Sleep*. 2023; 15: 479-490. doi: 10.2147/NSS.S401270

7. Van Laake LW, Lüscher TF, Young ME. The circadian clock in cardiovascular regulation and disease: Lessons from the Nobel Prize in physiology or medicine 2017. *Eur Heart J*. 2018; 39(24): 2326-2329. doi: 10.1093/eurheartj/ehx775

8. Elder GJ, Lazar AS, Alfonso-Miller P, Taylor JP. Sleep disturbances in Lewy body dementia: A systematic review. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2022; 37(10): 10.1002/gps.5814. doi: 10.1002/gps.5814

9. Medic G, Wille M, Hemels ME. Short- and long-term health consequences of sleep disruption. *Nat Sci Sleep*. 2017; 9: 151-161. doi: 10.2147/NSS.S134864

10. Ibáñez V, Silva J, Cauli O. A survey on sleep assessment methods. *Peer J*. 2018; 6: e4849. doi: 10.7717/peerj.4849

11. Patel P, Kim JY, Brooks LJ. Accuracy of a smartphone application in estimating sleep in children. *Sleep Breath*. 2017; 21(2): 505-511. doi: 10.1007/s11325-016-1425-x

12. Evenson KR, Goto MM, Furberg RD. Systematic review of the validity and reliability of consumer-wearable activity trackers. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2015; 12: 159. doi: 10.1186/s12966-015-0314-1

13. Rundo JV, Downey R 3rd. Polysomnography. *Handb Clin Neurol*. 2019; 160: 381-392. doi: 10.1016/B978-0-444-64032-1.00025-4

14. Bani Younis M, Hayajneh F, Batiha AM. Measurement and nonpharmacologic management of sleep disturbance in the intensive care units: A literature review. *Crit Care Nurs Q*. 2019; 42(1): 75-80. doi: 10.1097/CNQ.0000000000000240

15. Dorsch JJ, Martin JL, Malhotra A, Owens RL, Kamdar BB. Sleep in the intensive care unit: Strategies for improvement. *Semin Respir Crit Care Med*. 2019; 40(5): 614-628. doi: 10.1055/s-0039-1698378

16. Ko PR, Kientz JA, Choe EK, Kay M, Landis CA, Watson NF. Consumer sleep technologies: A review of the landscape. *J Clin Sleep Med*. 2015; 11(12): 1455-1461. doi: 10.5664/jcsm.5288

17. Baron KG, Duffecy J, Berendsen MA, Cheung Mason I, Lattie EG, Manalo NC. Feeling validated yet? A scoping review of the use of consumer-targeted wearable and mobile technology to measure and improve sleep. *Sleep Med Rev*. 2018; 40: 151-159. doi: 10.1016/j.smrv.2017.12.002

18. Smith MT, McCrae CS, Cheung J, Martin JL, Harrod CG, Heald JL, et al. Use of actigraphy for the evaluation of sleep disorders and circadian rhythm sleep-wake disorders: An American Academy of Sleep Medicine systematic review, meta-analysis, and GRADE assessment. *J Clin Sleep Med*. 2018; 14(7): 1209-1230. doi: 10.5664/jcsm.7228

19. Biegański P, Stróż A, Dovgialo M, Duszyk-Bogorodzka A, Durka P. On the Unification of common actigraphic data scoring algorithms. *Sensors (Basel)*. 2021; 21(18): 6313. doi: 10.3390/s21186313

20. Goldstone A, Baker FC, de Zambotti M. Actigraphy in the digital health revolution: Still asleep? *J Sleep Res*. 2018, 9: zsy120. doi: 10.1093/sleep/zsy120

21. Comer D. Advances in clinical actigraphy. *J Lung Pulm Respir Res*. 2015; 2(4): 77-79. doi: 10.15406/jlprr.2015.02.00051

22. Rösler L, van der Lande G, Leerssen J, Cox R, Ramautar JR, van Someren EJW. Actigraphy in studies on insomnia: Worth the effort? *J Sleep Res*. 2023; 32(1): 13750. doi: 10.1111/jsr.13750

23. Acker JG, Becker-Carus C, Büttner-Teleaga A, Cassel W, Danker-Hopfe H, Dück A, et al. The role of actigraphy in sleep medicine. *Somnologie*. 2021; 25: 89-98. doi: 10.1007/s11818-021-00306-8

24. Conley S, Knies A, Batten J, Ash G, Miner B, Hwang Y, et al. Agreement between actigraphic and polysomnographic measures of sleep in adults with and without chronic conditions: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev*. 2019; 46: 151-160. doi: 10.1016/j.smrv.2019.05.001

25. Natale V, Léger D, Martoni M, Bayon V, Erbacci A. The role of actigraphy in the assessment of primary insomnia: A retrospective study. *Sleep Med*. 2014; 15(1): 111-115. doi: 10.1016/j.sleep.2013.08.792

26. Fawkes DB, Malow BA, Weiss SK, Reynolds AM, Loh A, Adkins KW, et al. Conducting actigraphy research in children with neurodevelopmental disorders – A practical approach. *Behav Sleep Med*. 2015; 13(3): 181-196. doi: 10.1080/15402002.2013.854245

27. Fekedulegn D, Andrew ME, Shi M, Violanti JM, Knox S, Innes KE. Actigraphy-based assessment of sleep parameters. *Ann Work Expo Health*. 2020; 64(4): 350-367. doi: 10.1093/annweh/wxaa007

28. Khademi A, Yasser EM, Master L, Buxton OM, Honavar VG. Personalized sleep parameters estimation from actigraphy: A machine learning approach. *Nat Sci Sleep*. 2019; 11: 387. doi: 10.2147/NSS.S220716

29. Jokar F, Azzopardi G, Palotti J. Towards accurate and efficient sleep period detection using wearable devices. *Computer Analysis of Images and Patterns. CAIP 2023. Lecture Notes in Computer Science*. 2023. doi: 10.1007/978-3-031-44240-7_5

30. Roberts DM, Schade MM, Master L, Honavar VG, Nahmod NG, Chang AM, et al. Performance of an open machine learning model to classify sleep/wake from actigraphy across ~24-hour intervals without knowledge of rest timing. *Sleep Health*. 2023; 9(5): 596-610. doi: 10.1016/j.sleh.2023.07.001

31. Webster JB, Kripke DF, Messin S, Mullaney DJ, Wyborney G. An activity-based sleep monitor system for ambulatory use. *Sleep*. 1982; 5: 389-399. doi: 10.1093/sleep/5.4.389

32. Sadeh A, Sharkey M, Carskadon MA. Activity-based sleep-wake identification: An empirical test of methodological issues. *Sleep*. 1994; 17: 201-207. doi: 10.1093/sleep/17.3.201

33. Cole RJ, Kripke DF, Gruen W, Mullaney DJ, Gillin JC. Automatic sleep/wake identification from wrist activity. *Sleep*. 1992; 15(5): 461-469. doi: 10.1093/sleep/15.5.461

34. Sazonov E, Sazonova N, Schuckers S, Neuman M. Chime Study Group activity-based sleep-wake identification in infants. *Physiol Meas*. 2004; 25: 1291-1304. doi: 10.1088/0967-3334/25/5/018

35. Haghayegh S, Khoshnevis S, Smolensky MH, Diller KR, Castriotta RJ. Performance comparison of different interpretative algorithms utilized to derive sleep parameters from wrist actigraphy data. *Chronobiol Int*. 2019; 36(12): 1752-1760. doi: 10.1080/07420528.2019.1679826

36. Jean-Louis G, Kripke DF, Mason WJ, Elliott JA, Youngstedt SD. Sleep estimation from wrist movement quantified by different actigraphic modalities. *J Neurosci Methods*. 2001; 105: 185-191. doi: 10.1016/S0165-0270(00)00364-2

37. Kripke DF, Hahn EK, Grizas AP, Wadiak KH, Loving RT, Poceta JS, et al. Wrist actigraphic scoring for sleep laboratory patients: Algorithm development. *J Sleep Res*. 2010; 19: 612-619. doi: 10.1111/j.1365-2869.2010.00835.x

38. Djanian S, Bruun A, Nielsen TD. Sleep classification using consumer sleep technologies and AI: A review of the current landscape. *Sleep Med*. 2022; 100: 390-403. doi: 10.1016/j.sleep.2022.09.004

39. van Hees VT, Sabia S, Anderson KN, Denton SJ, Oliver J, Catt M, et al. A novel, open access method to assess sleep duration using a wrist-worn accelerometer. *PLoS One.* 2015; 10(11): e0142533. doi: 10.1371/journal.pone.0142533

40. Sundararajan K, Georgievska S, Te Lindert BHW, Gehrman PR, Ramautar J, Mazzotti DR, et al. Sleep classification from wrist-worn accelerometer data using random forests. *Sci Rep*. 2021; 11(1): 24. doi: 10.1038/s41598-020-79217-x

41. Palotti J, Mall R, Aupetit M, Rueschman M, Singh M, Sathyanarayana A, et al. Benchmark on a large cohort for sleep-wake classification with machine learning techniques. *NPJ Digit Med*. 2019; 2: 50. doi: 10.1038/s41746-019-0126-9

42. Oakley NR. *Technical report to Mini Mitter Co., Inc.; Validation with polysomnography of the sleep-watch sleep/wake scoring algorithm used by the actiwatch activity monitoring system*. 1997.

43. Patel AK, Reddy V, Shumway KR, Araujo JF. *Physiology, sleep stages.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526132 [date of access: 01.04.2024].

Сведения об авторах

Трусов Георгий Александрович – аналитик 1-й категории, ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России, e-mail: GTrusov@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-6342

Коробейникова Анна Васильевна – аналитик, ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России, e-mail: AKorobeinikova@cspfmba.ru, https://orcid.org/0009-0003-0556-9343

Гетманцева Любовь Владимировна – доктор биологических наук, ведущий аналитик, ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России, e-mail: LGetmantseva@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0003-1868-3148

Бакоев Сирождин Юсуфович – кандидат биологических наук, аналитик 1-й категории, ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России, e-mail: SBakoev@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0002-0324-3580

Ломов Алексей Николаевич – начальник отдела, ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России, e-mail: ALomov@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0003-2036-3514

Кескинов Антон Артурович – кандидат медицинских наук, кандидат экономических наук, заместитель генерального директора, ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России, e-mail: Keskinov@cspfmba.ru. https://orcid.org/0000-0001-7378-983X

Юдин Владимир Сергеевич – кандидат биологических наук, директор, ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России, e-mail: VYudin@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0002-9199-6258

Information about the authors

Georgii A. Trusov – 1st category analyst, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, e-mail: GTrusov@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0002-8922-6342

Anna V. Korobeinikova – Analyst, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, e-mail: AKorobeinikova@cspfmba.ru, https://orcid.org/0009-0003-0556-9343

Lyubov V. Getmantseva – Dr. Sc. (Biol.), Leading Analyst, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, e-mail: LGetmantseva@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0003-1868-3148

Sirozhdin Y. Bakoev – Cand. Sc. (Biol.), 1st category analyst, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, e-mail: SBakoev@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0002-0324-3580

Alexey N. Lomov – Head of the Department, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, e-mail: ALomov@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0003-2036-3514

Anton A. Keskinov – Cand. Sc. (Med.), Cand. Sc. (Econ.), Deputy General Director, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, e-mail: Keskinov@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0001-7378-983X

Vladimir S. Yudin – Cand. Sc. (Biol.), Director, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, e-mail: VYudin@cspfmba.ru, https://orcid.org/0000-0002-9199-6258

ЛИПОКАЛИН, СВЯЗАННЫЙ С ЖЕЛАТИНАЗОЙ НЕЙТРОФИЛОВ, МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 2 И 9 В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК ПРИ ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГАХ КОЖИ

Коновалова А.А.

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

Автор, ответственный за переписку: **Коновалова Алина Анатольевна,** e-mail: kuzmina-aa@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. *Острое повреждение почек – одно из грозных осложнений термических ожогов кожи, которое в большинстве случаев остаётся недиагностированным в первые сутки после получения травмы. Поэтому необходим поиск новых биомаркеров, которые могут указать на начавшееся почечное повреждение. Наибольший интерес представляют липокалин и матриксные металлопротеиназы. В настоящее время существует недостаточно сведений об участии данных белков в развитии острого повреждения почек в патогенезе ожоговой болезни.*

Цель исследования. *Оценить динамику изменения уровней липокалина, матриксных металлопротеиназ 2 и 9 в сыворотке крови у больных с термическими ожогами кожи.*

Материалы и методы. *В исследование включены 74 пациента с термическими ожогами кожи I–III степени с площадью поражения кожных покровов более 25 %, из них не менее 15 % глубокого ожога. Определение уровня креатинина в сыворотке крови проводили кинетическим методом Яффе. Исследование концентрации липокалина и матриксных металлопротеиназ проводили методом мультиплексного анализа на проточном цитофлуориметре.*

Результаты. *Установлено, что уровень липокалина в сыворотке крови у больных с термическими ожогами кожи в период шока увеличился в 5,5 раза по отношению к группе контроля. В период ожоговой токсемии и септикотоксемии данный показатель оставался на высоком уровне и превышал контрольные значения. Концентрация матриксной металлопротеиназы 2 в сыворотке крови в период ожогового шока была выше в 4,3 раза, при ожоговой токсемии – в 3,5 раза, в период септикотоксемии – в 2,9 раза по отношению к группе контроля. Подобная динамика наблюдалась при исследовании уровня матриксной металлопротеиназы 9.*

Заключение. *Липокалин и матриксные металлопротеиназы 2 и 9 могут рассматриваться как ранние биомаркеры острого повреждения почек у больных с термическими ожогами.*

Ключевые слова: *термические ожоги, острое повреждение почек, липокалин, матриксные металлопротеиназы*

Статья поступила: 27.08.2024
Статья принята: 15.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Коновалова А.А. Липокалин, связанный с желатиназой нейтрофилов, матриксные металлопротеиназы 2 и 9 в патогенезе острого повреждения почек при термических ожогах кожи. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 111-117. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.11

LIPOCALIN ASSOCIATED WITH NEUTROPHIL GELATINASE, MATRIX METALLOPROTEINASES 2 AND 9 IN THE PATHOGENESIS OF ACUTE KIDNEY INJURY IN THERMAL SKIN BURNS

Konovalova A.A.

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

Corresponding author:
Alina A. Konovalova,
e-mail: kuzmina-aa@mail.ru

ABSTRACT

Background. *Acute kidney injury is one of the most serious complications of thermal skin burns; in most cases it remains undiagnosed in the first day after injury. Therefore, it is necessary to search for new biomarkers that can indicate the onset of renal damage. Lidocaine and matrix metalloproteinases are of the greatest interest. Currently, there is insufficient information about the participation of these proteins in the development of acute kidney injury in the pathogenesis of burn disease.*
The aim. *To evaluate the dynamics of changes in the levels of lipocalin, matrix metalloproteinases 2 and 9 in blood serum in patients with thermal skin burns.*
Materials and methods. *The study included 74 patients with thermal skin burns of I–III degree with a skin lesion area of more than 25 %, of which at least 15 % are deep burns. Serum creatinine levels were determined using the kinetic Jaffe method. The concentration of lidocaine and matrix metalloproteinases was studied by multiplex analysis on a flow cytofluorimeter.*
Results. *It was found that the level of lipocalin in the blood serum of patients with thermal skin burns increased 5.5 times in relation to the control group during the shock period. During the period of burn toxemia and septicotoxemia, this indicator remained at a high level and exceeded the control values. The concentration of matrix metalloproteinase 2 in blood serum during burn shock was 4.3 times higher, with burn toxemia – 3.5 times and during septicotoxemia – 2.9 times in relation to the control group. Similar dynamics was observed in the study of the level of matrix metalloproteinase 9.*
Conclusion. *Lipocalin and matrix metalloproteinases 2 and 9 can be considered as early biomarkers of acute kidney injury in patients with thermal burns.*

Key words: *thermal burns, acute kidney injury, lipocalin, matrix metalloproteinases*

Received: 27.08.2024
Accepted: 15.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Konovalova A.A. Lipocalin associated with neutrophil gelatinase, matrix metalloproteinases 2 and 9 in the pathogenesis of acute kidney injury in thermal skin burns. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 111-117. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.11

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире термически ожоги кожи чаще возникают при чрезвычайных ситуациях. Больные, имеющие глубокие и обширные поражения кожных покровов, находятся на длительном стационарном лечении, при котором используются медикаментозная терапия и оперативные вмешательства [1]. Острое повреждение почек (ОПП) является грозным осложнением термических ожогов кожи. Частота почечного повреждения варьирует от 20 % до 30 % и увеличивается при обширных поражениях кожных покровов [2]. Патогенетические механизмы острого повреждения почек в разные периоды ожоговой болезни недостаточно изучены [3]. В последние годы появились работы, в которых исследован новый биомаркер повреждения почек – липокалин – и его роль в патогенезе при лекарственно-индуцированных нефропатиях, хронической болезни почек, системных заболеваниях. Между тем данный предиктор повреждения почек при термической травме исследован недостаточно [4, 5].

Нейтрофильный желатиназа-ассоциированный липокалин (NGAL, neutrophil gelatinase-associated lipocalin) – белок, который секретируется в основном клетками иммунной системы, такими как нейтрофилы и макрофаги, в ответ на воспаление. Липокалин известен как маркер повреждения почечной ткани, высвобождается при массивном поражении канальцев почек и при процессах регенерации [6, 7]. В организме человека NGAL связан с матриксными металлопротеиназами (MMP, matrix metalloproteinase). Основные часто встречаемые матриксные металлопротеиназы – это MMP-2 и MMP-9. Последние изучены при воспалительных заболеваниях, нефритах, реперфузии почек, ишемии, холодовой травме, сахарном диабете [8, 9]. Исследований, в которых имеется оценка патогенетической значимости данных белков в развитии ОПП при термических ожогах кожи в разные периоды ожоговой болезни, недостаточно.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить динамику изменения уровня раннего биомаркера острого повреждения почек – липокалина, матриксных металлопротеиназ 2 и 9 в сыворотке крови у больных с термическими ожогами кожи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн и условия проведения исследования. Под нашим наблюдением находилось 74 пациента с термическими ожогами кожи I–III степени с площадью поражения кожных покровов от 25 % до 85 %, из них не менее 15 % глубокого ожога, которые получали лечение в ГУЗ «Краевая клиническая больница» и ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы в период с 2021 по 2024 г. Возраст пациентов с термическими поражениями кожи составил 39,5 ± 16,5 года; из них 47 (63,5 %) мужчин и 27 (36,5 %) женщин; площадь поражения кожи – 41,3 ± 17,6 % поверхности тела, уровень смертности – 45,9 %. Группу сравнения составили 35 здоровых людей, возраст которых 40,3 ± 14,2 года; 60 % мужчин (n = 21), 40 % женщин (n = 14).

Этическая экспертиза. Все пациенты были проинформированы о проведении исследования, получены добровольные информированные согласия, которые были разработаны и одобрены согласно требованиям этического комитета ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 117 от 10.11.2021).

Критерии исключения: хронические заболевания почек; мочекаменная болезнь; сахарный диабет; возраст старше 70 и младше 15 лет; наличие онкологических заболеваний.

Исследование уровня NGAL, MMP-2 и MMP-9 в сыворотке крови проводили методом мультиплексного анализа на проточном цитофлуориметре CytoFlex LX (Beckman Coulter, США) с использованием наборов Human Kidney Function Panel 1 и Vascular Inflammation Panel 1 Standard Cocktail (BioLegend, США). Анализ выполняли в программе BioLegend's LEGENDplex™ Data Analysis Software v. 8.0 (BioLegend, США) согласно инструкции фирмы-производителя. Определение уровня креатинина в сыворотке крови проводили кинетическим методом Яффе с пикриновой кислотой на аппарате AU-680.

Определение указанных параметров проводили в период ожогового шока (1–3-и сутки); ожоговой токсемии (7–10-е сутки), ожоговой септикотоксемии (18–21-е сутки) после получения термической травмы. Дополнительно в период ожогового шока уровень креатинина был измерен дважды: при поступлении и спустя 48 ч. Уровень данных показателей был измерен и у здоровых лиц однократно.

Статистическую обработку выполняли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics v. 25.0 (IBM Corp., США). Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального во всех исследуемых группах, статистическую обработку полученных данных проводили непараметрическим методом Манна – Уитни с учётом поправки Бонферрони для сравнения исследуемой группы с группой контроля. Для попарного сравнения периодов ожоговой болезни между собой использовали стандартизированную оценку Z-score [10]. Для определения корреляционных связей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент Спирмена. Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока [11]. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наши исследования показали, что у больных с термическими ожогами кожи в период ожогового шока уровень диуреза снижался до 400 [350; 512] мл, что в 5 раз меньше по сравнению с группой контроля – 2000 [1950; 2100] мл ($p < 0,001$). В период острой ожоговой токсемии и септикотоксемии суточное количество мочи увеличивалось, хотя и не достигало значений контрольной группы. Так, в период ожоговой токсемии уровень диуреза составил 1450 [1200; 2000] мл, что на 28 % меньше, чем в группе контроля ($p < 0,001$). В период ожоговой септикотоксемии суточное количество мочи составило 1700 [1150; 2000] мл, что на 15 % меньше, чем в группе контроля ($p = 0,009$).

При поступлении в стационар у пациентов с термической травмой концентрация креатинина превышала данный показатель группы контроля на 28 % ($p < 0,001$), через 48 ч отмечали увеличение концентрации креатинина на 78 % ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля и на 39 % ($p < 0,001$) по отношению к исходным данным при поступлении пострадавших. В период ожоговой токсемии и септикотоксемии уровень креатинина снижался (табл. 1).

Уровень липокалина в сыворотке крови у больных с термическими ожогами кожи в период шока увеличился в 5,5 раза по отношению к группе контроля ($p < 0,001$). В период ожоговой токсемии и септикотоксемии данный показатель оставался на высоком уровне и превышал контрольные значения в 4,4 и 3,6 раза соответственно (табл. 2).

Установлено, что уровень ММР-2 в период ожогового шока был выше в 4,3 раза ($p < 0,001$), при ожоговой токсемии – в 3,5 раза ($p < 0,001$), в период септикотоксемии – в 2,9 раза ($p < 0,001$) по отношению к группе контроля. Подобная динамика наблюдалась при исследовании концентрации ММР-9. В период ожогового шока концентрация данного белка была выше в 2,9 раза ($p < 0,001$), в период ожоговой токсемии – в 2,3 раза ($p < 0,001$) и ожоговой септикотоксемии – в 1,9 раза ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля (табл. 2).

При анализе полученных данных обращает на себя внимание то, что концентрация сывороточного липокалина и уровень диуреза показывают обратную заметную корреляционную связь ($r_s = –0,6$; $p < 0,001$) в период ожогового шока и ожоговой токсемии. Это свидетельствует о том, что липокалин следует рассматривать в качестве маркера повреждения почек при термической травме. Более того, уровень липокалина в сыворотке крови имеет прямую среднюю связь ($r_s = 0,5$; $p < 0,001$) с ММР-9 в период течения ожогового шока и прямую среднюю связь с ММР-2 ($r_s = 0,5$; $p < 0,001$) в период ожоговой токсемии. Также выявлена обратная средняя связь ($r_s = –0,5$; $p < 0,001$) ММР-2 с суточным диурезом в период шока и обратная высокая по силе связь ($r_s = –0,7$; $p < 0,001$) ММР-2 с количеством суточной мочи в период острой ожоговой токсемии. Данные факты указывают на то, что липокалин и матриксные металлопротеиназы 2 и 9 имеют патогенетическое значение в развитии острого повреждения почек у больных с термическими ожогами кожи.

ТАБЛИЦА 1

УРОВЕНЬ КРЕАТИНИНА У БОЛЬНЫХ С ТЕРМИЧЕСКИМИ ОЖОГАМИ КОЖИ

TABLE 1

CREATININE LEVELS IN PATIENTS WITH THERMAL SKIN BURNS

Изучаемый показатель	Группы исследуемых					Тестовая статистика	
	Группа контроля ($n = 35$)	Ожоговый шок		Ожоговая токсемия (7–10-е сутки) ($n = 68$)	Ожоговая септико-токсемия (18–21-е сутки) ($n = 60$)	Манна – Уитни	Z-score
		1-е сутки после травмы ($n = 74$)	2–3-е сутки после травмы ($n = 74$)				
	к	1	1.1	2	3		
Креатинин, мкмоль/л	75 (71; 77)	96 (85; 103)	134 (124; 147)	86 (81; 90)	82 (74; 83)	$U_{к–1} = 297$; $p_{к–1} < 0,001$; $U_{к–1.1} = 34$; $p_{к–1.1} < 0,001$; $U_{к-2} = 322$; $p_{к–2} < 0,001$; $U_{к–3} = 580$; $p_{к–3} < 0,001$	$Z_{1-1,1} = –7,1$; $p_{1–1.1} < 0,001$; $Z_{1–2} = –4,8$; $p_{1–2} < 0,001$; $Z_{1–3} = –5,7$; $p_{1–3} < 0,001$; $Z_{1,1–2} = –7,0$; $p_{1.1–2} < 0,001$; $Z_{1,1–3} = –6,7$; $p_{1.1–3} < 0,001$; $Z_{2–3} = –4,6$; $p_{2–3} = 0,08$

Примечание. Критерий Манна – Уитни использовался для сравнения исследуемой группы с группой контроля; Z-score использовался для попарного сравнения периодов ожоговой болезни между собой.

ТАБЛИЦА 2

КОНЦЕНТРАЦИЯ ЛИПОКАЛИНА И МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ 2 И 9 У БОЛЬНЫХ С ТЕРМИЧЕСКИМИ ОЖОГАМИ КОЖИ

TABLE 2

CONCENTRATION OF LIDOCAINE AND MATRIX METALLOPROTEINASES 2 AND 9 IN PATIENTS WITH THERMAL SKIN BURNS

Параметры исследований	Группа контроля	Группа исследуемых			Тестовая статистика	
		Контрольная точка 1 (шок)	Контрольная точка 2 (токсемия)	Контрольная точка 3 (септико-токсемия)	Манна-Уитни	Z-score
	к	1	2	3		
Липокалин, нг/мл	136 (112; 166)	743 (529; 856)	598 (485; 835)	484 (335; 742)	$U_{к-1} = 106$ $p_{к-1} < 0{,}001$ $U_{к-2} = 208$ $p_{к-2} < 0{,}001$ $U_{к-3} = 311$ $p_{к-3} = 0{,}09$	$Z_{1-2} = -2{,}6$ $p_{1-2} = 0{,}009$ $Z_{1-3} = -1{,}9$ $p_{1-3} = 0{,}06$ $Z_{2-3} = -2{,}1$ $p_{2-3} = 0{,}3$
MMP-2, нг/мл	15 (10; 18)	65 (43; 77)	52 (17; 61)	44 (38; 47)	$U_{к-1} = 474{,}0$ $p_{к-1} < 0{,}001$ $U_{к-2} = 445$ $p_{к-2} < 0{,}001$ $U_{к-3} = 238{,}0$ $p_{к-3} < 0{,}001$	$Z_{1-2} = -2{,}2$ $p_{1}{}_{-2} = 0{,}3$ $Z_{1-3} = -2{,}3$ $p_{1-3} = 0{,}02$ $Z_{2-3} = -1{,}3$ $p_{2-3} = 0{,}2$
MMP-9, нг/мл	139 (122; 196)	409 (358; 584)	316 (245; 362)	264 (215; 327)	$U_{к-1} = 0{,}0$ $p_{к-1} < 0{,}001$ $U_{к-2} = 265$ $p_{к-2} < 0{,}001$ $U_{к-3} = 158$ $p_{к-3} < 0{,}001$	$Z_{1-2} = -6{,}5$ $p_{1-2} < 0{,}001$ $Z_{1-3} = -6{,}7$ $p_{1-3} < 0{,}001$ $Z_{2-3} = -2{,}0$ $p_{2-3} = 0{,}05$

Примечание. Критерий Манна – Уитни использовался для сравнения исследуемой группы с группой контроля; Z-score использовался для попарного сравнения периодов ожоговой болезни между собой.

ОБСУЖДЕНИЕ

До 30 % больных с термическими ожогами кожи имеют острое повреждение почек [2]. Больные с тяжёлыми ожогами находятся в критическом состоянии, имеют полиорганную недостаточность, при которой развивается, в том числе и почечное повреждение, которое при поздней диагностике сказывается на результатах лечения. В настоящее время известно, что общепринятые критерии диагностики, такие как суточный диурез и уровень креатинина в сыворотке крови, могут не отражать начавшееся острое повреждение почек, так как для увеличения креатинина в крови необходима гибель более 50 % нефронов [12]. Наши исследования показали, что у пациентов с термическими ожогами кожи в период ожогового шока в 5,5 раза увеличивается уровень липокалина, в 4,3 раза – концентрация MMP-2, в 2,3 раза – концентрация MMP-9. Выявлена патогенетическая взаимосвязь данных веществ с уровнем диуреза, в связи с чем можем считать липокалин и матриксные металлопротеиназы потенциальными биомаркерами острого повреждения почек у больных с термическими ожогами кожи. Липокалин экскретируется в том числе и в эпителиальных клетках почек, больше всего регистрируется секреция в канальцах, в связи с чем данный белок был продемонстрирован в качестве потенциального раннего нового биомаркера повреждения почек при разных заболеваниях [13]. При остром повреждении нефрона уровень липокалина в сыворотке крови увеличивается. Кроме того, липокалин может повышать пул матриксных металлопротеиназ и стабилизировать их. Матриксные металлопротеиназы относятся к семейству желатиназ, которые при отсутствии патологии связываются с липокалином и обеспечивают контроль ремоделирования соединительнотканного матрикса, а при патологии гидролизируют белки группы коллагеназ, за счёт чего происходит повреждение почечной паренхимы [14]. Липокалин, связанный с желатиназой нейтрофилов, определяется как биомаркер повреждения проксимальных канальцев почки и при этом участвует в экспрессии MMP-9, тем самым образовывая комплекс MMP-9/NGAL. Наличие положительной корреляционной связи и высоких концентраций данных веществ указывает на развитие острого повреждения почек. Механизм данного явления изучен на молекулярном уровне. Экспрессия MMP-9 усиливается при трансформирующем факторе роста β (TGF-β, transforming growth factor β), в связи с чем расщепляются белки межклеточной адгезии, что усиливает инфильтрацию макрофагов и уровень миелопероксидазы в области поражения и развития воспаления [15]. Промоторная область, отвечающая за экспрессию гена липокалина, имеет участок связывания с различными факторами, регулирующими транскрипцию, один из наиболее значимых – это ядерный фактор «каппа-би» (NF-κB, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), который очень быстро активируется в почеч-

ных канальцах при повреждении почек и стимулирует транскрипцию гена липокалина, вследствие чего повышается его секреция. Данная способность обеспечивает выживание повреждённых ренальных клеток и выводит на дальнейшие циклы пролиферации.

Следует отметить, что при глубоких термических ожогах кожи, когда пациент находится в критическом состоянии, классические клинические методы диагностики не всегда отражают реальную степень почечного повреждения. Массивный рабдомиолиз, активная инфузионная терапия, малобелковая диета, анемия, гормональные лекарственные вещества существенно меняют уровень креатинина. При выявлении начавшегося субклинического острого повреждения почек целесообразно определять уровень липокалина и матриксных металлоппотеиназ 2 и 9 в сыворотке крови. Ранняя диагностика острого повреждения почек помогает своевременно корригировать лечение, что увеличивает выживаемость пациентов с обширной термической травмой кожи.

ВЫВОДЫ

У больных с термическими ожогами кожи в сыворотке крови увеличивается уровень липокалина, матриксных металлопротеиназ 2 и 9 во все периоды ожоговой болезни. Максимальное увеличение данных показателей зарегистрировано в период шока. Имеются корреляционные взаимосвязи между концентрацией указанных белков и уровнем диуреза. Липокалин, ММР-2 и ММР-9 следует рассматривать в качестве ранних биомаркеров острого повреждения почек у больных с термическими ожогами кожи.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовом обеспечении ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Автор выражает свою признательность научному руководителю д.м.н., профессору Цепелеву Виктору Львовичу.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Масляков В.В., Сидельников С.А., Барачевский Ю.Е., Куркин К.Г., Пименова А.А., Полиданов М.А., и др. Массовое одновременное поступление пострадавших в чрезвычайных ситуациях в лечебные медицинские организации: организационные проблемы и возможные пути их решения *Медицина катастроф*. 2023; (2): 51-55. [Maslyakov VV, Sidelnikov SA, Barachevskiy YE, Kurkin KG, Pimenova AA, Polidanov MA, et al. Simultaneous mass admission of emergency victims to medical treatment organizations: Organizational problems and possible ways to solve them. *Disaster Medicine.* 2023; (2): 51-55. (In Russ.)] doi: 10.33266/2070-1004-2023-2

2. Шилова Е.М, Смирнова А.В, Козловская Н.Л *Нефрология.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020. [Shilova EM, Smirnova AV, Kozlovskaya NL. *Nephrology.* Moscow: GEOTAR-Media; 2020. (In Russ.)].

3. Коваль М.Г., Сорокина Е.Ю., Тацюк С.В. Нарушения функции почек в остром периоде ожоговой болезни и их прогностическое значение *Медицина неотложных состояний*. 2019; 7(102): 52-55. [Koval MG, Sorokina OYu, Tatsyuk SV. Impaired renal function in the acute period of burn disease and its prognostic value. *Emergency Medicine.* 2019; 7(102): 52-55. (In Russ.)]. doi: 10.22141/2224-0586.7.102.2019.180358

4. Desai RJ, Kazarov CL, Wong A, Kane-Gill SL. Kidney damage and stress biomarkers for early identification of drug-induced kidney injury: A systematic review. *Drug Saf.* 2022; 45(8): 839-852. doi: 10.1007/s40264-022-01202-2

5. Pacheco-Lugo L, Sáenz-García J, Navarro Quiroz E, González Torres H, Fang L, Díaz-Olmos Y, et al. Plasma cytokines as potential biomarkers of kidney damage in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2019; 28(1): 34-43. doi: 10.1177/0961203318812679

6. Romejko K, Markowska M, Niemczyk S. The review of current knowledge on neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). *Int J Mol Sci.* 2023; 24(13): 10470. doi: 10.3390/ijms241310470

7. Ahuja SS, Castillo B (eds). *Kidney biomarkers: Clinical aspects and laboratory determination.* Academic Press; 2020.

8. Garcia-Fernandez N, Jacobs-Cachá C, Mora-Gutiérrez JM, Vergara A, Orbe J, Soler MJ. Matrix metalloproteinases in diabetic kidney disease. *J Clin Med.* 2020; 9(2): 472. doi: 10.3390/jcm9020472

9. Wozniak J, Floege J, Ostendorf T, Ludwig A. Key metalloproteinase-mediated pathways in the kidney. *Nat Rev Nephrol.* 2021; 17(8): 513-527. doi: 10.1038/s41581-021-00415-5

10. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; (1): 140-150. [Mudrov VA. Statistical analysis algorithms of quantitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Transbaikalian Medical Bulletin.* 2020; (1): 140-150. (In Russ.)].

11. Мудров В.А. Алгоритмы корреляционного анализа данных в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; (2): 169-176. [Mudrov VA. Algorithms for performing data correlation analysis in biomedical research using the SPSS software package. *Transbaikalian Medical Bulletin.* 2020; (2): 169-176. (In Russ.)].

12. Малярчиков А.В., Шаповалов К.Г., Лукьянов С.А., Терешков П.П., Казанцева Л.С. Острое почечное повреждение у больных пневмониями на фоне гриппа A/H1N1. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 53-59. [Malyarchikov AV, Shapovalov KG, Lukyanov SA, Tereshkov PP, Kazantseva LS. Acute kidney injury in patients with pneumonia with A/H1N1 influenza. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 53-59. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.5

13. Yuan JH, Xie LS, Zhu YH, Wang XH, Zhang YJ, Wang XJ. Combination of neutrophil gelatinase-associated lipocalin and matrix metalloproteinase-9 are biomarkers for the detection of colon

tubular adenocarcinoma. *World J Gastrointest Oncol.* 2021; 13(10): 1506-1517. doi: 10.4251/wjgo.v13.i10.1506

14. Григоркевич О.С., Мокров Г.В., Косова Л.Ю. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2019; (2): 3-16. [Grigorkevich OS, Mokrov GV, Kosova LYu. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics.* 2019; (2): 3-16. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2587-7836-2019-10040

15. Yang H, Chen H, Liu F, Ma Q. Up-regulation of matrix metalloproteinases-9 in the kidneys of diabetic rats and the association with neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *BMC Nephrol.* 2021; 22(1): 211. doi: 10.1186/s12882-021-02396-w

Сведения об авторе

Коновалова Алина Анатольевна – аспирант кафедры госпитальной хирургии с курсом детской хирургии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: kuzmina-aa@mail.ru, https://orcid.org/0009-0007-2565-0359

Information about the author

Alina A. Konovalova – Postgraduate at the Department of Advanced Level Surgery with a course of Pediatric Surgery, Chita State Medical Academy, e-mail: kuzmina-aa@mail.ru, https://orcid.org/0009-0007-2565-0359

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ИММУННОГО СТАТУСА И ГЕМОСТАЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ СЕПСИСА

Осиков М.В. [1, 2],
Телешева Л.Ф. [1],
Конашов А.Г. [1, 3],
Гусев А.В. [1, 3],
Конашов В.А. [1, 3]

[1] ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64, Россия)
[2] ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница» (454048, г. Челябинск, ул. Воровского, 70, Россия)
[3] ГАУЗ Ордена Знак Почёта «Городская клиническая больница № 8 г. Челябинск» (454071, г. Челябинск, ул. Горького, 28, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Гусев Андрей Владимирович,
e-mail: andrejgusev1509@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Патогенез сепсиса как патологического процесса, в основе которого лежит реакция организма в виде генерализованного (системного) воспаления на инфекцию различной природы, приводящая к остро возникающей полиорганной дисфункции, включает изменения иммунного ответа, дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных механизмов, нарушения гемостаза, расстройства гемодинамики, микроциркуляции, активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, нарушения доставки, потребления, утилизации кислорода. Превалирование провоспалительного компонента над противовоспалительным и повреждение первичных барьерных структур в зоне воспаления предопределяет прорыв воспалительных медиаторов в системный кровоток. Доминирование деструктивных эффектов цитокинов приводит к расстройству микроциркуляторной гемодинамики за пределами первичного очага, запуску синдрома диссеминированного сосудистого свёртывания и органной недостаточности.

Для сепсиса характерен гиперкоагуляционный-гипофибринолитический фенотип изменения гемостаза, иммунотромбоз в результате эндотелиальной дисфункции, активации тромбоцитов, аутокоид-индуцированной коагуляции, активации внешнего и внутреннего путей свёртывания, снижения активности антикоагуляционной и фибринолитической системы. На сегодняшний день активно исследуются маркеры воспаления, которые можно было бы использовать в качестве прогностических биомаркеров. В качестве биомаркеров изменения иммунного ответа при сепсисе могут рассматриваться фактор некроза опухоли α, интерлейкин (IL) 1β, IL-2, интерферон γ, IL-10, HLA-DR (human leukocyte antigen – DR isotype), C3-, C4-, C5-, C1-ингибиторы комплемента, C3a, C5a, иммуноглобулины A, M и G, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD56^+$, $CD3^+CD19^+$. С целью выявления нарушений гемостаза при сепсисе перспективными биомаркерами могут быть: общее количество тромбоцитов, фактор фон Виллебранда, фактор VIII, протеин С, тромбомодулин, Ингибитор пути тканевого фактора, тканевой активатор плазминогена, ингибитор активатора плазминогена 1, TAFI (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor). Дальнейшее изучение иммуннологического и коагуляционного звеньев патогенеза сепсиса позволит определить ключевые диагностические и прогностические биомаркеры сепсиса.

Проанализировано 125 литературных источников на площадках eLibrary, Medline, PubMed, РИНЦ, из которых 62 источника соответствуют нашим критериям использования в систематическом обзоре.

Ключевые слова: *сепсис, патогенез, иммунитет, гемостаз, биомаркеры*

Статья поступила: 14.05.2024
Статья принята: 25.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Осиков М.В., Телешева Л.Ф., Конашов А.Г., Гусев А.В., Конашов В.А. Современные представления о роли иммунного статуса и гемостаза в патогенезе сепсиса. *Acta biomedica scientifica.* 2024; 9(6): 118-129. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.12

MODERN IDEAS OF THE ROLE OF THE IMMUNE PROCESS AND HEMOSTASIS IN THE PATHOGENESIS OF SEPSIS

Osikov M.V. [1, 2],
Telesheva L.F. [1],
Konashov A.G. [1, 3],
Gusev A.V. [1, 3],
Konashov V.A. [1, 3]

[1] South Ural State Medical University (Vorovskogo str. 64, Chelyabinsk 454092, Russian Federation)
[2] Chelyabinsk Regional Clinical Hospital (Vorovskogo str. 70, Chelyabinsk 454048, Russian Federation)
[2] Chelyabinsk City Clinical Hospital No. 8 (Gorkogo str. 28, Chelyabinsk 454071, Russian Federation)

Corresponding author:
Andrei V. Gusev,
e-mail: andrejgusev1509@gmail.com

ABSTRACT

The pathogenesis of sepsis as a pathological process, which is based on the body's reaction in the form of generalized (systemic) inflammation to an infection of various nature, leading to acute multi-organ dysfunction, includes changes in the immune response, imbalance of pro-inflammatory and anti-inflammatory mechanisms, hemostasis disorders, hemodynamic disorders, microcirculation, activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal system, and disorders of delivery, consumption, and utilization of oxygen. The predominance of the pro-inflammatory component over the anti-inflammatory one and damage to the primary barrier structures in the area of inflammation predetermines the breakthrough of inflammatory mediators into the systemic circulation. The dominance of the destructive effects of cytokines leads to a disorder of microcirculatory hemodynamics outside the primary focus, to the launch of disseminated vascular coagulation syndrome and organ failure.
Sepsis is characterized by a hypercoagulable-hypofibrinolytic phenotype of changes in hemostasis, immunothrombosis as a result of endothelial dysfunction, platelet activation, autocoid-induced coagulation, activation of the external and internal coagulation pathways, and a decrease in the activity of the anticoagulation and fibrinolytic systems. Tumor necrosis factor α, interleukin (IL) 1β, IL-2, interferon γ, IL-10, HLA-DR (human leukocyte antigen – DR isotype), C3, C4, C5, C1 complement inhibitors, C3a, C5a, IgA, IgM, IgG, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD56^+$, $CD3^+CD19^+$ can be considered as biomarkers of changes in the immune response in sepsis. In order to detect hemostasis disorders in sepsis, promising biomarkers may be: total platelet count, von Willebrand factor, factor VIII, protein C, thrombomodulin, tissue factor pathway inhibitor, tissue-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor 1, thrombin activatable fibrinolysis inhibitor. Further study of the immunological and coagulation links of the pathogenesis of sepsis will make it possible to determine the key diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis.
We analyzed 125 literature sources on the eLibrary, Medline, PubMed, RSCI sites, of which 64 sources met our criteria for use in a systematic review.

Key words: *sepsis, pathogenesis, immunity, hemostasis, biomarkers*

Received: 14.05.2024
Accepted: 25.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Osikov M.V., Telesheva L.F., Konashov A.G., Gusev A.V., Konashov V.A. Modern ideas of the role of the immune process and hemostasis in the pathogenesis of sepsis. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 118-129. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.12

ОБОСНОВАНИЕ

Сепсис – типовая форма патологии, в основе которой лежит реакция организма в виде генерализованного (системного) воспаления на инфекцию различной природы (бактериальную, вирусную, грибковую), приводящая к остро возникающей полиорганной дисфункции [1]. В ходе единственного выполненного в России многоцентрового исследования РИОРИТ (Распространённость Инфекций в Отделениях Реанимации и Интенсивной Терапии) установлено, что доля пациентов с сепсисом в ОРИТ составляла 34,1 % от всех госпитализированных, септический шок среди них развивался в 20,2 % случаев [2]. Во всём мире, согласно данным систематического обзора и метаанализа, с 2008 по 2020 г. наблюдается неуклонный прирост заболеваемости сепсисом на 46 %. Так, за 2020 г. она составила 189 случаев пациентов с сепсисом на 100 000 населения. Частота встречаемости сепсиса в отделениях интенсивной терапии составляет 58 человек на 100 000 населения, из которых 41,9 % с летальным исходом [3].

Среди пациентов с сепсисом, поступающих в отделения интенсивной терапии по всему миру, наиболее распространённым источником инфекции являются лёгкие (64 %), брюшная полость (20 %), кровоток (15 %) и мочевыводящие пути (14 %) [4]. При сепсисе чаще всего выделяют грамотрицательные бактерии (58,6 %) [5]. Наиболее распространёнными видами среди них являются *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* [6]. Грамотрицательные бактерии способны формировать капсулы, которые являются важным фактором для снижения иммунного ответа при сепсисе, а также обеспечивают их сохранение в кровотоке [7]. Около 75 % внешней мембраны грамотрицательных бактерий представлена липополисахаридами (LPS), структура которых представлена гидрофобным липидным доменом А (липид А), олигосахаридным ядром и самим внешним полисахаридом О-антигена [8]. Липид А является единственной областью LPS, которая распознается врождённой иммунной системой. Пикомолярных концентраций липида А достаточно для индукции синтеза макрофагами провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли α (TNF-α, tumor necrosis factor α) и интерлейкин (IL) 1β. Для запуска врождённого иммунного ответа достаточно липида А в составе LPS, адаптивный иммунный ответ во время инфекции обычно направлен на О-антиген [8]. Грамположительные аэробные бактерии выделяются у 39,4 % больных сепсисом [5]. Пептидогликан и липотейхоевые кислоты, являющиеся компонентами клеточной стенки, связаны с эндотоксемией при грамположительной инфекции, а также с активацией иммунного ответа [9].

Патогенез сепсиса является гетерогенным, включает системное воспаление, активацию системы комплемента и клеточных факторов врождённого иммунитета, активацию коагуляционного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, сосудистого эндотелия, а также последующую иммуносупрессию, которая повышает вероятность развития вторичных инфекций [10]. Несмотря на то, что за последние десятилетия знания о патогенезе сепсиса значительно расширились, остаётся много вопросов, включая новые диагностические и прогностические биомаркеры, терапевтические подходы [11]. Поскольку исход сепсиса во многом зависит от времени оказания помощи, и первый контакт таких пациентов с врачом происходит в отделении реанимации и интенсивной терапии, необходимость раннего распознавания и стратификации риска привела к выявлению многих прогностических маркеров, которые могут помочь врачу проводить эффективное лечение [12, 13]. Тем не менее, госпитальная смертность по-прежнему остаётся высокой и достигает 40 % [14]. При диагностике сепсиса существуют три основные проблемы: 1) многие клинические симптомы являются неспецифичными для сепсиса; 2) ни один биомаркер не обладает достаточной чувствительностью и специфичностью для идентификации сепсиса из-за сложных патофизиологических механизмов; 3) сепсис представляет собой гетерогенный синдром без единой этиологии или патофизиологического механизма [15]. Эти проблемы требуют особого внимания к изучению механизмов развития сепсиса, патогенетического обоснования диагностических и прогностических маркеров, патогенетической терапии, поскольку ранняя диагностика и лечение необходимы для улучшения исходов сепсиса [16].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести критический анализ данных по патогенезу сепсиса в источниках, индексированных в Российском индексе научного цитирования (РИНЦ), PubMed, Medline, за период с 2019 по 2024 г. по ключевым словам: сепсис, патогенез, иммунитет, гемостаз, биомаркеры.

СИНТЕЗ ДАННЫХ И ИХ АНАЛИЗ

В базах данных РИНЦ, Medline и PubMed был проведён поиск соответствующих исследований, опубликованных с января 2019 г. по апрель 2024 г., с использованием ключевых слов: сепсис, патогенез, иммунитет, гемостаз, биомаркеры. Стратегия поиска выявила 2718 записей: 185 из РИНЦ, 1718 из PubMed, 815 из Medline. Далее путём тщательного анализа содержания было отобрано 125 удовлетворяющих критериям поиска источников (рис. 1). Исследования были удовлетворяющими, если они были направлены на изучение патогенеза сепсиса, определение роли изменений иммунного ответа и гемостаза при сепсисе, а также на поиск новых прогностических биомаркеров в патогенезе сепсиса.

Затем к отобранным источникам применялись следующие критерии исключения: повторяющиеся статьи, отсутствие полноты информации об изменениях иммунного ответа и гемостаза при сепсисе, отсутствие клинической значимости прогностических маркеров при сепсисе, беременность или возраст до 18 лет у исследуемой группы, наличие в анамнезе онкологических заболеваний. После проведённого анализа исключены источники, не удовлетворяющие требованиям изменений иммунного ответа ($n = 23$) и гемо-

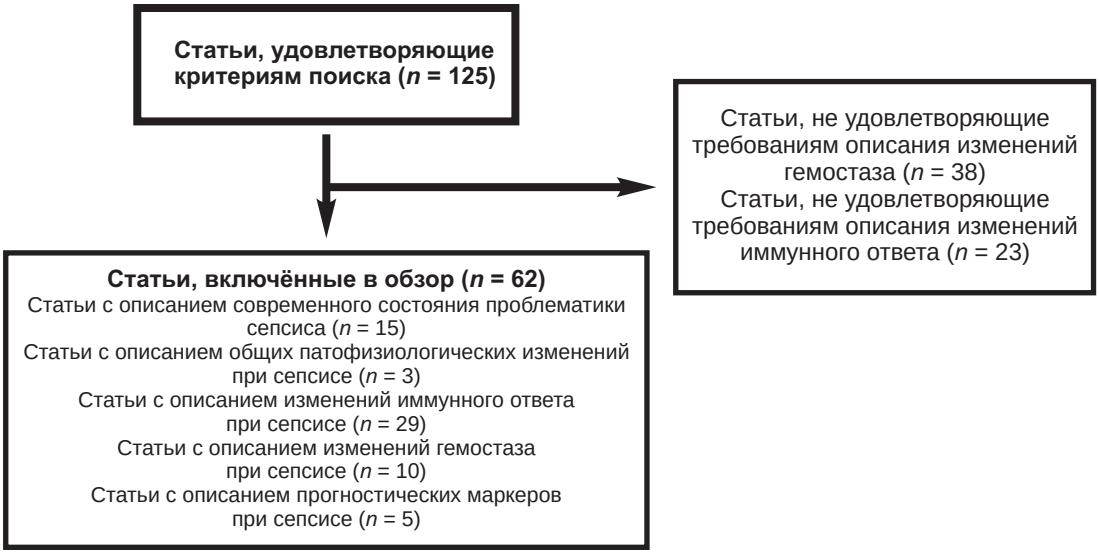


РИС. 1.
Блок-схема анализа источников литературы

FIG. 1.
References analysis flowchart

стаза (*n* = 38) при сепсисе, оставшиеся 62 статьи были включены в обзор и разбиты по категориям (рис. 1).

ОБЩИЕ ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ СЕПСИСЕ

Основными звеньями патогенеза при сепсисе являются: активация врождённого и адаптивного иммунитета, активация и дисфункция эндотелия, дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных механизмов, сепсис-индуцированная коагулопатия и диссеминированное внутрисосудистое свёртывание крови, расстройства центральной и периферической гемодинамики, микроциркуляции, активация гипоталамо-гипофизарной системы, надпочечниковая дисфункция, нарушения доставки, потребления и утилизации кислорода в тканях [17].

При сепсисе механизмы, приводящие к нарушениям микроциркуляции, являются комплексными и включают дисфункцию эндотелия, деформируемость эритроцитов, изменения гемореологии, дисбаланс между вазодилататорами и вазоконстрикторами. Недостаточное снабжение тканей кислородом является основным гемодинамическим эффектом, наблюдаемым при сепсисе [18]. На начальных стадиях сепсиса высвобождаются провоспалительные цитокины и возникает интенсивная воспалительная реакция, вызывающая изменения микроциркуляции: наблюдаются нарушения всех клеточных элементов микроциркуляции, включая эндотелиальные клетки, гладкомышечные клетки сосудов, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты и паренхиматозные клетки. Активация лейкоцитов индуцирует их адгезию и миграцию в ткани, что дополнительно усиливает воспаление, активирует тромбоциты и запускает каскад свёртывания крови и систему комплемента [18]. Оксид азота (NO, nitric oxide) является важным фактором нарушения микроциркуляции. При сепсисе синтез NO обычно повышен за счёт активации индуцируемой формы NO-синтазы (iNOS, inducible nitric oxide synthase), что усиливает генерацию активных форм азота и окислительный стресс. Активация iNOS сопровождается ингибированием активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS, endothelial nitric oxide synthase), что приводит к снижению биодоступности NO [19]. Таким образом, при сепсисе снижается защитная роль NO, связанная с ингибированием агрегации тромбоцитов и локальным расслаблением гладкой мускулатуры сосудов, что приводит к дисфункции микроциркуляции. Изменение кровотока в системе микроциркуляции снижает тканевую перфузию, которая зависит от диффузии и конвекции. Первая определяется плотностью сосудов, в то время как вторая связана со скоростью кровотока и насыщением гемоглобина. Сепсис связан со значительным увеличением количества деструктурированных капилляров, что приводит к гипоксии органов и тканей. В результате метаболического перепрограммирования, включающего сдвиг синтеза аденозинтрифосфата (АТФ) от окислительного фосфорилирования к гликолизу (эффект Варбурга), ингибирование дыхательной цепи митохондрий и остановку клеточного цикла [18].

РОЛЬ ИЗМЕНЕНИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА В ПАТОГЕНЕЗЕ СЕПСИСА

Сепсис является двухфазным заболеванием с одновременной активацией про- и противовоспалительных реакций, в ходе которых возникают изменения врождённого и адаптивного иммунитета [20]. Гипервоспалительная фаза характеризуется выбросом провоспалительных цитокинов, «цитокиновым штормом», повышенной чувствительностью иммунных клеток к эндотоксинам, их дисфункцией. Гиповоспалительная фаза проявляется устойчивостью иммунных клеток к эндотоксинам, истощением и гибелью клеток лимфоидного и миелоидного ряда вплоть до иммунодепрессии [21].

Роль изменения врождённого иммунитета в патогенезе сепсиса

Врождённый иммунный ответ запускается незамедлительно при вторжении микробного патогена, который распознается иммунной системой хозяина через паттерн-распознающие рецепторы (PRR, pattern recognition receptor) на моноцитах, макрофагах, дендритных клетках, нейтрофилах, лимфоцитах [22]. Бактерии экспрессируют ассоциированные с патогеном молекулярные паттерны (PAMP, pathogen-associated molecular patterns), которые распознаются PRR, включая Toll-подобные рецепторы (TLR, Toll-like receptors). Активация клеток врождённого иммунитета посредством этих механизмов приводит к взаимодействию TLR и киназ из семейства IRAKs (interleukin 1 receptor associated kinase), активации транскрипционного фактора NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) и MAP-киназ (MAPK, mitogen-activated protein kinase), транскрипции генов провоспалительных цитокинов, включая TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, интерферон (IFN) γ, что приводит к «цитокиновому шторму» [23, 24].

При сепсисе нейтрофилы в большом количестве выходят из костного мозга и являются источником протеолитических ферментов, активных форм кислорода и активных форм азота [25]. При активации нейтрофилов высвобождаются нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs, neutrophil extracellular traps), представляющие деконденсированные структуры ядерной или митохондриальной ДНК, гистонов, цитозольных и гранулярных белков с бактерицидной и протромботической активностью [10]. Чрезмерное формирование NETs при сепсисе может вызвать повреждение тканей и перегрузку системы свёртывания крови, способствуя внутрисосудистому тромбозу, синдрому диссеминированного внутрисосудистого свёртывания крови (ДВС-синдром), синдрому полиорганной недостаточности (СПОН) [10]. В гиповоспалительную стадию наблюдается снижение образования NETs, хемотаксиса нейтрофилов, генерации активных форм кислорода и активных форм азота, лактоферрина [21].

В гипервоспалительную фазу усиливается провоспалительная активность макрофагов, а в гиповоспалительную стадию развивается феномен толерантности к эндотоксину как проявление сепсис-индуцированной иммуносупрессии. В этот период у моноцитов снижается способность высвобождать медиаторы воспаления, такие как TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8 и IL-12, в ответ на инфекцию. Напротив, их способность синтезировать и секретировать противовоспалительные цитокины, такие как IL-10, не нарушена, а в некоторых случаях повышена [22]. Отмечено снижение экспрессии антигена HLA-DR (human leukocyte antigen – DR isotype), что связано с худшим исходом сепсиса, поскольку презентация антигена нарушена, данное снижение экспрессии может использоваться в качестве биомаркера. Иммуносупрессия и анергия макрофагов ассоциированы с увеличением летальности и частоты нозокомиальных инфекций при сепсисе [26].

NK-клетки (natural killers) играют очень сложную роль при сепсисе. Они проявляют низкую экспрессию TLR-4 на своей поверхности и умеренную экспрессию TLR-4 в клетках, которые могут быть активированы PAMPs для выработки IFN-γ, следовательно, NK-клетки являются основными продуцентами IFN-γ при сепсисе [27]. Как показано в исследовании T. Feng и соавт., цитотоксичность NK-клеток резко снижается при сепсисе, что может быть результатом снижения дифференцировки кластеров $CD3^+CD56^+$ NK-клеток, а также снижения функции NK-активирующих рецепторов и нарушения продукции цитокинов у пациентов с сепсисом [28]. Тем не менее, в другом исследовании были получены результаты, в которых NK-клетки, выделенные от пациентов с сепсисом, выделяли большее количество IFN-γ по сравнению со здоровыми контрольными группами после лечения LPS [27].

При сепсисе обнаруживается чрезмерная активация системы комплемента по альтернативному, классическому и лектиновому путям [29]. На стадии неконтролируемого воспаления могут быть обнаружены повышенные уровни компонентов C3a, C4a и C5a [22]. При сепсисе это можно рассматривать как «парадокс комплемента», поскольку комплемент является центральным элементом врождённой иммунной защиты от микроорганизмов, однако в контексте развития полиорганной недостаточности активация комплемента, по-видимому, усиливает, а не защищает от органной дисфункции [30].

Роль изменений адаптивного иммунитета в патогенезе сепсиса

Со стороны адаптивного иммунитета в гипервоспалительную фазу отмечается активация Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) и цитотоксических Т-клеток ($CD3^+CD8^+$). Последующая дифференциация и пролиферация этих клеток приводят к высокоспецифичному адаптивному иммунному ответу [22]. Активация $CD3^+CD4^+$ способствует дифференцировке субпопуляций Т-хелперов (Th), включая Th1, Th2 и Th17. Th1 посредством IL-2 формируют Т-клетки памяти, которые активируют $CD3^+CD8^+$. Th1 продуцируют IFN-γ, который способствует фагоцитозу, формируя провоспалительный эффект. Th2 высвобождают IL-4 и IL-5, IL-10, которые обладают противовоспалительным эффектом [31]. Соотношение Th1 и Th2 важно для устранения инфекции, а также в перспективе развития вторичных инфекций [22]. Активированные $CD3^+CD8^+$ при сепсисе синтезируют TNF-α и IFN-γ и тем самым обеспечивают цитотоксическое действие [31].

В гиповоспалительную фазу при развитии иммуносупрессии $CD3^+CD4^+$ и $CD3^+CD8^+$ подвергаются апоптозу, развивается лимфопения, которая коррелирует с плохим прогнозом, особенно у пожилых пациентов [32]. Апоптотическое истощение $CD3^+CD4^+$ приводит к снижению продукции цитокинов IL-2, IL-12 и IFN-γ субпопуляциями $CD3^+CD4^+$, особенно Т-хелперов Th1 и Th2 [33, 34].

Не меньшую роль при сепсисе играют регуляторные Т-лимфоциты (Treg), подавляя чрезмерную иммунную реакцию, вызванную другими клетками врождённой и адаптивной иммунной системы, что в свою оче-

редь ослабляет воспалительный ответ. Иммуносупрессия осуществляется за счёт синтеза IL-10, IL-33 и трансформирующего фактора роста β. Эти супрессивные функции Treg нарушаются во время сепсиса, что в свою очередь влияет на активацию и пролиферацию эффекторных Т-клеток во время инфекции [35]. Treg менее восприимчивы к апоптозу. В процессе развития сепсиса наблюдается увеличение количества Treg с одновременной потерей эффекторных Т-клеток, что влияет на прогноз развития заболевания, присоединение вторичной и оппортунистической инфекции [16].

Во время сепсиса нарушается функциональная активность В-лимфоцитов ($CD3^+CD19^+$) [36]. Общая доля селезёночных и тканеспецифичных $CD3^+CD19^+$ снижается [22], что приводит к иммуносупрессии [37]. Основными причинами иммуносупрессии в данном случае являются нарушение презентации антигена (АГ), активация апоптоза, нарушение созревания и миграции к месту воспаления, снижение выработки антител, снижение активации и пролиферации, аномальная выработка цитокинов [33, 38, 39].

ПОСЛЕДСТВИЯ ДИЗРЕГУЛЯЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ СЕПСИСЕ

Цитокины играют ключевую роль в регуляции иммунного ответа [40]. Сепсис вызывает быструю и массивную выработку TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1, monocyte chemoattractant protein 1) и IL-8, которые способствуют развитию «цитокинового шторма», повреждению различных систем жизненно важных органов [34, 40]. Значительное, продолжительное повышение уровня цитокинов оказывает прямое или непрямое повреждающее действие на окружающие органы и ткани [41].

IL-1β и IL-6, угнетают сократительную способность кардиомиоцитов и индуцируют экспрессию васкулярных молекул клеточной адгезии (VCAM-1, vascular cell adhesion molecule 1) в эндотелии коронарных сосудов, что опосредует инфильтрацию нейтрофилов в миокард [42]. NO усугубляет митохондриальную дисфункцию, уменьшая утилизацию кислорода миокардом, а также обеспечивает дальнейшее высвобождение провоспалительных цитокинов и подавляет β-адренергические рецепторы [42]. Следовательно, у пациентов с сепсисом наблюдается обратимая систолическая недостаточность левого желудочка, обусловленная гипокинезией и сниженной фракцией выброса [43].

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), возникающий при сепсисе, вызывается дисфункцией эндотелиального барьера в лёгких, опосредуемой провоспалительными цитокинами, повышенной проницаемостью лёгочных сосудов и диффузными лёгочными инфильтратами. Это приводит к накоплению богатой белками жидкости, предрасполагающей к острой дыхательной недостаточности [16].

При сепсисе провоспалительные цитокины способны проникать в паренхиму головного мозга и вызывать окислительный стресс, приводя к дисфункции нейронов, повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера, отёку головного мозга, ишемии, септической энцефалопатии. Цитокины, которые попадают в паренхиму головного мозга, связываются с рецепторами на поверхности нейронов и усиливают воспалительные реакции. Сепсис по-разному поражает различные области мозга: кора и гиппокамп более чувствительны. Поражённые нейроны подвергаются апоптозу и пироптозу, что может быть одним из механизмов когнитивных нарушений, развития септической энцефалопатии [44].

При сепсисе повышенные уровни цитокинов могут модулировать проницаемость кишечника путём регуляции экспрессии белков клаудина 2, клаудина 5, JAM-A (junctional adhesion molecule A), окклюдина и ZO-1 (zonula occludens 1). Активация киназы лёгких цепей миозина (MLCK, myosin light-chain kinase) может повышать уровни IL-6, TNF-α и IL-1β [45]. Повышенная проницаемость кишечника приводит к усилению системного воспаления. Повышение уровня провоспалительных цитокинов приводит к кишечному апоптозу и повышенной проницаемости, бактериальной транслокации и усилению воспалительных реакций. В связи с повышенной проницаемостью и бактериальной транслокацией происходит поражение печени путём изменения метаболизма желчных кислот, что в совокупности приводит к окислительному стрессу, апоптозу или некрозу гепатоцитов, фиброзу и циррозу [45].

IL-6 индуцирует выделение эндотелиальными клетками почек провоспалительных цитокинов и увеличивает проницаемость сосудов почек, играя определённую роль в микроциркуляторной дисфункции почек. Кроме того, высокий уровень циркулирующих цитокинов при сепсисе в крови способствует гибели клеток и повреждению почечной структуры [46]. Всё это в совокупности приводит к развитию почечной недостаточности при сепсисе [46].

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СЕПСИСЕ

На сегодняшний активно исследуется патогенез сепсиса, а также маркеры воспаления, связанные с ним, которые можно было бы использовать в качестве прогностических биомаркеров. В связи с этим возможные новые биомаркеры смогут помочь выявить нарушение регуляции иммунного ответа, предотвратить развитие полиорганной недостаточности, а также спрогнозировать повторную госпитализацию и вероятность неблагоприятного прогноза развития заболевания [47].

Проспективное обсервационное исследование показало, что уровни TNF-α, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 и HLA-DR могут быть связаны с неблагоприятным прогнозом у пациентов с сепсисом [47]. В другом исследовании наблюдаются высокие уровни нескольких ключевых провоспалительных цитокинов, таких как IL-1β, IL-2, IL-6, TNF-α, IFN-γ и IL-10, некоторые из которых также коррелируют

с тяжестью заболевания [48]. Количество Т-лимфоцитов также является показателем для прогнозирования иммуносупрессии, вызванной сепсисом, которая может быть ассоциирована с неблагоприятным прогнозом. В процессе иммуносупрессии из-за усиления апоптоза и высокой экспрессии ингибирующих молекул иммунных контрольных точек количество Т-клеток значительно снижается, что ещё больше усугубляет иммуносупрессию и даже приводит к иммунному коллапсу [49]. Согласно другому исследованию, предполагается, что имеется значимая прогностическая ценность комбинированного применения показателей IgG, IgM и IgA. Функционально концентрации IgG, IgA и IgM в сыворотке напрямую отражают состояние и активность В-клеток [38]. Продукты активации комплемента, такие как C3a и C5a, и соответствующие им рецепторы предоставляют полезные диагностические инструменты и перспективные мишени для улучшения функции органов и результатов лечения согласно исследованию T.E. Mollnes и соавт. [50].

Учитывая вышеизложенное, патогенетически обоснованными прогностическими биомаркерами в диагностике изменений врождённого и адаптивного иммунитета при сепсисе могут быть TNF-α, IL-1β, IL-2, IFN-γ, IL-10, HLA-DR. C3, C4, C5 и C1 ингибиторы комплемента, C3a, C5a, IgA, IgM и IgG, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD56^+$, $CD3^+CD19^+$.

РОЛЬ ИЗМЕНЕНИЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ СЕПСИСА

Для сепсиса характерен гиперкоагуляционно-гипофибринолитический фенотип изменения гемостаза [51]. Нарушения гемостаза включают: эндотелиальную дисфункцию, активацию тромбоцитов, аутокоид-индуцированную коагуляцию, активацию внешнего и внутреннего путей свёртывания, угнетение антикоагулянтных процессов, нарушение фибринолиза. Итогом может быть развитие ДВС-синдрома, тканевая гипоперфузия, которые являются основным механизмом СПОН [51, 52].

Сосудистое звено гемостаза

Сепсис вызывает генерализованное повреждение эндотелия – эндотелиопатию. Цитокиновый шторм во время неконтролируемого воспаления повреждает эндотелий, вызывая нарушение сосудистого тонуса, и нарушает барьер сосудистой проницаемости [16]. Эндотелий сосудов является первичной антитромботической системой при сепсисе, которая высвобождает NO, простациклин, антитромбин, содержит гликокаликс. Целостность эндотелия, регулируемая эндотелиальным цитоскелетом и гликокаликсом, нарушается из-за высвобождения активных форм кислорода, воспалительных цитокинов и бактериальных эндотоксинов, что приводит к потере антитромботической активности [16]. Протромботическая активность эндотелия при сепсисе связана с экспрессией тканевого фактора (ТФ), молекул адгезии, высвобождением фактора Виллебранда (VWF, von Willebrand factor), фактора VIII, снижением образования тромбомодулина [53]. Следовательно, повреждение эндотелия в результате выброса провоспалительных цитокинов вызывает нарушение проницаемости, которое впоследствии активирует систему свёртывания крови, что приводит к системной эндотелиопатии, функциональным изменениям эндотелия, молекулярной дисфункции и микротромбогенезу [54]. При сепсисе экзоцитоз ультравысокомолекулярных мультимеров VWF (ULVWF, ultra large von Willebrand factor) и активация тромбоцитов запускают активацию гемостаза. ULVWF могут фиксироваться на поверхности эндотелиоцитов при помощи P-селектина, который секретируется из телец Weibel – Palade одновременно с ULVWF. Избыток ULVWF в сосудах микроциркуляции приводит к образованию комплексов тромбоцит-ULVWF и, как следствие, тромбоцитарных тромбов [54].

Тромбоцитарное звено гемостаза

После попадания микроорганизмов в кровоток они взаимодействуют с тромбоцитами, приводя к их активации и увеличению потребления [55]. Потребление тромбоцитов через опосредованную тромбином активацию тромбоцитов является наиболее распространённым механизмом тромбоцитопении при сепсисе [56]. Активация тромбоцитов при сепсисе происходит через TLR, гликопротеин GPIIb/IIIa, FcγRIIa, gC1q-R, также могут активироваться за счёт взаимодействия с IL-6 и IL-8 [55, 57]. Во время активации тромбоциты способны подвергаться пироптозу, который индуцируется циркулирующим S100A8/A9 [58, 59]. В ответ на потребление происходит увеличение выработки тромбоцитов, поэтому на ранней стадии сепсиса обычно наблюдается увеличение количества тромбоцитов – тромбоцитоз. Однако вскоре скорость потребления тромбоцитов начинает превышать скорость их выработки, развивается тромбоцитопения [55].

Тромбоциты при сепсисе ответственны за сопряжение тромбоза, воспаления и врождённых иммунных реакций. Активированные тромбоциты экспрессируют CD40L (CD154), мембранный гликопротеин семейства TNF, который взаимодействует с рецептором CD40 на эндотелии, вызывая воспалительный ответ, и активацию В-лимфоцитов, усиливая продукцию ими иммуноглобулинов, созревание и активацию дендритных клеток [60]. Активированные тромбоциты привлекают нейтрофилов к месту повреждения [56], экспрессируют HMGB-1 (high-mobility group protein B1), что ведёт к образованию NETs, которые улавливают патогенные микроорганизмы и помогают их уничтожать [56]. Полное формирование NETs требует образования комплексов тромбоцит-нейтрофил в TLR4-зависимом процессе [55]. Агрегация/адгезия тромбоцитов с лейкоцитами и эндотелиальным клеткам является распространённым механизмом образования тромбоцитарно-лейкоцитарных комплексов в процессе иммунотромбоза, что увеличивает потребление тромбоцитов [56]. Тромбоциты обладают рецепторами для активированных компонентов комплемента (CR2, CR3, CR4, C1qR) и C1-ингибитора, факторов D и H. Активированные тромбоциты при сепсисе опосредуют

активацию системы комплемента через высвобождение протеинкиназ и АТФ, а также путём фосфорилирования C3 и C3b [60]. При сепсисе активированные тромбоциты могут продуцировать лиганд и рецептор суперсемейства TNF (TRAIL и LIGHT), хемокин SDF-1 (CXCL12), IL-1β, IL-8 и растворимый рецептор IL-6 (sRIL-6) [60].

Коагуляционное звено гемостаза и антигемостаза

Избыточная экспрессия ТФ является одним из основных триггеров активации системы гемостаза при сепсисе, которая усиливается за счёт секреции провоспалительных цитокинов и экспрессии антигенов [51, 52]. Повреждение эндотелия микробными токсинами приводит к усилению образования ТФ, активации фактора VII и внешнего пути каскада свёртывания крови [61]. NETs обладают высокой протромботической активностью, способствуя прокоагулянтному состоянию, запуская коагуляционный каскад при сепсисе. При сепсисе наблюдается перекрёстное взаимодействие с внутренним путём свёртывания посредством активации фактора VIIa фактором IX. Изначально наблюдается гиперкоагуляция с повышенным фибриногенезом, микрососудистым тромбозом; при прогрессировании сепсиса возникает коагулопатия потребления, приводящая к гипокоагуляции [61].

Активации свёртывания крови при сепсисе противодействуют три антикоагулянтных пути: антитромбин, протеин С и ингибитор пути тканевого фактора (TFPI, tissue factor pathway inhibitor) [52]. По мере прогрессирования сепсиса эти три механизма нарушаются из-за пониженного синтеза, экстравазации плазмы и деградации протеазами и нейтрофильными эластазами, что приводит к протромботическому состоянию. Антитромбин является важным антикоагулянтным фактором, который ингибирует фактор IXa, Xa, XIa, XIIa и в большей степени тромбин. При сепсисе его активность снижается из-за угнетения синтеза, а также повышенной деградации протеазами и эластазами нейтрофилов [62]. Активация протеина С опосредуется комплексом тромбин – тромбомодулин на эндотелиальных клетках, что приводит к ингибированию факторов Va и VIIIa. Однако уровень протеина С и тромбомодулина при сепсисе снижен [51]. Наконец ингибитор пути ТФ инактивирует комплекс ТФ – фактор VIIa и вырабатывается многими клетками, включая эндотелиальные, однако его уровень снижается при сепсисе, что приводит к нарушению инактивации комплекса ТФ – фактор VIIa [51]. Таким образом, антитромбин, протеин С, тромбомодулин, TFPI могут быть важными биомаркерами нарушения антикоагулянтных механизмов при сепсисе.

При сепсисе фибринолитическая активность плазмы зависит от баланса между тканевым активатором плазминогена (tPA, tissue-type plasminogen activator), тканевым ингибитором активатора плазминогена (PAI-1, plasminogen activator inhibitor 1) и тромбин-активируемым ингибитором фибринолиза (TAFI, thrombin activatable fibrinolysis inhibitor). tPA способствует фибринолизу за счёт деградации фибрина плазмином, в то время как PAI-1 ингибирует фибринолиз. На ранней стадии сепсиса фибринолиз усиливается из-за превращения плазминогена в плазмин под влиянием избытка tPA. Позднее возникает угнетение фибринолиза, поскольку повышаются PAI-1, уровень TAFI. Угнетение фибринолиза способствует гиперкоагуляции, наблюдаемой при сепсисе [51].

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ СЕПСИСЕ

Раннее выявление пациентов с высоким риском развития нарушений гемостаза при сепсисе имеет большое прогностическое значение, однако на сегодняшний день недостаточно доказательной базы, касаемой нарушений гемостаза при сепсисе. Лабораторная оценка нарушений гемостаза при сепсисе основана на традиционных тестах, включая общее количество тромбоцитов, протромбиновое время, международное нормализованное отношение (МНО), продукты распада фибрина, такие как D-димеры и уровень фибриногена. Известно, что тромбоцитопения является предиктором неблагоприятного прогноза при сепсисе [52]. Согласно данным систематических обзоров, сепсис характеризуется истощением протеина С и нарушением выработки активированного протеина С, что делает их уровни потенциальными прогностическими биомаркерами в этих условиях. Также высокие уровни тромбомодулина в плазме крови коррелируют с повышенной смертностью у пациентов с сепсисом и ДВС-синдромом. Природный антикоагулянт TFPI ингибирует активацию тканевого фактора и пути внешней коагуляции. Снижение TFPI связано с повышенной восприимчивостью к развитию ДВС-синдрома при сепсисе. PAI-1 может ингибировать опосредованное плазмином растворение микротромбов в микроциркуляторном русле и, таким образом, способствовать развитию ДВС-синдрома. Ретроспективное одноцентровое исследование 186 пациентов с сепсисом показало, что PAI-1 был единственным независимым прогностическим маркером 28-дневной смертности среди биомаркеров сепсиса и маркеров фибринолиза/коагуляции при оптимальном пороговом значении 83 нг/мл [51].

Учитывая вышеизложенное, патогенетически обоснованными прогностическими биомаркерами в диагностике нарушения гемостаза могут являться: общее количество тромбоцитов, VWF, фактор VIII, протеин С, тромбомодулин, TFPI, tPA, PAI-1, TAFI.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патогенез сепсиса является гетерогенным по механизмам развития, где ключевыми звеньями являются: активация врождённого и адаптивного иммунитета, активация и дисфункция эндотелия, дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных механизмов, сепсис-индуцированная коагулопатия и диссеминированное внутрисосудистое свёртывание крови, расстройства центральной и периферической гемодинамики, микро-

циркуляции, активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, нарушения доставки, потребления и утилизации кислорода в тканях. Воспалительный ответ, тканевая гипоксия, нарушения иммунного и клеточного метаболизма, эндотелиальная и микрососудистая дисфункция в совокупности приводят к развитию синдрома полиорганной недостаточности, который является основной причиной летальности у пациентов с сепсисом.

Сепсис можно рассматривать как двухфазное заболевание с одновременной активацией про- и противовоспалительных реакций, в ходе которых возникают изменения врождённого и адаптивного иммунитета. В гипервоспалительную фазу при сепсисе клетки врождённого иммунитета синтезируют провоспалительные цитокины (TNF-α, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, IFN-γ), NETs, протеолитические ферменты, лактоферрин, активные формы кислорода, активные формы азота, растёт экспрессия HLA-DR на мембранах клеток, наблюдается чрезмерная активация системы комплемента, что имеет значение в повреждении органов и тканей. В гиповоспалительную фазу снижается синтез провоспалительнных цитокинов, экспрессия HLA-DR на лейкоцитах, количество NETs, лактоферрина, активных форм кислорода, активных форм азота, эластаз, металлопротеиназ, увеличивается синтез IL-10, ILβ-Ra, TNFR1 (tumor necrosis factor receptor 1), формируется иммуносупрессия, феномен толерантности к эндотоксину, возрастает риск присоединения вторичных нозокомиальных инфекций.

Для адаптивного иммунитета в гипервоспалительную фазу сепсиса характерна активация $CD3^+CD4^+$ и $CD3^+CD8^+$, что приводит к их дальнейшей дифференцировке и цитотоксическому действию за счёт синтеза TNF-α и IFN-γ, выработке антител. В гиповоспалительную фазу развивается иммуносупрессия в результате апоптоза $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$ и $CD3^+CD19^+$, возникает лимфопения, которая коррелирует с плохим прогнозом, особенно у пожилых пациентов. Также снижается продукция провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-12, TNF-α), в том числе за счёт активации Treg, которые менее восприимчивы к апоптозу.

На фоне системного выброса провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-α, IFN-β, IFN-γ, MCP-1 и IL-8 развивается эндотелиопатия, формируются патофизиологические изменения с преимущественным повреждением центральной нервной системы, сердечно-сосудистой системы, дыхательной системы, почек, печени, желудочно-кишечного тракта.

При сепсисе у пациентов выявляется гиперкоагуляционно-гипофибринолитический фенотип изменения гемостаза. Данный фенотип формируется в результате эндотелиальной дисфункции, активации тромбоцитов, аутокоид-индуцированной коагуляции, активации внешнего и внутреннего пути свёртывания, угнетения антикоагулянтных процессов, нарушения фибринолиза. В результате эндотелиопатии снижается антитромботическая и повышается протромботическая активность эндотелия за счёт экспрессии ТФ, VWF, ULVWF, фактора VIII, активации тромбоцитов, что ведёт к микротромбогенезу, который поддерживается провоспалительной активностью эндотелия и вносит вклад в нарушение микроциркуляции и патогенез СПОН.

Тромбоциты при сепсисе участвуют в сопряжении гемостаза, факторов врождённого и адаптивного иммунитета как единых участников иммунотромбоза, в котором тромбоциты активируются через TLR, GPIIb/IIIa, FcγRIIa, gC1q-R, взаимодействуют с лейкоцитами, выделяют провоспалительные цитокины, хемокины, способствуют образованию NETs, активируют систему комплемента. Изначально наблюдается увеличение их потребления, сопровождающееся ростом продукции (тромбоцитоз) с последующим его угнетением (тромбоцитопения).

Коагуляционное звено гемостаза при сепсисе активизируется как по внешнему, так и по внутреннему пути, перекрёстное взаимодействие осуществляется посредством активации фактора VIIa, фактором IX. Гиперкоагуляционные изменения с повышенным фибриногенезом в запущенных случаях сменяются коагулопатией потребления, гипокоагуляцией. Наравне с этим наблюдается снижение активности антикоагулянтной системы, проявляющаяся снижением антитромбина, протеина С, тромбомодулина, TFPI, формируется протромботический фенотип гемостаза. При сепсисе отмечается угнетение активности фибринолитической системы за счёт роста PAI-1, TAFI, снижения уровня tPA. Всё вышеперечисленное способствует развитию гиперкоагуляции на фоне снижения активности антикоагуляционной и фибринолитической системы свёртывания крови.

В связи с тем, что сепсис представляет гетерогенное по патофизиологическим механизмам заболевание, на сегодняшний день не существует биомаркеров, обладающих достаточной чувствительностью и специфичностью. Патогенетически обоснованными прогностическими биомаркерами в диагностике изменений врождённого и адаптивного иммунитета при сепсисе могут быть: TNF-α, IL-1β, IL-2, IFN-γ, IL-10, HLA-DR. C3, C4, C5, C1 ингибиторы комплемента, C3a, C5a, IgA, IgM и IgG, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD56^+$, $CD3^+CD19^+$. С целью выявления нарушений гемостаза перспективными биомаркерами могут являться: общее количество тромбоцитов, VWF, фактор VIII, протеин С, тромбомодулин, TFPI, tPA, PAI-1, TAFI.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование

Авторы заявляют о финансировании проведённого исследования из собственных средств.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8): 801-810. doi: 10.1001/jama.2016.0287

2. Руднов В.А., Бельский Д.В., Дехнич А.В., исследовательская группа РИОРИТа. Распространенность инфекций в отделениях реанимации России. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2011; 13(4): 294-303. [Rudnov VA, Belsky DV, Dekhnich AV, RIORITA Study Group. Infections in Russian ICUs: Results of the nationwide multicenter study. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2011; 13(4): 294-303. (In Russ.)]

3. Fleischmann-Struzek C, Mellhammar L, Rose N, Cassini A, Rudd KE, Schlattmann P, et al. Incidence and mortality of hospital- and ICU-treated sepsis: Results from an updated and expanded systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med*. 2020; 46(8): 1552-1562. doi: 10.1007/s00134-020-06151-x

4. Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and septic shock – Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making. *Med Clin North Am*. 2020; 104(4): 573-585. doi: 10.1016/j.mcna.2020.02.011

5. Blot S, Antonelli M, Arvaniti K, Blot K, Creagh-Brown B, de Lange D, et al. Epidemiology of intra-abdominal infection and sepsis in critically ill patients: "AbSeS", a multinational observational cohort study and ESICM Trials Group Project. *Intensive Care Med*. 2019; 45(12): 1703-1717. doi: 10.1007/s00134-019-05819-3

6. Diekema DJ, Hsueh PR, Mendes RE, Pfaller MA, Rolston KV, Sader HS, et al. The microbiology of bloodstream infection: 20-year trends from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63(7): e00355-19. doi: 10.1128/AAC.00355-19

7. Holmes CL, Anderson MT, Mobley HLT, Bachman MA. Pathogenesis of gram-negative bacteremia. *Clin Microbiol Rev*. 2021; 34(2): e00234-20. doi: 10.1128/CMR.00234-20

8. Ramachandran G. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis: A brief review. *Virulence*. 2014; 5(1): 213-218. doi: 10.4161/viru.27024

9. Dickson K, Lehmann C. Inflammatory response to different toxins in experimental sepsis models. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(18): 4341. doi: 10.3390/ijms20184341

10. Wiersinga WJ, van der Poll T. Immunopathophysiology of human sepsis. *EBioMedicine*. 2022; 86: 104363. doi: 10.1016/j.ebiom.2022.104363

11. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive Care Med*. 2021; 47(11): 1181-1247. doi: 10.1007/s00134-021-06506-y

12. Sivayoham N, Blake LA, Tharimoopantavida SE, Chughtai S, Hussain AN, Rhodes A. Treatment variables associated with outcome in emergency department patients with suspected sepsis. *Ann Intensive Care*. 2020; 10(1): 136. doi: 10.1186/s13613-020-00747-8

13. Bicking K, Esguerra VG, Peck-Palmer OM, Magari RT, Julian MW, Kleven JM, et al. Monocyte distribution width: A novel indicator of sepsis-2 and sepsis-3 in high-risk emergency department patients. *Crit Care Med*. 2019; 47(8): 1018-1025. doi: 10.1097/CCM.0000000000003799

14. Vincent JL, Jones G, David S, Olariu E, Cadwell KK. Frequency and mortality of septic shock in Europe and North America: A systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2019; 23(1): 196. doi: 10.1186/s13054-019-2478-6

15. Leligdowicz A, Matthay MA. Heterogeneity in sepsis: New biological evidence with clinical applications. *Crit Care*. 2019; 23(1): 80. doi: 10.1186/s13054-019-2372-2

16. Arora J, Mendelson AA, Fox-Robichaud A. Sepsis: Network pathophysiology and implications for early diagnosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2023; 324(5): R613-R624. doi: 10.1152/ajpregu.00003.2023

17. Kozlov AV, Grillari J. Pathogenesis of multiple organ failure: The impact of systemic damage to plasma membranes. *Front Med (Lausanne)*. 2022; 9: 806462. doi: 10.3389/fmed.2022.806462

18. Sygitowicz G, Sitkiewicz D. Molecular mechanisms of organ damage in sepsis: An overview. *Braz J Infect Dis*. 2020; 24(6): 552-560. doi: 10.1016/j.bjid.2020.09.004

19. Cinelli MA, Do HT, Miley GP, Silverman RB. Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition. *Med Res Rev*. 2020; 40(1): 158-189. doi: 10.1002/med.21599

20. Brands X, Haak BW, Klarenbeek AM, Otto NA, Faber DR, Lutter R, et al. Concurrent immune suppression and hyperinflammation in patients with community-acquired pneumonia. *Front Immunol*. 2020; 11: 796. doi: 10.3389/fimmu.2020.00796

21. Vachharajani V, McCall CE. Epigenetic and metabolic programming of innate immunity in sepsis. *Innate Immun*. 2019; 25(5): 267-279. doi: 10.1177/1753425919842320

22. Nedeva C. Inflammation and cell death of the innate and adaptive immune system during sepsis. *Biomolecules*. 2021; 11(7): 1011. doi: 10.3390/biom11071011

23. Mithal LB, Arshad M, Swigart LR, Khanolkar A, Ahmed A, Coates BM. Mechanisms and modulation of sepsis-induced immune dysfunction in children. *Pediatr Res*. 2022; 91(2): 447-453. doi: 10.1038/s41390-021-01879-8

24. Kumar V. Toll-like receptors in sepsis-associated cytokine storm and their endogenous negative regulators as future immunomodulatory targets. *Int Immunopharmacol*. 2020; 89(Pt B): 107087. doi: 10.1016/j.intimp.2020.107087

25. Zhang H, Wang Y, Qu M, Li W, Wu D, Cata JP, et al. Neutrophil, neutrophil extracellular traps and endothelial cell dysfunction in sepsis. *Clin Transl Med*. 2023; 13(1): e1170. doi: 10.1002/ctm2.1170

26. Joshi I, Carney WP, Rock EP. Utility of monocyte HLA-DR and rationale for therapeutic GM-CSF in sepsis immunoparalysis. *Front Immunol*. 2023; 14: 1130214. doi: 10.3389/fimmu.2023.1130214

27. Ma L, Li Q, Cai S, Peng H, Huyan T, Yang H. The role of NK cells in fighting the virus infection and sepsis. *Int J Med Sci*. 2021; 18(14): 3236-3248. doi: 10.7150/ijms.59898

28. Feng T, Liao X, Yang X, Yang C, Lin F, Guo Y, et al. A shift toward inhibitory receptors and impaired effector functions on NK cells contribute to immunosuppression during sepsis. *J Leukoc Biol*. 2020; 107(1): 57-67. doi: 10.1002/JLB.4A0818-313RR

29. Karasu E, Nilsson B, Köhl J, Lambris JD, Huber-Lang M. Targeting complement pathways in polytrauma- and sepsis-induced multiple-organ dysfunction. *Front Immunol*. 2019; 10: 543. doi: 10.3389/fimmu.2019.00543

30. Fattahi F, Zetoune FS, Ward PA. Complement as a major inducer of harmful events in infectious sepsis. *Shock*. 2020; 54(5): 595-605. doi: 10.1097/SHK.0000000000001531

31. Brady J, Horie S, Laffey JG. Role of the adaptive immune response in sepsis. *Intensive Care Med Exp*. 2020; 8(Suppl 1): 20. doi: 10.1186/s40635-020-00309-z

32. Martin MD, Badovinac VP, Griffith TS. CD4 T cell responses and the sepsis-induced immunoparalysis state. *Front Immunol*. 2020; 11: 1364. doi: 10.3389/fimmu.2020.01364

33. Dong X, Tu H, Qin S, Bai X, Yang F, Li Z. Insights into the roles of B cells in patients with sepsis. *J Immunol Res*. 2023; 2023: 7408967. doi: 10.1155/2023/7408967

34. Tang XD, Ji TT, Dong JR, Feng H, Chen FQ, Chen X, et al. Pathogenesis and treatment of cytokine storm induced by infectious diseases. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(23): 13009. doi: 10.3390/ijms222313009

35. Mazer M, Unsinger J, Drewry A, Walton A, Osborne D, Blood T, et al. IL-10 has differential effects on the innate and adaptive immune systems of septic patients. *J Immunol*. 2019; 203(8): 2088-2099. doi: 10.4049/jimmunol.1900637

36. Akkaya M, Kwak K, Pierce SK. B cell memory: Building two walls of protection against pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2020; 20(4): 229-238. doi: 10.1038/s41577-019-0244-2

37. Dong X, Wang C, Liu X, Gao W, Bai X, Li Z. Lessons learned comparing immune system alterations of bacterial sepsis and SARS-CoV-2 sepsis. *Front Immunol*. 2020; 11: 598404. doi: 10.3389/fimmu.2020.598404

38. Liu D, Huang SY, Sun JH, Zhang HC, Cai QL, Gao C, et al. Sepsis-induced immunosuppression: Mechanisms, diagnosis and current treatment options. *Mil Med Res*. 2022; 9(1): 56. doi: 10.1186/s40779-022-00422-y

39. Hohlstein P, Gussen H, Bartneck M, Warzecha KT, Roderburg C, Buendgens L, et al. Prognostic relevance of altered lymphocyte subpopulations in critical illness and sepsis. *J Clin Med*. 2019; 8(3): 353. doi: 10.3390/jcm8030353

40. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine storm. *N Engl J Med*. 2020; 383(23): 2255-2273. doi: 10.1056/NEJMra2026131

41. Потапнев М.П. Цитокиновый шторм: причины и последствия. *Иммунология.* 2021; 42(2): 175-188. [Potapnev MP. Cytokine storm: Causes and consequences. *Immunologiya.* 2021; 42(2): 175-188. (In Russ.)]. doi: 10.33029/0206-4952-2021-42-2-175-188

42. Caraballo C, Jaimes F. Organ dysfunction in sepsis: An ominous trajectory from infection to death. *Yale J Biol Med*. 2019; 92(4): 629-640.

43. Gavelli F, Castello LM, Avanzi GC. Management of sepsis and septic shock in the emergency department. *Intern Emerg Med*. 2021; 16(6): 1649-1661. doi: 10.1007/s11739-021-02735-7

44. Pan S, Lv Z, Wang R, Shu H, Yuan S, Yu Y, et al. Sepsis-induced brain dysfunction: Pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Oxid Med Cell Longev*. 2022; 2022: 1328729. doi: 10.1155/2022/1328729

45. Sun J, Zhang J, Wang X, Ji F, Ronco C, Tian J, et al. Gut-liver crosstalk in sepsis-induced liver injury. *Crit Care*. 2020; 24(1): 614. doi: 10.1186/s13054-020-03327-1

46. Ahmadian E, Hosseiniyan Khatibi SM, Razi Soofiyani S, Abediazar S, Shoja MM, Ardalan M, et al. Covid-19 and kidney injury: Pathophysiology and molecular mechanisms. *Rev Med Virol*. 2021; 31(3): e2176. doi: 10.1002/rmv.2176

47. Yin J, Chen Y, Huang JL, Yan L, Kuang ZS, Xue MM, et al. Prognosis-related classification and dynamic monitoring of immune status in patients with sepsis: A prospective observational study. *World J Emerg Med*. 2021; 12(3): 185-191. doi: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2021.03.004

48. Zanza C, Romenskaya T, Manetti AC, Franceschi F, La Russa R, Bertozzi G, et al. Cytokine storm in COVID-19: Immunopathogenesis and therapy. *Medicina (Kaunas)*. 2022; 58(2): 144. doi: 10.3390/medicina58020144

49. Jiménez-Aguilar R, Sánchez-Zauco N, Tiburcio-Felix R, López JZ, Solano-Gutiérrez A, Riera C, et al. Effects of cardiopulmonary bypass on the development of lymphopenia and sepsis after cardiac surgery in children with congenital cardiopathy. *Exp Ther Med*. 2020; 19(1): 435-442. doi: 10.3892/etm.2019.8241

50. Mollnes TE, Huber-Lang M. Complement in sepsis-when science meets clinics. *FEBS Lett*. 2020; 594(16): 2621-2632. doi: 10.1002/1873-3468.13881

51. Tsantes AG, Parastatidou S, Tsantes EA, Bonova E, Tsante KA, Mantzios PG, et al. Sepsis-induced coagulopathy: An update on pathophysiology, biomarkers, and current guidelines. *Life (Basel)*. 2023; 13(2): 350. doi: 10.3390/life13020350

52. Giustozzi M, Ehrlinder H, Bongiovanni D, Borovac JA, Guerreiro RA, Gąsecka A, et al. Coagulopathy and sepsis: Pathophysiology, clinical manifestations and treatment. *Blood Rev*. 2021; 50: 100864. doi: 10.1016/j.blre.2021.100864

53. Neubauer K, Zieger B. Endothelial cells and coagulation. *Cell Tissue Res*. 2022; 387(3): 391-398. doi: 10.1007/s00441-021-03471-2

54. Chang JC. Sepsis and septic shock: Endothelial molecular pathogenesis associated with vascular microthrombotic disease. *Thromb J*. 2019; 17: 10. doi: 10.1186/s12959-019-0198-4

55. Cox D. Sepsis – it is all about the platelets. *Front Immunol*. 2023; 14: 1210219. doi: 10.3389/fimmu.2023.1210219

56. Vardon-Bounes F, Ruiz S, Gratacap MP, Garcia C, Payrastre B, Minville V. Platelets are critical key players in sepsis. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(14): 3494. doi: 10.3390/ijms20143494

57. Patel P, Michael JV, Naik UP, McKenzie SE. Platelet FcγRIIA in immunity and thrombosis: Adaptive immunothrombosis. *J Thromb Haemost*. 2021; 19(5): 1149-1160. doi: 10.1111/jth.15265

58. Su M, Chen C, Li S, Li M, Zeng Z, Zhang Y, et al. Gasdermin d-dependent platelet pyroptosis exacerbates NET formation and inflammation in severe sepsis. *Nat Cardiovasc Res*. 2022; 1: 732-747. doi: 10.1038/s44161-022-00108-7

59. Su Y, Zhang T, Qiao R. Pyroptosis in platelets: Thrombocytopenia and inflammation. *J Clin Lab Anal*. 2023; 37: e24852. doi: 10.1002/jcla.24852

60. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 2. Тромбоциты как участники иммунных реакций. *Медицинская иммунология*. 2019; 22(1): 9-20. [Serebryanaya NB, Shanin SN, Fomicheva EE, Yakutseni PP. Blood platelets as activators and regulators of inflammatory and immune reactions. Part 2. Thrombocytes as participants of immune reactions. *Medical Immunology (Russia)*. 2019; 21(1): 9-20. (In Russ.)]. doi: 10.15789/1563-0625-2019-1-9-20

61. Marín Oyarzún CP, Glembotsky AC, Goette NP, Lev PR, De Luca G, Baroni Pietto MC, et al. Platelet toll-like receptors mediate thromboinflammatory responses in patients with essential thrombocythemia. *Front Immunol*. 2020; 11: 705. doi: 10.3389/fimmu.2020.00705

62. Sungurlu S, Kuppy J, Balk RA. Role of antithrombin III and tissue factor pathway in the pathogenesis of sepsis. *Crit Care Clin*. 2020; 36(2): 255-265. doi: 10.1016/j.ccc.2019.12.002

Сведения об авторах

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

Телешева Лариса Фёдоровна – доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: teleshevalarisa@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7884-9675

Конашов Алексей Геннадьевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; заместитель главного врача по лечебной части, ГАУЗ Ордена Знак Почёта «Городская клиническая больница № 8 г. Челябинск», e-mail: vladkag5@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3275-6721

Гусев Андрей Владимирович – старший лаборант кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач анестезиолог-реаниматолог, ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница», e-mail: andrejgusev1509@gmail.ru, https://orcid.org/0009-0005-1441-7311

Конашов Владислав Алексеевич – лаборант кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач приёмного отделения, ГАУЗ Ордена Знак Почёта «Городская клиническая больница № 8 г. Челябинск», e-mail: konashov74@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-1905-9155

Information about the authors

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

Larisa F. Telesheva – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, South Ural State Medical University, e-mail: teleshevalarisa@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7884-9675

Aleksey G. Konashov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University; Deputy Chief Physician for Medicine, Chelyabinsk City Clinical Hospital No. 8, e-mail: vladkag5@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3275-6721

Andrei V. Gusev – Senior Laboratory Assistant at the Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University; Anesthesiologist and Intensive Care Specialist, Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, e-mail: andrejgusev1509@gmail.ru, https://orcid.org/0009-0005-1441-7311

Vladislav A. Konashov – Laboratory Assistant at the Department of Pathophysiology, South Ural State Medical University; Physician at the Emergency Department, Chelyabinsk City Clinical Hospital No. 8, e-mail: konashov74@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-1905-9155

Вклад авторов

Осиков М.В. – концепция и дизайн исследования.

Телешева Л.Ф. – концепция и дизайн исследования.

Конашов А.Г. – концепция и дизайн исследования; сбор и обработка материала; написание текста статьи.

Гусев А.В. – сбор и обработка материала; редактирование текста статьи.

Конашов В.А. – сбор и обработка материала; написание текста статьи.

СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В КРОВИ У ЖЕНЩИН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ФОСФАТИДИЛЭТАНОЛА В ПЕРВОМ ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Новикова Е.А.,
Семёнова Н.В.,
Карачева А.Н.,
Никитина О.А.,
Марянян А.Ю.,
Баирова Т.А.,
Бельских А.В.,
Беляева Е.В.,
Самбялова А.Ю.,
Ершова О.А.,
Колесникова Л.И.

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

Автор, ответственный за переписку:
Новикова Елизавета Анатольевна,
e-mail: yelizaveta_novikova_2001@bk.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Алкоголь даже в незначительной дозе крайне негативно влияет на плод, особенно в первом триместре беременности. Известно, что этанол способствует образованию свободных радикалов, однако данные о состоянии процессов липопероксидации у беременных в зависимости от его уровня в крови отсутствуют.*

Цель работы. *Оценка уровня продуктов липопероксидации и активности супероксиддисмутазы в первом триместре беременности у женщин, употреблявших спиртные напитки, в зависимости от уровня фосфатидилэтанола (PEth, phosphatidylethanol) в крови.*

Материалы и методы. *В исследование были включены 165 женщин в первом триместре беременности в возрасте от 18 до 40 лет. Для выявления факта и количества употребления алкоголя проводили количественное определение прямого биомаркера алкоголя PEth 16:0/18:1 в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией. В зависимости от концентрации PEth были выделены группы женщин, употребляющих разные дозы алкоголя: 1-я группа – концентрация PEth ≤ 8 нг/мл (непьющие; n = 63); 2-я группа – концентрация PEth от 8 до 45 нг/мл (пьющие менее 1 дозы; n = 66); 3-я группа – концентрация PEth ≥ 45 нг/мл (пьющие более 1 дозы; n = 36). Содержание продуктов липопероксидации и активности супероксиддисмутазы определяли спектрофотометрическими методами.*

Результаты. *Установлено, что уровень промежуточных продуктов липопероксидации в группах женщин, употребляющих алкоголь, независимо от уровня PEth 16:0/18:1 в плазме крови статистически значимо выше по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Активность супероксиддисмутазы выше в группе беременных, употребляющих менее 1 дозы алкоголя, по сравнению с контролем ($p < 0,05$) и группой беременных, употребляющих 1 или более дозы алкоголя ($p < 0,05$).*

Заключение. *Полученные результаты свидетельствуют об активации процессов липопероксидации в первом триместре беременности независимо от дозы употребления спиртосодержащих продуктов.*

Ключевые слова: *беременность, фосфатидилэтанол, супероксиддисмутаза, перекисное окисление липидов*

Для цитирования: Новикова Е.А., Семёнова Н.В., Карачева А.Н., Никитина О.А., Марянян А.Ю., Баирова Т.А., Бельских А.В., Беляева Е.В., Самбялова А.Ю., Ершова О.А., Колесникова Л.И. Содержание продуктов липопероксидации и активность супероксиддисмутазы в крови у женщин в зависимости от уровня фосфатидилэтанола в первом триместре беременности. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 130-137. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.13

Статья поступила: 22.11.2024
Статья принята: 09.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

LIPID PEROXIDATION PRODUCTS AND SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IN WOMEN DEPENDING ON THE PHOSPHATIDYLETHANOL LEVEL IN THE FIRST TRIMESTER OF PREGNANCY

Novikova E.A.,
Semenova N.V.,
Karacheva A.N.,
Nikitina O.A.,
Marianian A.Yu.,
Bairova T.A.,
Belskikh A.V.,
Belyaeva E.V.,
Sambyalova A.Yu.,
Ershova O.A.,
Kolesnikova L.I.

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

Corresponding author:
Elizaveta A. Novikova,
e-mail: yelizaveta_novikova_2001@bk.ru

ABSTRACT

Background. *Even small amounts of alcohol have an extremely negative effect on the fetus, especially in the early stages of gestation. It is known that ethanol promotes the formation of free radicals, but there is no data on the nature of the oxidative stress development in pregnant women depending on its blood level.*

The aim. *To assess the level lipid peroxidation products and superoxide dismutase activity in the first trimester of pregnancy for women, who consumed alcoholic beverages, depending on the phosphatidylethanol (PEth) level in the blood.*

Materials and methods. *The study included 165 women in the first trimester of pregnancy aged 18 to 40 years. To identify the fact and amount of alcohol consumption, the direct biomarker of alcohol 16:0/18:1PEth in blood plasma was performed using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Depending on the concentration of PEth, groups of women consuming different doses of alcohol were identified: group 1 – PEth concentration < 8 ng/ml (non-drinkers; n = 63); group 2 – PEth concentration from 8 to 45 ng/ml (drinkers of less than 1 dose; n = 66); group 3 – PEth concentration ≥ 45 ng/ml (drinkers of more than 1 dose; n = 36). The content of lipid peroxidation products and superoxide dismutase activity was determined by spectrophotometric methods.*

Results. *It was found that lipid peroxidation intermediates level in the groups of women who consume alcohol, regardless of PEth 16:0/18:1 level in blood plasma, was significantly higher compared with the control ($p < 0.05$). The superoxide dismutase activity was higher in the group of pregnant women who consumed less than 1 dose of alcohol compared with the control ($p < 0.05$) and the group who consumed one or more doses of alcohol ($p < 0.05$).*

Conclusion. *The obtained results indicate the activation of lipid peroxidation processes in the first trimester of pregnancy regardless of the dose of alcohol-containing products consumed.*

Key words: *pregnancy, phosphatidylethanol, superoxide dismutase, lipid peroxidation*

For citation: Novikova E.A., Semenova *N.V.,* Karacheva A.N., Nikitina O.A., Marianian A.Yu., Bairova T.A., Belskikh A.V., Belyaeva E.V., Sambyalova A.Yu., Ershova O.A., Kolesnikova L.I. Lipid peroxidation products and superoxide dismutase activity in women depending on the phosphatidylethanol level in the first trimester of pregnancy. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 130-137. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.13

Received: 22.11.2024
Accepted: 09.12.2024
Published: 28.12.2024

ВВЕДЕНИЕ

Окислительно-восстановительный баланс в организме необходим для поддержания оптимального функционирования клеток, тканей и органов. Большое количество свободных радикалов образуется, когда равновесие между прооксидантами и антиоксидантами сдвигается в сторону первых. Кратковременное увеличение свободных радикалов сопровождает процессы адаптации, а их многократная гиперпродукция приводит к развитию окислительного стресса. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) является одним из самых изученных видов свободнорадикального окисления. Исследования данного процесса проводятся не только при патологиях [1], но и при физиологических состояниях, в частности при беременности [2–5]. Повышение уровня активных форм кислорода разрушает не только белки, липиды и нуклеиновые кислоты, но и гетерополисахарид – гиалуроновую кислоту, входящую в состав соединительной ткани и являющуюся частью структур стромы матки и плаценты [6]. Повреждаются эритроциты, гепатоциты, кардиомиоциты и ряд важнейших систем организма, которые наиболее существенны для беременной женщины. Для инактивации свободных радикалов в организме существует антиоксидантная система, одним из основных компонентов которой на первой линии защиты является фермент супероксиддисмутаза (СОД), катализирующий дисмутацию супероксидного радикала в пероксид водорода и кислород [7].

Известно, что этанол даже в незначительной дозе оказывает губительное действие на эмбрион. Ряд нейрофизиологических патологий плода от этанола сегодня обозначается фетальным алкогольным синдромом, который отмечается у ½ детей, рождённых от женщин с алкозависимостью. При беременности этанол приводит к маловодию, старению плаценты, выраженному токсикозу, а также к накоплению токсических метаболитов в амниотической жидкости. Крайне негативно алкоголь влияет на плод на начальном сроке гестации: именно в это время интенсивно формируются многие внутренние органы, закладывается нервная трубка. Так как выделительная и ферментативная системы на начальном сроке беременности работают несовершенно, то вследствие сильной интоксикации возможна внутриутробная гибель плода [8–10].

Сегодня для оценки влияния спиртосодержащих продуктов используются разные биомаркеры, такие как гамма-глутамилтрансфераза, аспартатаминотрансфераза, карбогидратдефицитный трансферин. Одним из прямых биомаркеров этанола является фосфатидилэтанол (PEth, phosphatidylethanol). Это глицерофосфолипид, который образуется в тканях из фосфолипида клеточных мембран при условии наличия этанола. Для исследовательских целей отмечают наличие PEth в эритроцитах (до 28 дней после приёма алкоголя), мембраны которых лишены системы деградации данного вещества [11]. Существуют различные варианты данного биомаркера, но на сегодняшний день установлено, что PEth 16:0/18:1 является более информативным маркером в сравнении с PEth 16:0/16:0 и PEth 18:1/18:1 [12]. Принимая во внимание, что алкоголь разлагается в организме на ацетальдегид, который в свою очередь способствует образованию свободных радикалов, представляет интерес исследование процессов липопероксидации и активности СОД в первом триместре беременности у женщин, употреблявших спиртные напитки, в зависимости от уровня фосфатидилэтанола в крови, что и стало **целью настоящего исследования**.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены 165 женщин в первом триместре беременности в возрасте от 18 до 40 лет, наблюдавшиеся в ОГАУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 8» (г. Иркутск). Критериями исключения женщин из исследования были: наличие ВИЧ, гепатита, сахарного диабета; обострение хронических заболеваний; острая респираторная вирусная инфекция; COVID-19; программа экстракорпорального оплодотворения; наличие инфекций, передаваемых половым путём; наличие артериальной гипертензии. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964 г., ред. 2013 г.) и одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (выписка из заседания № 2 от 04.03.2021). Письменное информированное согласие было получено от всех участников.

Забор крови у беременных был произведён натощак из локтевой вены на сроке 6–12 недель беременности. Взятие биоматериала проводилось в вакуэты с ЭДТА (K_3EDTA). До транспортировки в лабораторию биоматериал хранился при температуре 4–8 °C. Доставка в лабораторию осуществлялась с соблюдением температурного режима. В лаборатории из образцов крови путём центрифугирования получали плазму, которую переносили в промаркированные криопробирки; до проведения исследования их хранили в медицинском холодильнике при –80 °C. Для выявления факта и количества употребления алкоголя проводили количественное определение прямого биомаркера алкоголя PEth 16:0/18:1 в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией на приборе LCMS-8060 (Shimadzu, Япония). Валидированный нижний предел количественного определения для PEth 16:0/18:1 составил 1 нг/мл. В зависимости от концентрации PEth были выделены группы женщин, употребляющих разные дозы алкоголя: 1-я группа – концентрация PEth ≤ 8 нг/мл (непьющие; $n = 63$); 2-я группа – концентрация PEth от 8 до 45 нг/мл (пьющие менее 1 дозы; $n = 66$); 3-я группа – концентрация PEth ≥ 45 нг/мл (пьющие более 1 дозы; $n = 36$) [13, 14]. Статистически значимых межгрупповых различий по возрасту и индексу массы тела выявлено не было.

Содержание изолированных двойных связей (Дв. св.), продуктов ПОЛ (диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены и сопряжённые триены (КД и СТ)) определя-

ли по методу И.А. Волчегорского и соавт., основанному на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в области 220 нм (Дв. св.), 232 нм (ДК) и 278 нм (КД и СТ) на спектрофотометре СФ-2000 (Новосибирск, Россия). Для расчёта ДК использовался молярный коэффициент экстинкции: $K = 2{,}2 \times 10^5$ моль$^{-1}$ см$^{-1}$. Содержание Дв. св. и КД и СТ выражали в усл. ед., содержание ДК – в мкмоль/л [15].

Для определения уровня активных продуктой тиобарбитуровой кислоты (ТБК-АП) использовали коммерческие наборы «Агат» (Россия). Измерения проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Новосибирск, Россия) и выражали в мкмоль/л.

Определение активности СОД проводили по методике H.P. Misra (1972) при λ = 320 нм. Метод основан на способности СОД тормозить реакцию аутоокисления адреналина при pH = 10,2. Реакцию в пробах, содержащих гемолизат эритроцитов, начинали добавлением адреналина. За условную единицу активности фермента принимали такое количество СОД, которое требовалось для ингибирования скорости аутоокисления адреналина на 50 %. Активность СОД выражали в усл. ед. [16].

Полученные данные обрабатывали в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Близость к нормальному закону распределения количественных признаков оценивалась визуально-графическим методом, а также с использованием критериев согласия Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Данные лабораторных показателей представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q3). Анализ межгрупповых различий для независимых выборок проводили с использованием критерия Краскела – Уоллиса (ANOVA) и медианного теста с последующими апостериорными сравнениями с использованием U-критерия Манна – Уитни. Критический уровень статистической значимости принимался за 5 % ($p = 0{,}05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования содержания продуктов ПОЛ в исследуемых группах женщин отражены в таблице 1.

Согласно полученным данным, уровень КД и СТ во 2-й и 3-й группах женщин статистически значимо выше, чем в контроле ($p = 0{,}001$ и $p = 0{,}003$ соответственно). Увеличение содержания промежуточных продуктов липопероксидации указывает на интенсификацию распада ненасыщенных (ННЖК) и полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). ННЖК необходимы для деления и роста клеток, ПНЖК принимают участие в образовании структурных липидов, а их преобразование приводит к изменению жирно-кислотного состава клеточных мембран [17, 18]. Кроме того, соединения способствуют усвоению витаминов A, D, E. ПНЖК нужны для синтеза эйкозаноидов, простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов, которые особенно важны для иммунологической защиты, в частности при беременности. Особенно сказывается на организме будущей матери дефицит омега-3 ПНЖК, т. к. он способен изменять плацентарный ангиогенез и васкулогенез, влияя на развитие плода [19].

Многие авторы подробно исследовали содержание и состав жирных кислот, структурно входящих в фосфолипиды печени, при беременности. Установлено значительное снижение в микросомах содержания ненасыщенных и увеличение насыщенных жирных кислот. Данный процесс расценивается как компенсаторный механизм. Жирные кислоты микросомных мембран возвращаются к прежнему уровню только спустя 2–3 недели после родов. Жирные кислоты выполняют значительный вклад в конформационное состояние мембран, а все изменения мембранной структуры могут быть связаны с модификацией ферментативной функции. Действие беременности предполагает такое изменение структуры и содержания ненасыщенных жирных кислот, которое ведёт к снижению жидкостности мембран и может быть непосредственным механизмом подавления ферментативной активности эндоплазматического ретикулума печени [9].

Окислительный стресс в первом триместре беременности способствует высвобождению провоспалительных цитокинов, которые вместе с продуктами ПОЛ приводят к развитию осложнений беременности, токсически влияют на плод, вызывая полиорганные нарушения всевозможного характера [20–22]. Противовоспалительный потенциал ПНЖК играет важную роль в профилактике преэклампсии. Препараты, которые содержат ω-3 ПНЖК, эйкозапентановую и докозагексановую кислоты, влияют на метаболизм арахидоновой кислоты. Их многостороннее положительное воздействие сказывается

ТАБЛИЦА 1

УРОВЕНЬ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ ЖЕНЩИН

TABLE 1

LEVELS OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS IN WOMEN OF THE STUDIED GROUPS

Показатели	1-я группа	2-я группа	3-я группа	p_{ANOVA}
Субстраты с Дв. св., усл. ед.	1,52 (1,14; 2,07)	1,52 (0,90; 2,32)	1,66 (1; 2,2)	0,931
ДК, мкмоль/л	0,93 (0,60; 1,20)	0,98 (0,64; 1,49)	0,85 (0,64; 1,28)	0,679
КД и СТ, усл. ед.	0,26 (0,14; 0,46)	0,50 (0,24; 1,04)*	0,47 (0,22; 1,49)*	0,001
ТБК-АП, мкмоль/л	1,13 (0,92; 1,64)	1,18 (0,61; 1,64)	1,02 (0,82; 1,54)	0,744

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p_U < 0{,}05$.

на гомеостазе сердечно-сосудистой системы, а также на липидном обмене и свободнорадикальном окислении [23]. Противовоспалительное, антиоксидантное, антиапоптическое и антитромбозное действие ω-3 ПНЖК осуществляется только при условии её необходимой концентрации в организме [24], поэтому уровень КД и СТ в этом случае может являться одним из значимых показателей риска развития осложнений беременности.

При оценке активности СОД выявлено её повышение в группе беременных, употребляющих менее 1 дозы алкоголя (1,66 (1,60; 1,74) Ед/л), по сравнению с контролем (1,60 (1,51; 1,70) Ед/л) и группой беременных, употребляющих 1 или более дозы алкоголя (1,59 (1,47; 1,68) Ед/л) (рис. 1).

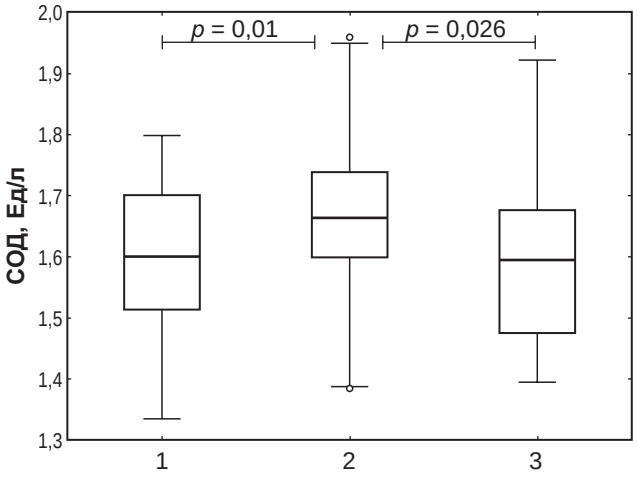


РИС. 1.

Активность супероксиддисмутазы в исследуемых группах женщин: 1 *– контроль (PEth ≤ 8 нг/мл);* 2 *– 8 нг/мл < PEth < 45 нг/мл;* 3 *– PEth ≥ 45 нг/мл*

FIG. 1.

Superoxide dismutase activity in the studied groups of women: 1 *– control (PEth ≤ 8 ng/ml);* 2 *– 8 ng/ml < PEth < 45 ng/ml;* 3 *– PEth ≥ 45 ng/ml*

Чаще всего повышение активности СОД отмечается на начальном этапе патологических процессов, далее появляется тенденция к снижению содержания фермента [7]. Увеличение активности СОД отражает компенсаторную защитную реакцию на повышение нарушений окислительно-восстановительного статуса клеток, однако ферментативная активность недостаточно компенсирует повышенное образование продуктов липопероксидации [25]. Это может способствовать изменению структурно-функциональных свойств клеточных мембран, в том числе и в плаценте, со снижением в ней синтеза плацентарных гормонов, что может явиться одним из факторов угрозы прерывания беременности [26].

Кроме того, потребление алкоголя рассматривается как стрессовое воздействие на организм, приводящее к каскаду реакций в стресс-реализующих системах [27–29]. Показано, что губительное воздействие этанола отражается на стимуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы с вероятностью перенапряжения и срыва компенсаторных механизмов. Повышенная концентрация кортизола сохраняется в сыворотке крови пациентов даже после прекращения употребления спиртосодержащих продуктов, что говорит о неустойчивости нейрофизиологических механизмов. Секреция гормонов гипофизарно-тиреоидной оси эндокринной регуляции также имеет тенденцию к снижению у пьющих людей. Гипоталамо-гипофизарно-гонадная система тесно взаимосвязана с гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, их совместное функционирование способствует адекватному ответу организма на стрессовые действия. Кроме того, установлено, что половые гормоны могут вызывать нейроадаптивные изменения, которые способны увеличивать чувствительность системы вознаграждения мозга к стимулирующему воздействию спиртосодержащих продуктов [27–29]. Активация стресс-реализующей системы организма, повышение уровня кортизола и снижение уровня гормонов щитовидной железы в свою очередь способствуют изменениям окислительно-восстановительного гомеостаза в сторону развития окислительного стресса. Показано, что под влиянием кортизола, инсулина и соматотропного гормона происходит усиление аденозинтрифосфат-опосредованной индукции «дыхательного взрыва», что стимулирует активную генерацию свободных радикалов [30, 31].

Ранее было показано, что у женщин с лабораторно подтверждённым фактом употребления алкоголя в первом триместре беременности статистически значимо чаще встречаются задержки внутриутробного развития плода, анемия и преждевременные роды, что может быть связано с вовлечением в данные процессы дисбаланса системы «прооксиданты – антиоксиданты» [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют об активации процессов ПОЛ у беременных женщин в первом триместре беременности при употреблении спиртосодержащих продуктов. Употребление даже небольшого количества алкоголя отражается на процессах липопероксидации, что следует принимать во внимание, учитывая недостаточную активизацию одного из ключевых ферментов антиоксидантной системы (СОД), поскольку повышение в крови уровня промежуточных продуктов ПОЛ может оказывать негативный эффект на течение беременности процесса и развитие различных осложнений как у беременной женщины, так и у плода.

Финансирование

Работа выполнена в рамках НИР ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» 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 заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога. *Бюллетень сибирской медицины.* 2017; 16(4): 16-29. [Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: A pathophysiologist's view. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16(4): 16-29. (In Russ.)]. doi: 10.20538/1682-0363- 2017-4-16-29

2. Семёнова Н.В., Никитина О.А., Новикова Е.А., Карачева А.Н., Марянян А.Ю., Колесников С.И., и др. Показатели эндогенной интоксикации в динамике неосложненной беременности. Молекулы средней массы и продукты липопероксидации. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2024; 178(11): 605-609. [Semenova NV, Nikitina OA, Novikova EA, Karacheva AN, Maryanyan AYu, Kolesnikov SI, et al. Endogenous intoxication indicators in uncomplicated pregnancy. Medium-weight molecules and lipid peroxidation products. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2024; 178(11): 605-609. (In Russ.)].

3. Lu Y, Shao Y, Cui W, Jia Z, Zhang Q, Zhao Q, et al. Excessive lipid peroxidation in uterine epithelium causes implantation failure and pregnancy loss. *Adv Sci (Weinh).* 2024; 11(4): e2302887. doi: 10.1002/advs.202302887

4. Jakovljevic B, Novakov-Mikic A, Brkic S, Bogavac M, Tomic S, Miller V. Lipid peroxidation in the first trimester of pregnancy. *Matern Fetal Neonatal Med.* 2012; 25(8): 1316-1318. doi: 10.3109/14767058.2011.632038

5. Скрипниченко Ю.П., Пятаева С.В., Володина М.А., Цвиркун Д.В., Баранов И.И., Высоких М.Ю., и др. Особенности течения окислительно-восстановительных реакций в крови у женщин с физиологически протекающей и осложненной беременностью. *Акушерство и гинекология.* 2017; 8: 60-66. [Skripnichenko YuP, Pyataeva SV, Volodina MA, Tsvirkun DV, Baranov II, Vysokikh MYu, et al. Specific features of redox reactions in the blood of women with physiological or complicated pregnancy. *Obstetrics and Gynecology.* 2017; 8: 60-66. (In Russ.)]. doi: 10.18565/aig.2017.8.60-6

6. Зиганшина М.М., Павлович С.В., Бовин Н.В., Сухих Г.Т. Гиалуроновая кислота в сосудистом и иммунном гомеостазе при физиологической беременности и преэклампсии. *Acta Naturae.* 2016; 8(3): 66-79. [Ziganshina MM, Pavlovich SV, Bovin NV, Sukhikh GT. Hyaluronic acid in vascular and immune homeostasis during normal pregnancy and preeclampsia. *Acta Naturae.* 2016; 8(3): 66-79. (In Russ.)]. doi: 10.32607/20758251-2016-8-3-59-71

7. Wdowiak A, Brzozowski I, Bojar I. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in pregnancy complicated by diabetes. *Ann Agric Environ Med.* 2015; 22(2): 297-300.

8. Марянян А.Ю., Анисимова А.О., Калькова А.Н., Рашидова М.А., Рычкова Л.В., Мурадян А.Э. Отдаленные последствия влияния на плод. *Акушерство и гинекология.* 2023; 6: 16-22. [Marianian AYu, Anisimova AO, Kalkova AN, Rashidova MA, Rychkova LV, Muradyan AE. Long-term consequences of the effect of alcohol on the fetus. *Obstetrics and Gynecology.* 2023; 6: 16-22. (In Russ.)].

9. Колесников С.И., Иванов В.В., Семенюк А.В., Колесникова Л.И., Файбушева А.А, Беляев Л.Л. *Беременность и токсиканты.* Новосибирск: Наука; 1986. [Kolesnikov SI, Ivanov VV, Semenyuk AV, Kolesnikova LI, Faibusheva AA, Belyaev LL. *Pregnancy and toxicants.* Novosibirsk: Nauka; 1986. (In Russ.)].

10. Зобин Ю.В., Церковникова Г.Ю., Макаренко Т.Н., Третьяков А.Б. Внутриутробное отравление алкоголем у новорожденных. *Сибирский медицинский журнал.* 2018; 152(1): 47-50. [Zobin YuV, Tserkovnikova GYu, Makarenko TN, Tretyakov AB. The prenatal poisoning with alcohol in newborns. *Siberian Medical Journal.* 2018; 152(1): 47-50. (In Russ.)].

11. Петухов А.Е., Надеждина А.В., Богстранд С.Т., Брюн Е.А., Раменская Г.В., Кошкина Е.А., и др. Фосфатидилэтанол как биомаркер злоупотребления алкоголем. *Наркология.* 2017; 2: 42-47. [Petukhov AE, Nadezhdina AV, Bogstrand ST, Bryun EA, Ramenskaia GV, Koshkina EA, et al. Phosphatidylethanol as the new alcohol abuse biomarker. *Narcology.* 2017; 2: 42-47. (In Russ.)].

12. Hahn J, Murnane P, Vittinghoff E, Muyindike W, Emenyonu N, Fatch R, et al. Factors associated with phosphatidylethanol (PEth) sensitivity for detecting unhealthy alcohol use: An individual patient data meta-analysis. *Alcohol Clin Exp Res.* 2021; 45(6): 1166-1187. doi: 10.1111/acer.14611

13. Bakhireva L, Leeman L, Savich R, Cano S, Gutierrez H, Savage D, et al. The validity of phosphatidylethanol in dried blood spots of newborns for the identification of prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res.* 2014; 38(4): 1078-1085. doi: 10.1111/acer.1234

14. Марянян А.Ю., Калькова А.Н., Рашидова М.А., Семёнова Н.В., Бельских А.В., Беляева Е.В., и др. Оценка течения гестационного процесса у женщин методом опроса и в зависимости от лабораторно подтверждённого факта употребления алкоголя в пренатальном периоде (кросс-секционное исследование). *Acta biomedica scientifica.* 2023; 8(4): 49-58. [Marianian AYu, Kalkova AN, Rashidova MA, Semenova NV, Belskikh AV, Belyaeva EV, et al. Assessment of the course of the gestational process using survey method and depending on the laboratory confirmed prenatal alcohol use (cross-section study). *Acta biomedica scientifica.* 2023; 8(4): 49-58. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2023-8.4.6

15. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопросы медицинской химии.* 1989; 35(1): 127-131. [Volchegorsky IA, Nalimov AG, Yarovinsky BG, Lifshits RI. Comparison of different approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol blood extracts. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 1989; 35(1): 127-131. (In Russ.)].

16. Misra HP. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972; 247: 3170-3175.

17. Орлова С.В., Никитина Е.А., Прокопенко Е.В., Балашова Н.В., Водолазкая А.Н., Пронина А.Е. Страсти по омеге: роль омега-3 ПНЖК во время беременности для здоровья потомства. *Медицинский алфавит.* 2022; (4): 8-12. [Orlova SV, Nikitina EA, Prokopenko EV, Balashova NV, Vodolazkaya AN, Pronina OE. Passion for omega: Role of omega-3 PUFAs during pregnancy for health of offspring. *Medical Alphabet.* 2022; (4): 8-12. (In Russ.)]. doi: 10.33667/2078-5631-2022-4-8-12

18. Зайцева Л.В. Роль различных жирных кислот в питании человека при производстве пищевых продуктов. *Пищевая промышленность.* 2010; 10: 60-63. [Zaitseva LV. The role of various

fatty acids in human nutrition in food production. *Food Processing Industry.* 2010; 10: 60-63. (In Russ.)].

19. Боровик Т.Э., Грибакин С.Г., Звонкова Н.Г. Питание и развитие мозга: роль длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* 2012; 91(2): 67-73. [Borovik TE, Gribakin SG, Zvonkova NG. Nutrition and brain development: Role of long chain polyunsaturated fatty acids. *Pediatria named after G.N. Speransky.* 2012; 91(2): 67-73. (In Russ.)].

20. Шестопалов А.В., Арутюнян А.В., Акуева М.М., Шестопалова М.А., Буштырева И.О. Окислительный стресс в патологии плацентации. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2009; 58(1): 93-100. [Shestopalov AV, Arutjunyan AV, Akuyeva MM, Shestopalova MA. Oxidative stress in pathogenesis of placentation. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases.* 2009; 58(1): 93-100. (In Russ.)].

21. Ишутина Н.А., Андриевская И.А. Изменение показателей свободно-радикального статуса, антиоксидантной защиты и морфологические изменения эритроцитов периферической крови беременных первого триместра с цитомегаловирусной инфекцией. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2018; 68: 57-62. [Ishutina NA, Andrievskaya IA. Changes of parametres of free-radical status, of antioxidant protection and morphologic changes of erythrocytes of peripheral blood of pregnant women of the first trimester with cytomegalovirus infection. *Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*. 2018; 68: 57-62. (In Russ.)]. doi: 10.12737/article_5b18ba014d2d06.81485843

22. Андриевская И.А., Ишутина Н.А., Довжикова И.В., Лязгиян К.С., Жуковец И.В., Кривощекова Н.А. Гипоксия и окислительный стресс при COVID-19 как факторы, влияющие на течение заболевания и развитие осложнений беременности. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2023; 90: 74-82. [Andrievskaya IA, Ishutina NA, Dovzhikova IV, Lyazgiyan KS, Zhukovets IV, Krivoshchekova NA. Hypoxia and oxidative stress in COVID-19 as factors influencing the course of the disease and the development of pregnancy complications. *Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration.* 2023; 90: 74-82. (In Russ.)].

23. Мозговая Е.В., Рзаева Р.Н. Опыт применения омега-3 полиненасыщенных жирных кислот в комплексной профилактике преэклампсии (гестоза) у беременных. *Фарматека.* 2016; 6(319): 51-56. [Mozgovaya EV, Rzaeva RN. Experience of use of omega-3 polyunsaturated fatty acids in the integrated prevention of preeclampsia (gestosis) in pregnant women. *Farmateka.* 2016; 6(319): 51-56. (In Russ.)].

24. Громова О.А., Торшин И.Ю., Тетруашвили Н.К., Гришина Т.Р., Гоголева И.В., Серов В.Н. Об использовании многокомпонентных витаминно-минеральных комплексов для профилактики железодефицитной анемии у беременных. *Медицинский алфавит*. 2018; 2(13): 6-19. [Gromova OA, Torshin IYu, Tetruashvili NK, Grishina TR, Gogoleva IV, Serov VN. On use of multicomponent vitamin-mineral complexes for prevention of iron deficiency anemia in pregnant women. *Medical Alphabet.* 2018; 2(13): 6-19. (In Russ.)].

25. Coughlana M, Vervaartb P, Permezela M, Georgioua H, Ricea G. Altered placental oxidative stress status in gestational diabetes mellitus. *Placenta.* 2004; 25: 78-84. doi: 10.1016/S0143-4004(03)00183-8

26. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Осипова Е.В., Долгих М.И., Болотова Ц.Ц. Изучение состояния процесса липопероксидации у женщин различных этнических групп с угрозой прерывания беременности. *Acta biomedica scientifica.* 2010; 6-2(76): 31-33. [Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Osipova EV, Dolgikh MI, Bolotova TsTs. Study of the state of the lipid peroxidation process in women of different ethnic groups with the threat of termination of pregnancy. *Acta biomedica scientifica*. 2010; 6-2(76): 31-33. (In Russ.)].

27. Ветлугина Т.П., Лобачева О.А., Никитина В.Б., Прокопьева В.Д., Мандель А.И., Бохан Н.А. Гормоны стресс-реализующей системы при алкогольной зависимости: возможность прогнозирования длительности ремиссии. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020; 120(5): 73-78. [Vetlugina TP, Lobacheva OA, Nikitina VB, Prokopieva VD, Mandel AI, Bokhan NA. Hormones of stress-response system in alcohol dependence: The ability to predict duration of remission. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2020; 120(5): 73-78. (In Russ.)].

28. Lu YL, Richardson HN. Alcohol, stress hormones, and the prefrontal cortex: A proposed pathway to the dark side of addiction. *Neuroscience*. 2014; 277: 139-151.

29. Eriksson CJP, Etelälahti TJ, Apter SJ. Corticosteroid modulation and testosterone changes during alcohol intoxication affects voluntary alcohol drinking. *Pharmacia Biochem Behav*. 2017; 157: 9-15.

30. Корнакова Н.В., Колесникова Л.И., Лабыгина А.В., Петрова В.А., Лазарева Л.М., Даренская М.А., и др. Характеристика процессов перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты у женщин с бесплодием на фоне гиперпролактинемии. *Acta biomedica scientifica.* 2007; 1(53): 78-80. [Kornakova NV, Kolesnikova LI, Labygina AV, Petrova VA, Lazareva LM, Darenskaya MA, et al. Characteristics of lipid peroxidation processes – antioxidant protection in women with infertility against the background of hyperprolactinemia. *Acta biomedica scientifica.* 2007; 1(53): 78-80. (In Russ.)].

31. Говорова Л.В., Алексеева Л.А., Вильниц А.А., Скрипченко Н.В., Бессонова Т.В., Гончарова Е.А. Влияние кортизола и соматотропного гормона на развитие оксидативного стресса у детей при критических состояниях инфекционной природы. *Журнал инфектологии*. 2014; 6(2): 25-31. [Govorova LV, Alekseeva LA, Vilnits AA, Skripchenko NV, Bessonova TV, Goncharova EA. Influence of cortisol and somatotropic hormone on oxidative stress development in children with critical conditions of neuroinfectious diseases. *Journal Infectology.* 2014; 6(2): 25-31. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Новикова Елизавета Анатольевна – лаборант-исследователь лаборатории биомедицинской микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: yelizaveta_novikova_2001@bk.ru, https://orcid.org/0009-0001-1207-3309

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

Карачева Анастасия Николаевна – аспирант, лаборант-исследователь лаборатории лаборатории социально значимых проблем репродуктологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: kalkova_nastya@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7626-020X

Никитина Ольга Андреевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: olga_tolpygina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1926-9694

Марянян Анаит Юрьевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории социально значимых проблем репродуктологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: anait_24@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9544-2172

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

Бельских Алексей Владимирович – кандидат химических наук, инженер лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alex590750@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-3678-7274

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

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

Ершова Оксана Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: oksana111088@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0690-4636

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

Elizaveta A. Novikova – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Biomedical Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: yelizaveta_novikova_2001@bk.ru, https://orcid.org/0009-0001-1207-3309

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

Anastasia N. Karacheva – Postgraduate, Clinical Research Assistant at the Laboratory of Socially Significant Problems of Reproductology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: kalkova_nastya@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7626-020X

Olga A. Nikitina – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: olga_tolpygina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1926-9694

Anait Yu. Marianian – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Socially Significant Problems of Reproductology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: anait_24@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9544-2172

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

Aleksey V. Belskikh – Cand. Sc. (Chem.), Engineer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alex590750@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-3678-7274

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

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

Oksana A. Ershova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: oksana111088@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0690-4636

Lyubov 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

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ
NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛАЗЕРНОЙ НУКЛЕОПЛАСТИКИ И РАДИОЧАСТОТНОЙ НЕЙРОМОДУЛЯЦИИ В ЛЕЧЕНИИ ДИСКОГЕННОЙ ПОЯСНИЧНОЙ РАДИКУЛОПАТИИ

Ларионов С.Н. [1],
Животенко А.П. [1],
Сороковиков В.А. [1, 2],
Горбунов А.В. [1],
Потапов В.Э. [1]

[1] ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

[2] Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Животенко Александр Петрович,
e-mail: sivotenko1976@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Боль в спине и нижних конечностях вмешивается в повседневную жизнь пациентов и в конечном итоге снижает качество их жизни. Для уменьшения и предотвращения формирования хронического болевого синдрома предложено множество интервенционных методов лечения.

Цель исследования. *Оценить эффективность симультанного применения лазерной нуклеопластики и радиочастотной нейромодуляции корешковых нервов и ганглиев в лечении дискогенных поясничных радикулопатий.*

Материалы и методы. *В исследование было включено 20 пациентов; их средний возраст составил 39 ± 9,1 года. Всем пациентам проводилась лазерная нуклеопластика межпозвонкового диска L_{IV}/L_V и радиочастотная нейромодуляция корешкового нерва в фораминальном пространстве заинтересованного уровня и локализации боли. Проводилась оценка изменения интенсивности боли и качества жизни по шкалам в до- и послеоперационном периоде и выполнялась контрольная магнитно-резонансная томография (МРТ) на момент выписки и на 3-й месяц наблюдения с оценкой волюметрических показателей межпозвонкового диска.*

Результаты. *У пациентов отмечено снижение интенсивности боли по визуально-аналоговой шкале и улучшение качества жизни, оценённого опросниками Oswestry Disability Index и Short Form 36. По данным МРТ-исследований, волюметрические показатели увеличились после операции и последующем снижались к 3-му месяцу наблюдения.*

Выводы. *В исследовании показана возможность одновременного использования нескольких интервенционных методов лечения с воздействием на различный морфологический субстрат, являющийся причиной формирования болевого синдрома. Показано, что снижение интенсивности болевого синдрома коррелирует с увеличением волюметрических показателей межпозвонкового диска по данным МРТ сразу после операции с последующим снижением к 3-му месяцу наблюдения. Симультанное использование лазерной нуклеопластики и радиочастотной нейромодуляции оправдано в лечении радикулопатии, позволяет снизить интенсивность болевого синдрома и увеличить волюметрические показатели межпозвонкового диска, что является признаком, повышающим амортизационные свойства межпозвонкового диска.*

Ключевые слова: *лазерная вапоризация, поясничный отдел позвоночника, радиочастотная абляция, нейромодуляция, дискогенная радикулопатия, болевой синдром, клиническая эффективность*

Статья поступила: 01.08.2024
Статья принята: 05.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Ларионов С.Н., Животенко А.П., Сороковиков В.А., Горбунов А.В., Потапов В.Э. Эффективность лазерной нуклеопластики и радиочастотной нейромодуляции в лечении дискогенной поясничной радикулопатии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 138-148. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.14

EFFICACY OF LASER NUCLEOPLASTY AND RADIOFREQUENCY NEUROMODULATION IN THE TREATMENT OF DISCOGENIC LUMBAR RADICULOPATHY

Larionov S.N. [1],
Zhivotenko A.P. [1],
Sorokovikov V.A. [1, 2],
Gorbunov A.V. [1],
Potapov V.E. [1]

[1] Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
(Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[2] 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:
Alexander P. Zhivotenko,
e-mail: sivotenko1976@mail.ru

ABSTRACT

Back and lower limb pain interferes with patients' daily lives and ultimately reduces their quality of life. Many interventional treatments have been proposed to reduce and prevent the development of chronic pain syndrome.

The aim of the study. *To evaluate the effectiveness of the simultaneous use of laser nucleoplasty and radiofrequency neuromodulation of radicular nerves and ganglia in the treatment of discogenic lumbar radiculopathy.*

Materials and methods. *The study included 20 patients; the mean age was 39 ± 9.1 years. All patients underwent laser nucleoplasty of the L_{IV}/L_{V} intervertebral disc and radiofrequency neuromodulation of the radicular nerve in the foraminal space of the level of interest and localization of pain. An assessment of changes in pain intensity and quality of life was carried out according to scales in the pre- and postoperative period and a control magnetic resonance imaging (MRI) study at the time of discharge, 3 months of observation, with an assessment of the volumetric indicators of the intervertebral disc.*

Results. *Patients showed a decrease in pain intensity according to the Visual Analogue Scale and an improvement in quality of life assessed by the ODI (Oswestry Disability Index) and SF-36 (Short Form 36) questionnaires. According to MRI studies, volumetric indicators increased after surgery and subsequently decreased by the 3rd month of observation.*

Conclusion. *The study demonstrates the possibility of using several interventional treatment methods simultaneously with an impact on various morphological substrates that cause the formation of pain syndrome. It is shown that a decrease in the intensity of pain syndrome correlates with an increase in the volumetric indicators of the intervertebral disc according to MRI data immediately after surgery, with a subsequent decrease by 3 months of observation. Simultaneous use of laser nucleoplasty and radiofrequency neuromodulation is justified in the treatment of radiculopathy, allowing reducing the intensity of pain syndrome and increasing the volumetric indicators of the intervertebral disc, which is a sign that increases the shock-absorbing properties of the intervertebral disc.*

Key words: *laser vaporization, lumbar spine, radiofrequency ablation, neuromodulation, discogenic radiculopathy, pain syndrome, clinical efficacy*

Received: 01.08.2024
Accepted: 05.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Larionov S.N., Zhivotenko A.P., Sorokovikov V.A., Gorbunov A.V., Potapov V.E. Efficacy of laser nucleoplasty and radiofrequency neuromodulation in the treatment of discogenic lumbar radiculopathy. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 138-148. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.14

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания поясничного отдела позвоночника проявляются полиморфной клинической симптоматикой, приводящей к хроническому болевому синдрому, который вмешивается в повседневную жизнь пациентов и в конечном итоге снижает качество их жизни. Наиболее распространёнными состояниями при хронических болях в спине являются дегенеративно-дистрофическое заболевание диска и межпозвонковые грыжи поясничного отдела позвоночника, которые связаны с отражённой и корешковой болью в нижних конечностях соответственно [1, 2].

В формировании болевого синдрома принимают участие два компонента – ноцицептивный и нейропатический [3, 4]. Первый возникает при активации сенсорных нервных окончаний фиброзного кольца межпозвонковых дисков, капсулы суставов и связок позвоночника и может быть спровоцирован повреждением тканей, воспалением или чрезмерной нагрузкой на позвоночный столб [5, 6]. В свою очередь нейропатический компонент появляется на фоне травмы или дегенеративно-дистрофического заболевания и последующего сдавления нервных корешков.

Стандартным методом диагностики патологии нервной системы и дегенеративных заболеваний межпозвонковых дисков, изменений межпозвонковых суставов и замыкательных пластинок позвонков является магнитно-резонансная томография (МРТ), которая обеспечивает исследователя информацией о стадии и характере патологического процесса и позволяет определить тактику лечения [7, 8].

Лечение затянувшегося или хронического болевого синдрома при дегенеративной патологии позвоночника является серьёзной проблемой, которая требует значительных затрат – как прямых, связанных с медицинскими процедурами и лекарствами, так и косвенных, которые могут быть не менее значимыми, включая снижение производительности на рабочем месте, увеличение в течение года дней нетрудоспособности. Таким образом, боль в спине является не только проблемой личного здоровья, но и предметом внимания социально-экономической сферы государства [9].

Для лечения ноцицептивного компонента хронического болевого синдрома при поясничных дорсопатиях используются различные интервенционные методы лечения: эпидуральные и паравертебральные блокады, радиочастотная абляция и лазерная нуклеопластика с дерецепцией фасеточных суставов, микрохирургические и декомпрессивно-стабилизирующие вмешательства. Результаты лечения пациентов не всегда однозначны, а при катамнезе на протяжении 3–5 лет мало отличаются, в связи с чем широкое использование малоинвазивных технологий видится обоснованным и оправданным [10–12].

Импульсное радиочастотное воздействие на корешковый нерв и ганглий является одним из способов лечения нейропатического болевого синдрома и применяется для эффективного облегчения боли [13–15]. Радиочастотное воздействие снижает риск повреждения тканей и является более безопасным, чем открытые хирургические вмешательства. G. Facchini и соавт. утверждают, что пациенты, получившие радиочастотное хирургическое лечение, в 80 % наблюдений отказались от открытой операции на позвоночнике в краткосрочной и 76 % – в долгосрочной перспективе [16]. Радиочастотное хирургическое вмешательство может приводить к лучшим клиническим исходам для пациента [16, 17].

Разработка новых технологий не только воздействия на межпозвонковый диск, но и симультанного воздействия на спинальные ганглии и корешковые нервы увеличивает эффективность лечения хронического болевого синдрома и является одним из приоритетных направлений в современной нейронауке.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность симультанного применения лазерной нуклеопластики и радиочастотной нейромодуляции корешковых нервов и ганглиев в лечении дискогенных поясничных радикулопатий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В пилотное исследование включено 20 пациентов (10 мужчин и 10 женщин) с дорсопатиями поясничного отдела позвоночника с нозологической формой М51.1 – поражение межпозвонкового диска с радикулопатией. Возраст исследуемых составил 39 ± 9,1 года. В до- и послеоперационном периоде, на 3-й месяц наблюдения, произведена оценка болевого синдрома – по визуально-аналоговой шкале (ВАШ), Pain Detect, DN4 (Douleur Neuropathique en 4 Questions), клинически значимой тревоги и депрессии – по Госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS, Hospital Anxiety and Depression Scale), качества жизни – по опросникам Oswestry Disability Index (ODI) и Short Form 35 (SF-36), удовлетворённости от проведённого хирургического лечения – по субъективно-оценочным шкалам Macnab и Nurick. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ; № 5 от 11.05.2023). Пациентами подписано добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Дизайн пилотного исследования представлен на рисунке 1.

Использованы следующие критерии включения и исключения.

Критерии включения:

1) нозологическая форма по МКБ-10 – М51.1;
2) наличие хронического болевого синдрома;
3) протрузия диска и величина выпячивания не более 6 мм при срединной локализации и без признаков секвестрации;
4) дегенерация межпозвонкового диска по C.W. Pfirrmann от I до III степени (наличие гидрофильности диска);
5) индекс массы тела (ИМТ) < 32 кг/м^2.



РИС. 1.
Дизайн исследования

FIG. 1.
Research design

Критерии исключения:

1) наличие воспалительных заболеваний кожи в месте манипуляции;
2) наличие заболевания в стадии декомпенсации;
3) наличие аллергии на местные анестетики;
4) наличие коагулопатии с показателями высокого риска кровотечения и формированием гематом;
5) ранее проведённые операции на поясничном отделе позвоночника;
6) дегенеративный стеноз позвоночного канала больше степени B по C. Schizas и соавт, больше I степени по S. Lee и соавт.;
7) наличие противопоказаний для проведения МРТ-исследования;
8) наличие онкологических заболеваний и психических расстройств;
9) ИМТ > 32 кг/м^2.

Наряду с клинико-неврологическим обследованием пациентам проводились электронейромиография (ЭНМГ) нижних конечностей, мультиспиральная компьютерная томография и МРТ поясничного отдела позвоночника с определением волюметрического коэффициента дегенерации в до- и послеоперационном периоде. Показатель (ROI, region of interest) интенсивности сигнала межпозвонкового диска оценивался в режиме T_2-взвешенного изображения на уровне позвоночно-двигательных сегментов L_{III}/L_{IV}, L_{IV}/L_V и L_V/S_I и ликвора в просвете позвоночного канала на уровне L_{III}/L_{IV}, рассчитан автоматически с помощью программного обеспечения и отображён в виде параметрической карты, на которой и выделены области интереса: pA – средняя интенсивность сигнала от диска; pL – интенсивность сигнала от ликвора. Количественная оценка интенсивности сигнала межпозвонковых дисков и использование ликвора в качестве «фантома» позволяют снизить ошибку шума, получаемого при формировании T_2-изображения пульпозного ядра и унифицировать показатель для различных по мощности МРТ-аппаратов. Измерения производились в сагиттальной плоскости 3–4 смежных межпозвонковых дисков поясничного отдела, а расчёт коэффициента осуществлялся по формуле: x = pA/ pL, где x – коэффициент дегенерации; pA – средний показатель интенсивности сигнала диска на сагиттальном и смежных парасагиттальных сечениях; pL – показатель интенсивности сигнала ликвора на уровне L_{III}/L_{IV} позвоночного канала, свободного от невральных структур.

Методы статистической обработки

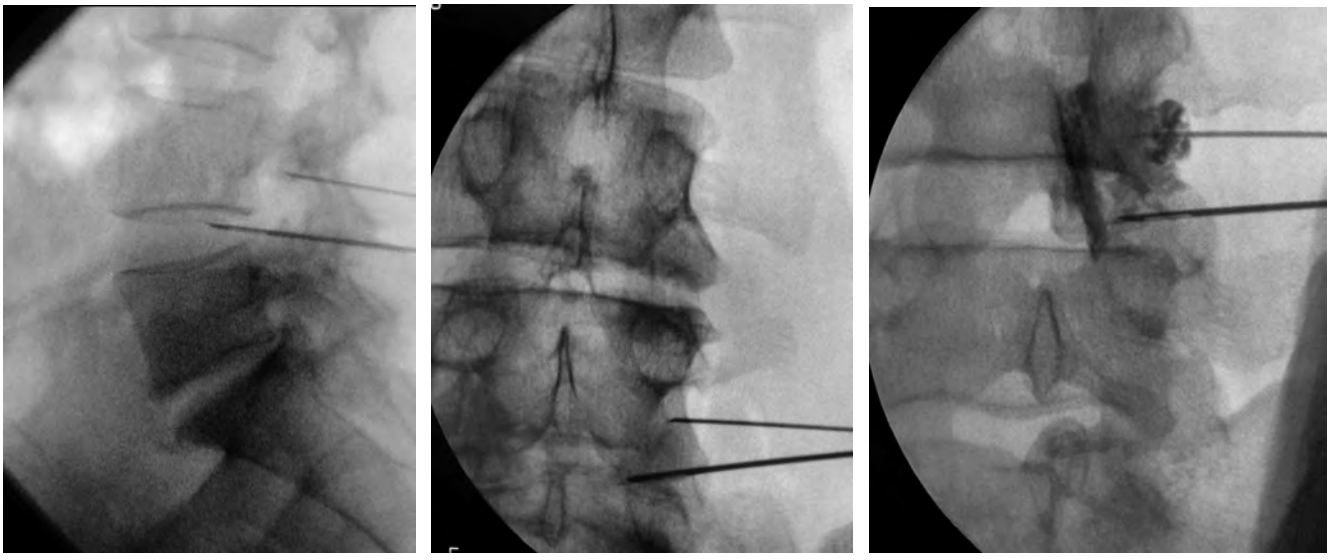
Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием программы статистика Statistica v. 10.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (M ± SD) с медианой (25-й; 75-й перцентили). Для динамической оценки коэффициента дегенерации до и после хирургического лечения использовали дисперсионный анализ Фридмана. Для сравнения показателей использовался ранговый критерий Манна – Уитни и критерий Вилкоксона. Для статистической значимости было установлено значение $p < 0,05$.

Методика оперативного вмешательства

Техника выполнения и воздействия лазером на межпозвонковый диск подробно описана и представлена в научных работах, выполненных в ИНЦХТ [18]. Лазерную аутопластику проводили при использовании диодного аппарата АЛОД-01 (Медлаз-Нева, Санкт-Петербург) с длиной волны 1061 нм (регистрационное удостоверение в сфере здравоохранения и социального развития № ФС 02262006/2929-06 от 29.03.2006; регистрационный № РОСС RU.0001.21МЭ-60. На межпозвонковый диск проводилось воздействие в импульсном режиме. Через иглу с мандреном в пульпозное ядро вводят световодное оптоволокно и по траектории введения иглы поочерёдно обрабатывают дистальную, центральную и проксимальную части диска: дистальную часть – мощностью 4,5 Вт, центральную – 5,5 Вт, проксимальную – 4,5 Вт. Длительность каждого импульса составляла 0,5 с, интервал между импульсами – 0,3 с, количество импульсов в каждой зоне – 10.

Следующим этапом проводится пульсовая радиочастотная нейромодуляция (на примере протрузии диска L_{IV}–L_V и радикулопатии корешка L_5). Под контролем электронно-оптического преобразователя в области нижнего треугольника межпозвонкового отверстия на уровне L_{IV}–L_V, образованного дугоотростчатыми суставами в месте прохождения корешкового нерва, произведена установка канюли с тефлоновой изоляцией длиной 200 мм, диаметром 20 G, активным кончиком 10 мм (рис. 2). Контроль расположения конца канюли осуществлён посредством рентгеноскопии и введения 1 мл йодсодержащего контраста йогексол 300. В просвет канюли введён электрод из термопары для осуществления сенсорной и моторной стимуляции: при воздействии на корешковый нерв определяются парестезии, покалывания и/или сокращение мышц. Исследование выполняется под контролем импедансометрии – диапазон составляет 200–300 Ом. Двукратно проведено импульсное радиочастотное воздействие в режиме нейромодуляции с использованием генератора COSMAN G4 (Cosman Medical, США) при 42 °C в течение 120 с (вверх и медиально, затем вниз и медиально). По завершении сеанса канюли удалены, наложена асептическая повязка.

Пациенты активизировались через 4–6 часов после вмешательства в жёстком пояснично-крестцовом корсете.



а ***б*** ***в***

РИС. 2.

*Установка канюли в области нижнего треугольника межпозвонкового отверстия на уровне L_{IV}–L_V, образованного дугоотростчатыми суставами в месте прохождения корешкового нерва: **а** – боковая проекция; **б** – прямая проекция; **в** – прямая проекция (игла в межпозвонковом диске и фораминально – в проекции корешка; окраска йогексолом 300*

FIG. 2.

*Installation of a cannula in the area of the lower triangle of L_{IV}–L_V intervertebral foramen, formed by the facet joints at the site of the radicular nerve passage: **а** – lateral projection; **б** – frontal projection; **в** – frontal projection (needle in the intervertebral disc and foraminally in the projection of the root; stained with iogexol 300*

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

Пациент Г.В.Э., 19 лет, находился на лечении в нейрохирургическом стационаре ИНЦХТ. Пациента беспокоила постоянная боль в пояснично-крестцовом отделе позвоночника с периодами усиления её интенсивности в течение суток, иррадиацией в правую нижнюю конечность, распространяющуюся по задней наружной поверхности бедра, и периодическим ощущением онемения и мурашек с наружной стороны стопы справа. Анамнез заболевания: боли в спине с 14 лет – отмечает их усиление при физической нагрузке. Живёт в сельской местности. Боли в правой нижней конечности отмечает с конца января 2023 г. Консервативно лечился у невролога по месту жительства – с временным эффектом. На момент госпитализации в стационар боль в спине и правой нижней конечности носила постоянный характер – в течение 3 месяцев, пациент отмечал усиление её интенсивности.

Объективно: поясничный лордоз сглажен. Отмечается ограничение в объёме активных движений в поясничном отделе позвоночника. Локально при пальпации определяется напряжение паравертебральных мышц. Симптомы натяжения с нижних конечностей положительные, больше выражены справа. Выполнена МРТ поясничного отдела позвоночника с оценкой коэффициента дегенерации для дисков (рис. 3).

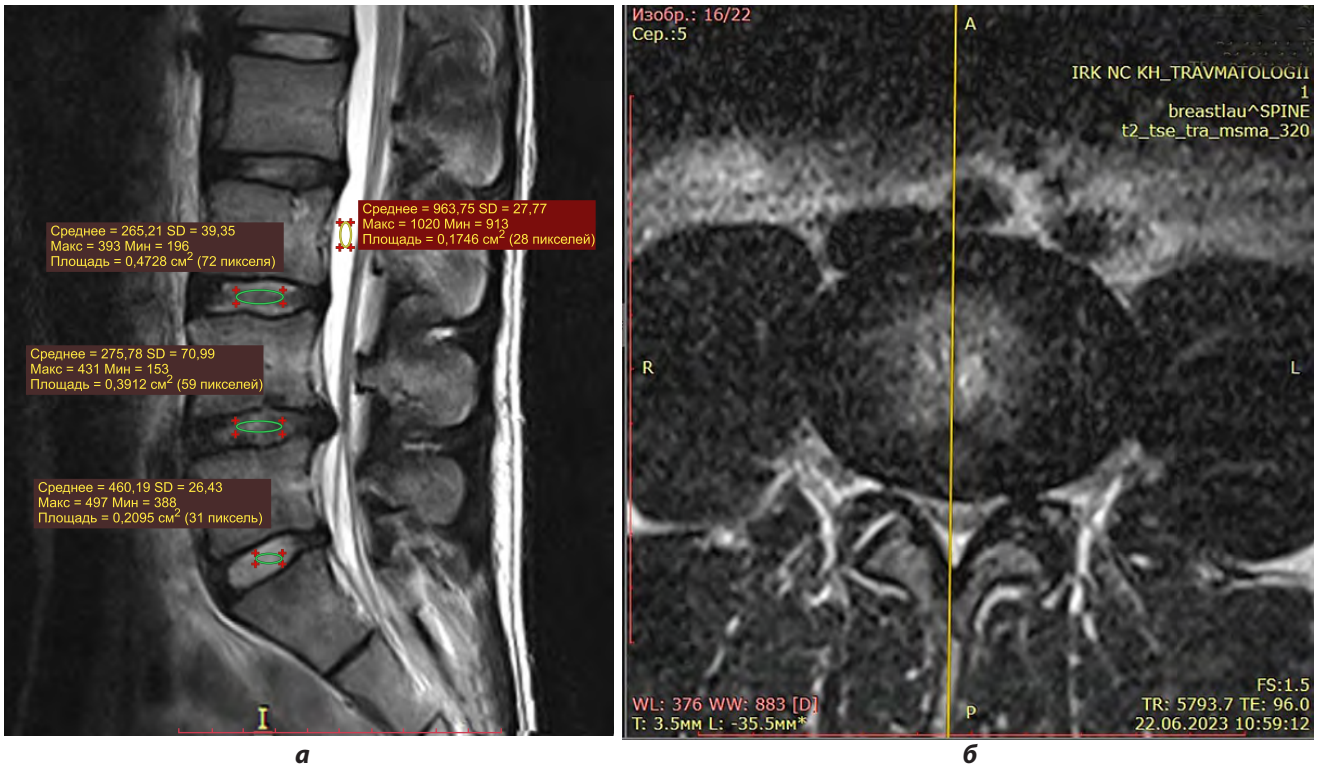
Диагноз клинический: Дорсопатия. Дегенеративно-дистрофические изменения поясничного отдела позвоночника. Протрузия диска на уровне L_{IV}–L_V. Люмбоишиалгия справа. Умеренно выраженные болевой и мышечно-тонический синдромы (М51.1 по МКБ-10).

Рекомендован интервенционный метод лечения с симультанным применением импульсной радиочастотной модуляции дорзальных ганглиев и корешковых нервов на уровне фораминальных отверстий L_{IV}/L_V, L_V/S_I справа и лазерной нуклеопластикой межпозвонкового диска L_{IV}–L_V из правостороннего латерального доступа.

Проведено хирургическое вмешательство: импульсная радиочастотная модуляция дорзальных ганглиев и корешковых нервов на уровне фораминальных отверстий L_{IV}/L_V, L_V/S_I справа и лазерная нуклеопластика межпозвонкового диска L_{IV}–L_V из правостороннего латерального доступа по методике, описанной выше. В послеоперационном периоде пациент отмечает снижение интенсивности болевого синдрома в позвоночном столбе и нижней конечности с улучшением показателей качества жизни, оцененных опросниками ODI и SF-36.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По вышеописанной методике пролечено 20 пациентов. Комплексная оценка интенсивности болевого синдрома в до- и послеоперационном периоде, удовлетворённости пациентов исходами проведённого хирургического лечения представлена в таблице 1 и на рисунке 4.



а *б*

РИС. 3.
Пациент Г.В.Э., МРТ поясничного отдела позвоночника: **а** *– T_2-взвешенное изображение, сагиттальная проекция с измеряемыми параметрами;* **б** *– T_2-взвешенное изображение, аксиальная проекция ; SD – стандартное отклонение (standard deviation)*

FIG. 3.
Patient G.V.E., MRI of the lumbar spine: ***a*** *– T2-weighted image, sagittal projection with measured parameters;* ***б*** *– T2-weighted image, axial projection; SD – standard deviation*

ТАБЛИЦА 1
РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 1
RESULTS OF THE ASSESSMENT OF SURGICAL TREATMENT

Показатели		До операции	После операции	3-й месяц наблюдения	*p*
		1	2	3	
ODI		14,15 ± 4,87 15 [10,5; 17]	6,75 ± 4,62 6 [3,5; 8,5]	6,88 ± 6,28 5 [2; 12]	$p_{K-W} = 0,000$ $p_{1-2} = 0,00008$ $p_{1-3} = 0,00021$ $p_{2-3} = 0,704$
ВАШ, поясница		5,8 ± 1,88 6 [5; 7]	2,05 ± 1,7 2 [1; 2,5]	2,47 ± 2,35 1 [1; 3]	$p_{K-W} = 0,000$ $p_{1-2} = 0,000005$ $p_{1-3} = 0,00005$ $p_{2-3} = 1,0$
ВАШ, конечность		2,95 ± 1,75 3 [0,5; 5]	0,9 ± 1,68 0 [0; 1,5]	1,29 ± 2,11 0 [0; 2]	$p_{K-W} = 0,0039$ $p_{1-2} = 0,003$ $p_{1-3} = 0,012$ $p_{2-3} = 0,483$
DN4		2,20 ± 1,36 2 [2; 3]	0,95 ± 1,15 0,5 [0; 2]	1,88 ± 1,87 2 [0; 3]	
PainDetect		12,15 ± 6,44 12 [8; 16,5]	3,95 ± 6,12 1,5 [0,5; 5,5]	7 ± 7,11 2 [0; 3]	$p_{K-W} = 0,11$ $p_{1-2} = 0,042$ $p_{1-3} = 0,27$ $p_{2-3} = 0,31$
Нейропатическая боль	нет	14 (70 %)	19 (95 %)	17 (85 %)	
	да	6 (30 %)	1 (5 %)	3 (15 %)	
SF-36, физическое благополучие		36,38 ± 8,1 38,31 [30,03; 41,91]	42,43 ± 6,96 42,17 [38,79; 48,09]	45,97 ± 8,54 47,92 [40,78; 52,28]	$p_{K-W} = 0,0015$ $p_{1-2} = 0,022$ $p_{1-3} = 0,0006$ $p_{2-3} = 0,13$
< 50 баллов		20 (100 %)	18 (90 %)	12 (60 %)	
> 50 баллов		0 (0 %)	2 (10 %)	8 (40 %)	
SF-36, психическое благополучие		45,84 ± 11,79 46,88 [35,19; 54,68]	46,02 ± 12,39 45,43 [36,51; 56,35]	52,65 ± 8,22 54,97 [48,28; 57,90]	$p_{K-W} = 0,14$ $p_{1-2} = 0,925$ $p_{1-3} = 0,068$ $p_{2-3} = 0,12$
< 50 баллов		11 (55 %)	12 (60 %)	7 (35 %)	
> 50 баллов		9 (45 %)	8 (40 %)	13 (65 %)	
HADS, баллы		11,55 ± 4,76 11,50 [8; 15]	6,80 ± 3,91 7 [4; 9]	6,35 ± 5,01 4 [3; 8]	
Депрессия по HADS	нет (0–7 баллов)	3 (15 %)	13 (65 %)	12 (60 %)	$p_{K-W} = 0,0017$ $p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} = 0,002$ $p_{2-3} = 0,63$
	субклиническая (8–10 баллов)	4 (20 %)	4 (20 %)	4 (20 %)	
	клиническая (> 11 баллов)	13 (65 %)	3 (15 %)	4 (20 %)	
Шкала Macnab	Отлично	–	4 (20 %)	2 (10 %)	
	Хорошо	–	15 (75 %)	12 (60 %)	$p_{2-3} = 0,17$
	Удовлетворительно	–	1 (5 %)	6 (30 %)	
Шкала Nurick	Полный регресс	–	3 (15 %)	0 (0 %)	
	Улучшение	–	15 (75 %)	17 (85 %)	$p_{2-3} = 0,12$
	Без изменений	–	2 (10 %)	3 (15 %)	

Примечания. p_{K-W} – критерий Краскела – Уоллиса, сравнивающий показатели до и после лечения; $p_{1-2, 1-3, 2-3}$ – статистическая значимость различий показателей между группами по критерию Манна – Уитни.

Анализ полученных данных выявил статистически значимое снижение болевого синдрома в поясничном отделе и нижних конечностях, что сказалось на улучшении качества жизни по шкалам ODI и SF-36 физического благополучия и на снижении показателей тревоги по шкале HADS; данные тенденции сохранялись при дальнейшем наблюдении. Так, удовлетворённость пациентов после хирургического лечения, оцениваемая по шкалам Macnab ($p_{2-3} = 0,17$) и Nurick ($p_{2-3} = 0,12$), статистически значимо не изменилась в течение трёх месяцев после операции. Однако хирургическое лечение оказало менее значимое влияние за короткий интервал времени на нейропатический болевой синдром, так, на момент выписки из стационара $p_{1-2} = 0,042$.

Анализ данных T_2-взвешенных МРТ-изображений до, на 2-е сутки и через 3 месяца после вмешательства позволил характеризовать изменение интенсивность сигнала, зависящее от вязкости пульпозного ядра, как ну-

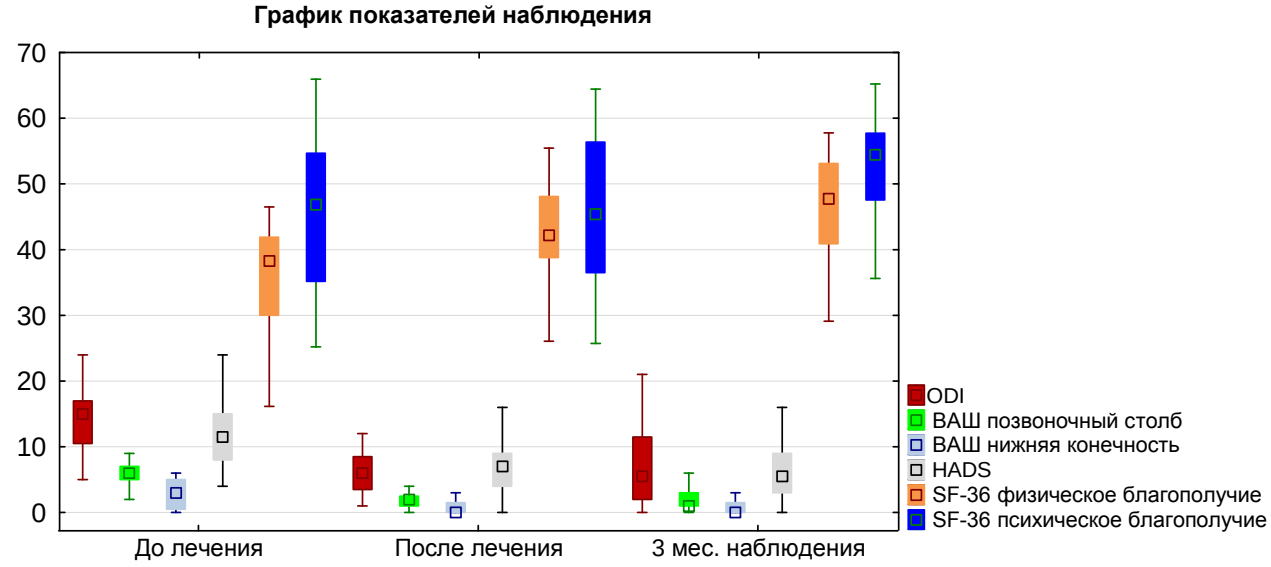


РИС. 4.
График показателей наблюдения до и после хирургического лечения

FIG. 4.
Graph of observation parameters before and after surgical treatment

ТАБЛИЦА 2

ВОЛЮМЕТРИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ – КОЭФФИЦИЕНТ ДЕГЕНЕРАЦИИ МЕЖПОЗВОНКОВЫХ ДИСКОВ

TABLE 2

VOLUMETRIC INDEX – COEFFICIENT OF INTERVERTEBRAL DISC DEGENERATION

ПДС	До операции 1	После операции 2	3-й месяц наблюдения 3	*p*
L_{III}/LI_V	0,27 ± 0,076 0,27 [0,22; 0,34]	0,28 ± 0,085 0,29 [0,21; 0,35]	0,23 ± 0,09 0,23 [0,18; 0,28]	$p_F = 0,047$ $p_{1-2} = 0,23$ $p_{1-3} = 0,028$ $p_{2-3} = 0,0065$
L_{IV}/L_V	0,20 ± 0,078 0,19 [0,13; 0,28]	0,22 ± 0,061 0,23 [0,17; 0,26]	0,18 ± 0,079 0,16 [0,13; 0,22]	$p_F = 0,056$ $p_{1-2} = 0,030$ $p_{1-3} = 0,905$ $p_{2-3} = 0,044$
L_V/S_I	0,20 ± 0,078 0,19 [0,13; 0,28]	0,20 ± 0,108 0,15 [0,12; 0,24]	0,18 ± 0,105 0,13 [0,10; 0,22]	$p_F = 0,79$ $p_{1-2} = 0,80$ $p_{1-3} = 0,62$ $p_{2-3} = 0,65$
p	$p_{K-W} = 0,0066$ $p_{LIII/LIV-LIV/LV} = 0,0066$ $p_{LIII/LIV-LV/SI} = 0,0066$ $p_{LIV/LV-LV/SI} = 0,989$	$p_{K-W} = 0,0039$ $p_{LIII/LIV-LIV/LV} = 0,029$ $p_{LIII/LIV-LV/SI} = 0,0033$ $p_{LIV/LV-LV/SI} = 0,068$	$p_{K-W} = 0,157$ $p_{LIII/LIV-LIV/LV} = 0,085$ $p_{LIII/LIV-LV/SI} = 0,131$ $p_{LIV/LV-LV/SI} = 0,582$	

Примечания. p_F – критерий Фридмана, используемый для дисперсионного анализа повторных измерений (динамического наблюдения за коэффициентом дегенерации); $p_{1-2,\ 1-3,\ 2-3}$ – статистически значимые различия показателей между группами по критерию Вилкоксона; p_{K-W} – критерий Краскела – Уоллиса, сравнивающий показатели до и после лечения; $p_{LIII/LIV,\ LIV/LV,\ LV/SI}$ – статистически значимые различия показателей коэффициента дегенерации межпозвонковых дисков по критерию Манна – Уитни.

леопластику, так как на T_2-взвешенном изображении отмечалось повышение интенсивности сигнала и коэффициента дегенерации межпозвонкового диска сразу после операции с последующим снижением к 3-му месяцу наблюдения (табл. 2; рис. 5, 6).

При сравнении вязкости дисков (коэффициентов дегенерации) L_{III}/L_{IV}, L_{IV}/L_V и L_V/S_I отмечено, что показатели статистически значимо отличались между собой. Для рассчитанного параметра на T_2-взвешенном изображении критерий Краскела – Уоллиса составил 0,0066,

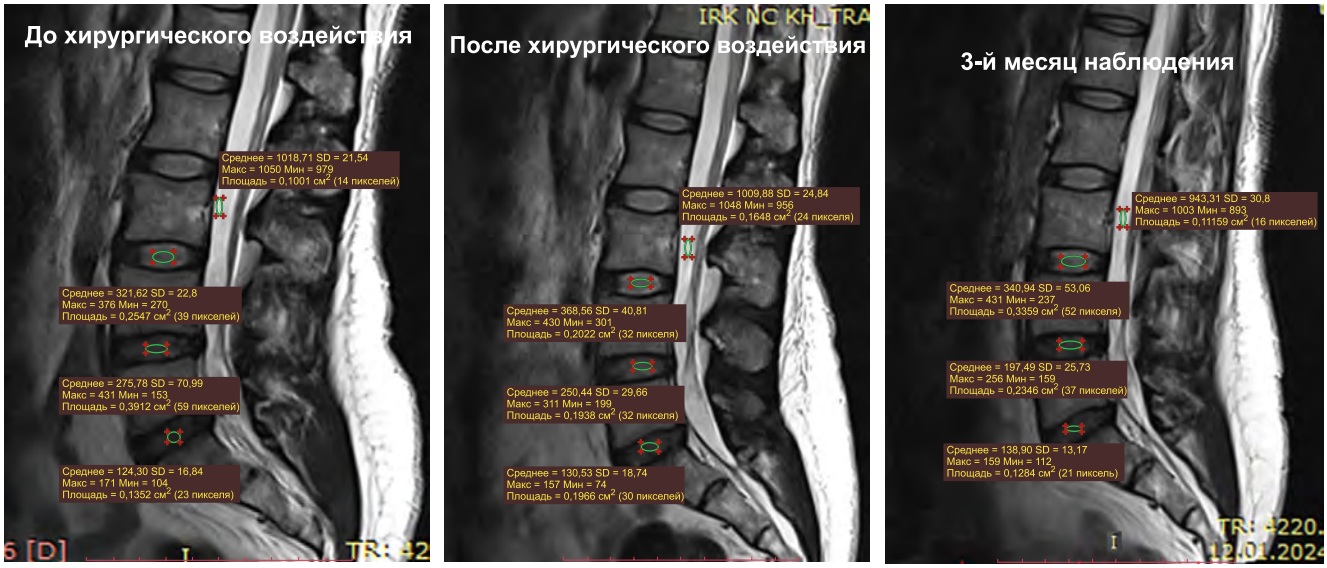
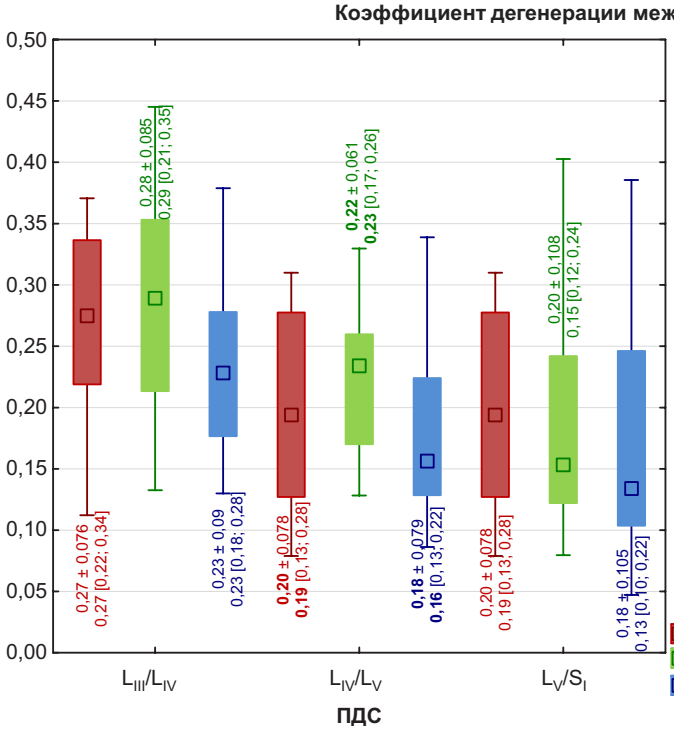


РИС. 5.

T_2-взвешенные МРТ-изображения: сагиттальная проекция с измеряемыми волюметрическими показателями до, после и через 3 месяца после лазерной вапоризации межпозвонкового диска L_{IV}/L_V: SD – стандартное отклонение (standard deviation)

FIG. 5.

T_2-weighted MRI: sagittal view with measured volumetric parameters before, after and 3 months after laser vaporization of L_{IV}/L_V intervertebral disc; SD – standard deviation



ПДС	До операции 1	После операции 2	3 месяц наблюдения 3	*p*
L_{III}/L_{IV}	0,27 ± 0,076 0,27 [0,22; 0,34]	0,28 ± 0,085 0,29 [0,21; 0,35]	0,23 ± 0,09 0,23 [0,18; 0,28]	p = 0,047 p_{1-2} = 0,23 p_{1-3} = 0,028 p_{2-3} = 0,0065
L_{IV}/L_V	***0,20*** ± 0,078 ***0,19*** [0,13; 0,28]	***0,22*** ± 0,061 ***0,23*** [0,17; 0,26]	***0,18*** ± 0,079 ***0,16*** [0,13; 0,22]	$p_{F\,1,2,3}$ = 0,056 p_{1-2} = 0,030 p_{1-3} = 0,905 p_{2-3} = 0,044
L_V/S_I	0,20 ± 0,078 0,19 [0,13; 0,28]	0,20 ± 0,108 0,15 [0,12; 0,24]	0,18 ± 0,105 0,13 [0,10; 0,22]	$p_{F\,1,2,3}$ = 0,79 p_{1-2} = 0,80 p_{1-3} = 0,62 p_{2-3} = 0,65
p	p_{K-W} = 0,0066 $p_{LIII/LIV-LIV/LV}$ = 0,0066 $p_{LIII/LIV-LV/SI}$ = 0,0066 $p_{LIV/LV-LV/SI}$ = 0,989	p_{K-W} =0,0039 $p_{LIII/LIV-IV/LV}$ = 0,029 $p_{LIII/LIV-LV/SI}$ = 0,0033 $p_{LIV/LV-LV/SI}$ = 0,068	p_{K-W} =0,157 $p_{LIII/LIV-IV/LV}$ = 0,085 $p_{LIII/LIV-V/SI}$ = 0,131 $p_{LIV/LV-LV/SI}$ = 0,582	

p_F – критерий Фридмана, используемый для дисперсионного анализа повторных измерений (динамического наблюдения за коэффициентом дегенерации);
$p_{1-2,\ 1-3,\ 2-3}$ – статистически значимые различия показателей между группами по критерию Вилкоксона;
p_{K-W} – критерий Краскела – Уоллиса, сравнивающий показатели до и после лечения;
$p_{LIII/LIV,\ LIV/LV,\ LV/SI}$ – статистически значимые различия показателей коэффициента дегенерации межпозвонковых дисков по критерию Манна – Уитни

РИС. 6.

Коэффициент дегенерации межпозвонковых дисков до и после лазерной вапоризации межпозвонкового диска на уровне L_{IV}/L_V

FIG. 6.

Coefficient of degeneration of intervertebral discs before and after laser vaporization of the L_{IV}/L_V intervertebral disc

при сравнении коэффициента дегенерации дисков после лазерной нуклеопластики $p_{K–W}$ = 0,0039 (изменился в 2 раза), однако через 3 месяца наблюдения статистически значимых различий не выявлено. При сравнении индексов дегенерации до и после хирургического вмешательства на уровне межпозвонкового диска L_{IV}/L_V по критерию Вилкоксона получено существенное различие ($p_{1–2}$ = 0,030), тогда как индексы дегенерации смежных дисков L_{III}/L_{IV} ($p_{1–2}$ = 0,23) и L_V/S_I ($p_{1–2}$ = 0,80) не имели статистически значимых различий, а изменялись на 3-й месяц наблюдения на уровне межпозвонкового диска L_{III}/L_{IV} ($p_{1–3}$ = 0,028 и $p_{2–3}$ = 0,0065), что связано с течением дегенеративного процесса.

Таким образом, сравнение индексов дегенерации дисков L_{III}/L_{IV}, L_{IV}/L_V и L_V/S_I до и после лазерного воздействия продемонстрировало значительные изменения вязко-эластических свойств дисков, подвергнутых лазерной нуклеопластике, и подтвердило изменения их структуры по сравнению со смежными межпозвонковыми дисками.

Согласно МРТ, отмечается повышение коэффициента дегенерации на 2-е сутки после операции и последующее его снижение к 3-му месяцу наблюдения. У всех пациентов отмечено снижение интенсивности боли по ВАШ и улучшение качества жизни, оцененного опросниками ODI и SF-36. Пациенты в 90 % случаев отмечают удовлетворённость от проведённого хирургического лечения по шкалам Macnab и Nurick. Однако хирургическое лечение оказало менее значимое влияние на нейропатический болевой синдром, в связи с чем важно выполнять комплексное преемственное лечение данных пациентов на всех этапах стационарного и амбулаторного звена с междисциплинарным подходом и проведением медикаментозной терапии, лечебной физкультуры и санаторно-курортного лечения [19–22].

В ходе исследования нежелательных явлений не выявлено. Однако полученные результаты необходимо интерпретировать с осторожностью, так как пилотное исследование представлено небольшим количеством участников и имеет небольшой период наблюдения. В ходе исследования выявлена высокая эффективность в снижении болевого синдрома с визуализационным контролем по МРТ волюметрического коэффициента дегенерации межпозвонкового диска в до- и послеоперационном периоде. Необходимо проведение долгосрочных сравнительных исследований в лечении дискогенной радикулопатии с симультанным использованием лазерной нуклеопластики и радиочастотной нейромодуляции и изучением параметров эффективности и безопасности не только на раннем, но и в отдалённом периоде лечения.

ВЫВОДЫ

Симультанное применение лазерной нуклеопластики и радиочастотной нейромодуляции корешковых нервов и ганглиев в лечении дискогенных поясничных радикулопатий является результативным и высокоэффективным методом, который способствует снижению боли и улучшению функционального состояния пациентов при воздействии на поражённые межпозвонковые диски. Их применение в лечении пациентов с дискогенной радикулопатией позволяет избежать открытого хирургического вмешательства и связанных с ним рисков для пациентов, а также улучшить качество их жизни. Настоящая работа демонстрирует высокую степень эффективности и безопасности такого метода лечения, что определяет его дальнейшее успешное использование в клинической практике.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Palada V, Ahmed AS, Finn A, Berg S, Svensson CI, Kosek E. Characterization of neuroinflammation and periphery-to-CNS inflammatory cross-talk in patients with disc herniation and degenerative disc disease. *Brain Behav Immun*. 2019; 75: 60-71. doi: 10.1016/j.bbi.2018.09.010

2. Zhang YG, Guo TM, Guo X, Wu SX. Clinical diagnosis for discogenic low back pain. *Int J Biol Sci*. 2009; 5(7): 647-658. doi: 10.7150/ijbs.5.647

3. Baron R, Binder A, Attal N, Casale R, Dickenson AH, Treede RD. Neuropathic low back pain in clinical practice. *Eur J Pain*. 2016; 20(6): 861-873. doi: 10.1002/ejp.838

4. Itz CJ, Geurts JW, van Kleef M, Nelemans P. Clinical course of non-specific low back pain: A systematic review of prospective cohort studies set in primary care. *Eur J Pain*. 2013; 17(1): 5-15. doi: 10.1002/j.1532-2149.2012.00170.x

5. Bielewicz J, Kamieniak M, Szymoniuk M, Litak J, Czyżewski W, Kamieniak P. Diagnosis and management of neuropathic pain in spine diseases. *J Clin Med*. 2023; 12(4): 1380. doi: 10.3390/jcm12041380

6. Attal N, Cruccu G, Baron R, Haanpaa M, Hansson P, Jensen TS, et al. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. *Eur J Neurol*. 2010; 17: 1113-1123. doi: 10.1111/j.1468-1331.2010.02999.x

7. Wu N, Liu H, Chen J, Zhao L, Zuo W, Ming Y, et al. Comparison of apparent diffusion coefficient and T2 relaxation time variation patterns in assessment of age and disc level related intervertebral disc changes. *PLoS One*. 2013; 8(7): e69052. doi: 10.1371/journal.pone.0069052

8. Alkalay R, David H. Diffusion based MR measurements correlates with age-related changes in human intervertebral disks. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*. 2019; 61: 38-45. doi: 10.1016/j.clinbiomech.2018.06.007

9. Потапов В.Э., Кошкарева З.В., Животенко А.П., Горбунов А.В., Сороковиков В.А. Пункционные хирургические технологии в лечении фасет-синдрома при спондилоартрозах в по-

ясничном отделе (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(2): 36-42. [Potapov VE, Koshkareva ZV, Zhivotenko AP, Gorbunov AV, Sorokovikov VA. Puncture surgical technologies in the treatment of facet syndrome for spondylarthrosis in the lumbar spine (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(2): 36-42. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2020-5.2.6

10. Zileli M, Crostelli M, Grimaldi M, Mazza O, Anania C, Fornari M, et al. Natural course and diagnosis of lumbar spinal stenosis: WFNS Spine Committee recommendations. *World Neurosurg X*. 2020; 7: 100073. doi: 10.1016/j.wnsx.2020.100073

11. Sathish M, Eswar R. Systematic reviews and meta-analysis in spine surgery – How good are they in methodological quality? A systematic review. *Global Spine J*. 2021; 11(3): 378-399. doi: 10.1177/2192568220906810

12. Wan ZY, Shan H, Liu TF, Song F, Zhang J, Liu ZH, et al. Emerging issues questioning the current treatment strategies for lumbar disc herniation. *Front Surg*. 2022; 9: 814531. doi: 10.3389/fsurg.2022.814531

13. Xu X, Fu S, Shi X, Liu R. Microglial BDNF, PI3K, and p-ERK in the spinal cord are suppressed by pulsed radiofrequency on dorsal root ganglion to ease SNI-induced neuropathic pain in rats. *Pain Res Manag*. 2019; 2019: 5948686. doi: 10.1155/2019/5948686

14. Jang JN, Park S, Park JH, Song Y, Choi S, Kim YU, et al. Comparison of efficacy according to voltage of pulsed radiofrequency treatment to lumbar dorsal root ganglion in patient with lumbar radiculopathy: Pilot study. *Medicine (Baltimore)*. 2023; 102(17): e33617. doi: 10.1097/MD.0000000000033617

15. Park S, Park JH, Jang JN, Choi SI, Song Y, Kim YU, et al. Pulsed radiofrequency of lumbar dorsal root ganglion for lumbar radicular pain: A systematic review and meta-analysis. *Pain Pract*. 2024; 24(5): 772-785. doi: 10.1111/papr.13351

16. Trinidad JM, Carnota AI, Failde I, Torres LM. Radiofrequency for the treatment of lumbar radicular pain: Impact on surgical indications. *Pain Res Treat*. 2015; 2015: 392856. doi: 10.1155/2015/392856

17. Facchini G, Spinnato P, Guglielmi G, Albisinni U, Bazzocchi A. A comprehensive review of pulsed radiofrequency in the treatment of pain associated with different spinal conditions. *Br J Radiol*. 2017; 90(1073): 20150406. doi: 10.1259/bjr.20150406

18. Животенко А.П., Кошкарева З.В., Горбунов А.В., Сороковиков В.А. Хирургическое лечение фасет-синдрома при сегментарной нестабильности поясничного отдела позвоночника. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 95-102. [Zhivotenko AP, Koshkareva ZV, Gorbunov AV, Sorokovikov VA. Surgical treatment of facet syndrome in segmental instability of the lumbar spine. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 95-102. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.3.10

19. Li C, Hou W, Ding D, Yang Y, Gu S, Zhu Y. Evidence mapping based on systematic reviews of cognitive behavioral therapy for neuropathic pain. *Neural Plast*. 2023; 2680620. doi: 10.1155/2023/2680620

20. Bates D, Schultheis BC, Hanes MC, Jolly SM, Chakravarthy KV, Deer TR, et al. A comprehensive algorithm for management of neuropathic pain. *Pain Med*. 2019; 20(Suppl 1): S2-S12. doi: 10.1093/pm/pnz075

21. Szewczyk AK, Jamroz-Wiśniewska A, Haratym N, Rejdak K. Neuropathic pain and chronic pain as an underestimated interdisciplinary problem. *Int J Occup Med Environ Health*. 2022; 35(3): 249-264. doi: 10.13075/ijomeh.1896.01676

22. Moisset X. Neuropathic pain: Evidence based recommendations. *Presse Med*. 2024; 53(2): 104232. doi: 10.1016/j.lpm.2024.104232

Сведения об авторах

Ларионов Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующий научно-клиническим отделом нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: snlar@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9189-3323

Животенко Александр Петрович – младший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sivotenko1976@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4032-8575

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9008-6383

Горбунов Анатолий Владимирович – врач-нейрохирург нейрохирургического отделения, младший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: a.v.gorbunov58@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1352-0502

Потапов Виталий Энгельсович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: pva454@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9167-637X

Information about the authors

Sergey N. Larionov – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer, Head of the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: snlar@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9189-3323

Aleksandr P. Zhivotenko – Research Officer at the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sivoten-ko1976@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4032-8575

Vladimir A. Sorokovikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9008-6383

Anatoly V. Gorbunov – Neurosurgeon at the Neurosurgical Department, Research Officer at the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: a.v.gorbunov58@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1352-0502

Vitaly E. Potapov – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: pva454@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9167-637X

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ
OPHTHALMOLOGY

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРЕДИКТОРОВ РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ЯВЛЕНИЙ ВО ВРЕМЯ ХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ НА СЕТЧАТКЕ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ

Олещенко И.Г. [1, 2],
Маньков А.В. [2],
Заболотский Д.В. [3, 4],
Кузьмин С.В. [1]

[1] Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337, Россия)
[2] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)
[3] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2, Россия)
[4] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г.И. Турнера» Минздрава России (196603, г. Пушкин, ул. Парковая, 64-68, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Олещенко Ирина Геннадьевна,
e-mail: iga.oleshenko@mail.ru

Статья поступила: 20.06.2024
Статья принята: 12.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

РЕЗЮМЕ

Пациент с сахарным диабетом (СД), осложнённым нефропатией и ретинопатией, имеет изменения гемостаза, которые представляют собой серьёзную проблему при хирургии сетчатки и проведении обезболивания с использованием регионарных блокад.

Цель исследования. *Определить факторы риска возникновения нежелательных геморрагических явлений у больных сахарным диабетом, находящихся на программном гемодиализе, во время выполнения регионарного обезболивания при хирургическом лечении патологии сетчатки.*

Материалы и методы. *Проведён ретроспективный анализ историй болезней за 2021–2023 гг. Фиксировали: возраст, пол, тип СД, оценку по шкале ASA (American Society of Anesthesiologists), длительность нахождения на заместительной почечной терапии, время после последнего и до следующего гемодиализа, длительность инсулинотерапии, пролиферативной стадии диабетической ретинопатии (ДР), общий анализ крови (ОАК), креатинин, сахар крови, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), нежелательные геморрагические явления во время выполнения ретробульбарной анестезии. Для оценки взаимосвязей между исследуемыми признаками и наличием геморрагических осложнений был проведён корреляционный анализ по Спирмену.*

Результаты. *Оценка показателей ОАК показала среднее количество тромбоцитов ($320 \pm 47{,}5 \times 10^9$). Уровень креатинина превышал норму в 5–7 раз, что характерно для терминальной хронической почечной недостаточности (тХПН). Результаты АЧТВ перед операцией не выходили за пределы референсных значений. Наиболее значимые корреляции со средней положительной связью установлены между наличием геморрагических осложнений и длительностью пролиферативной формы ДР ($r = 0{,}67$; $p < 0{,}05$), количеством тромбоцитов крови ($r = 0{,}3$; $p < 0{,}05$) и уровнем креатинина ($r = 0{,}64$; $p < 0{,}05$).*

Заключение. *При хирургическом лечении патологии сетчатки длительность течения пролиферативной формы ДР, выраженность уремического синдрома и степени тромбоцитоза могут являться факторами возникновения нежелательных геморрагических явлений во время выполнения регионарного обезболивания у больных с тХПН, находящихся на программном гемодиализе.*

Ключевые слова: *гемодиализ, нежелательные геморрагические явления, ретробульбарная блокада, пролиферативная диабетическая ретинопатия*

Для цитирования: Олещенко И.Г., Маньков А.В., Заболотский Д.В., Кузьмин С.В. Выявление предикторов риска возникновения нежелательных геморрагических явлений во время хирургических вмешательств на сетчатке у больных сахарным диабетом, находящихся на гемодиализе. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 149-155. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.15

IDENTIFICATION OF RISK PREDICTORS OF UNDESIRABLE HEMORRHAGIC PHENOMENA DURING RETINAL SURGERY IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS ON HEMODIALYSIS

Oleshchenko I.G. [1, 2],
Mankov A.V. [2],
Zabolotskii D.V. [3, 4],
Kuzmin S.V. [1]

[1] Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Lermontova str. 337, Irkutsk 664033, Russian Federation)
[2] Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[3] Saint Petersburg State Pediatric Medical University (Litovskaya str. 2, Saint Petersburg 194100, Russian Federation)
[4] H. Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery (Parkovaya str. 64-68, Pushkin 196603, Russian Federation)

Corresponding author:
Irina G. Oleshchenko,
e-mail: iga.oleshenko@mail.ru

ABSTRACT

A patient with diabetes mellitus (DM) complicated by nephropathy and retinopathy has changes in hemostasis, which poses a serious problem during retinal surgery and anesthesia using regional blockades.

The aim. *To determine the risk factors of undesirable hemorrhagic phenomena occurrence in DM patients being on programmed hemodialysis during regional anesthesia at the time of retinal pathology surgery.*

Materials and methods. *A retrospective analysis of medical histories (for 2021–2023) was performed. Age, gender, DM type, ASA score, duration of renal replacement therapy, time after last and before next hemodialysis, insulin therapy duration, diabetic retinopathy proliferative stage, general blood test, creatinine, blood sugar, APTT, undesirable hemorrhagic phenomena during retrobulbar anesthesia were recorded. Spearman correlation analysis was used to assess the relationship between the studied signs and hemorrhagic complications.*

Results. *General blood test parameters evaluation revealed an average platelet count of 320 ± 47.5 × 10^9. Creatinine levels exceeded the norm by 5–7 times, which is typical for terminal chronic kidney failure (tCKF). APTT results before surgery did not go beyond reference values. The most significant correlations with an average positive relationship were established between the presence of hemorrhagic complications and the duration of the proliferative form of diabetic retinopathy ($r = 0.67$; $p < 0.05$), blood platelets number ($r = 0.3$; $p < 0.05$), creatinine level ($r = 0.64$; $p < 0.05$).*

Conclusion. *During retinal pathology surgery, the duration of diabetic retinopathy proliferative form, uremic syndrome severity and thrombocytosis degree may be factors of undesirable hemorrhagic phenomena occurrence in patients with tCKF on programmed hemodialysis during regional anesthesia.*

Key words: *hemodialysis, undesirable hemorrhagic phenomena, retrobulbar blockade, proliferative diabetic retinopathy*

Received: 20.06.2024
Accepted: 12.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Oleshchenko I.G., Mankov A.V., Zabolotskii D.V., Kuzmin S.V. Identification of risk predictors of undesirable hemorrhagic phenomena during retinal surgery in patients with diabetes mellitus on hemodialysis. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 149-155. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.15

За последние десятилетия во всём мире отмечается рост количества больных с терминальной хронической почечной недостаточностью (тХПН), получающих гемодиализ в качестве заместительной почечной терапии (ЗПТ). Ежегодный прирост числа этих пациентов составляет около 10,5 % [1]. Е.М. Шилов и соавт. в анализе аспектов обеспечения ЗПТ в РФ связывают этот факт со старением населения, ростом заболеваемости сахарным диабетом (СД), артериальной гипертензией, атеросклерозом и прогрессом в области ЗПТ и увеличением её доступности населению [2].

На фоне лечения сахарного диабета и связанных с ним осложнений увеличилось число больных с диабетической нефропатией, находящихся на программном гемодиализе. Их доля составляет 13,8 % от общего количества больных, получающих ЗПТ [3]. Основную долю пациентов, страдающих сахарным диабетом и нуждающихся в хирургическом лечении патологии сетчатки, составляют пациенты с диабетической ретинопатией (ДР), часть из которых имеют сочетанную диабетическую нефропатию. Диабетическая ретинопатия приводит к потере зрения, в то время как диабетическая нефропатия является основным заболеванием, приводящим к развитию почечной недостаточности. Одной из самых тяжёлых форм ДР является пролиферативная форма. У больных СД частота пролиферативной формы ДР варьирует от 2 % до 15,5 % и зависит от длительности основного заболевания – СД [4].

Хроническая почечная недостаточность (ХПН) на фоне диабетической нефропатии сопровождается характерными нарушениями агрегации и адгезии тромбоцитов, приводящими к нарушению гемостаза. В то же время пролиферативная форма ДР, характеризующаяся разрастанием новообразованных сосудов, приводит к высоким рискам возникновения геморрагических осложнений во время обезболивания и хирургического лечения сетчатой оболочки глаза. Сочетание вышеперечисленных осложнений СД затрудняет проведение оперативного вмешательства, приводя к снижению визуализации деталей глазного дна, делая невозможным выполнение запланированного объёма хирургии у таких пациентов [5–7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение факторов риска возникновения нежелательных геморрагических явлений у больных сахарным диабетом, находящихся на программном гемодиализе, при хирургическом лечении патологии сетчатки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективный анализ проводился с целью выявления пациентов с сахарным диабетом, прошедших хирургическое лечение сетчатой оболочки глаза по поводу пролиферативной диабетической ретинопатии. Данные были получены из архивных историй болезней Иркутского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России за период с сентября 2021 г. по январь 2023 г. 22 карты пациентов были отобраны методом сплошной стратифицированной выборки.

Критерии включения:

- пролиферативная форма (В) диабетической ретинопатии, согласно классификации Л.А. Кацнельсона (1992);
- сахарный диабет;
- пациенты, находящиеся на программном гемодиализе;
- витрэктомия с ведением силикона или воздуха, задняя субтотальная эндолазеркоагуляция;
- интраоперационное обезболивание – ретробульбарная блокада левобупивикаином 0,5 % 4,0 мл по стандартной методике с компрессией на нижнее веко для профилактики геморрагических осложнений.

Критерии исключения:

- ХПН 1–4-й степени;
- приём препаратов с антикоагулянтным эффектом в междиализный период.

У пациентов, отвечающих критериям включения, фиксировали следующие показатели предоперационного этапа: возраст, пол, тип сахарного диабета, оценка физического состояния по критериям ASA (American Society of Anesthesiologists), длительность нахождения на ЗПТ, время после последнего и до следующего гемодиализа, длительность инсулинотерапии, время с момента постановки диагноза «Пролиферативная стадия ДР». Принимали во внимание результаты общего клинического анализа крови с определением уровня сахара. По уровню креатинина крови проводили расчёт скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле Кокрофта – Голта с целью оценки выраженности уремического синдрома. Для оценки остаточного действия нефракционированного гепарина после процедуры гемодиализа фиксировали активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) согласно стандартам Европейской фармакопеи 5.0 (European Pharmacopoeia 5.0 – 01/2005:20705).

Принимали во внимание интраоперационные показатели – артериальное систолическое (АДс) и диастолическое (АДд) давление, частоту сердечных сокращений. Фиксировали предшествующую и назначенную интраоперационно антигипертензивную терапию. Регистрировали факты нежелательных геморрагических явлений во время выполнения ретробульбарной анестезии (положительная аспирационная проба, кровоизлияние в мягкие ткани нижнего века, ретробульбарная гематома).

Важно было зафиксировать нежелательные геморрагические явления в ходе выполнения хирургического лечения сетчатки: активное кровотечение из фиброваскулярной мембраны, кровотечение из сосудов сетчатки.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Характер распределения полученных данных проверялся по критерию Шапиро – Уилка. Данные были представлены в виде среднего (M), стандартного отклонения (SD,

standard deviation). При анализе взаимосвязей использовали ранговую корреляцию Спирмена. Критический уровень значимости (*p*) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе анализа была отобрана медицинская документация 22 пациентов. Характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Больные с СД I типа составили 40,9 % от общего числа пациентов, СД II типа – 59,1 %. Все больные, за исключением одного, относились к IV классу по классификации оценки физического состояния ASA, что свидетельствовало о высоком риске и наличии коморбидной патологии. В среднем 16,0 ± 6,0 лет прошло у пациентов с момента постановки диагноза СД, при этом у пациентов с СД I и II типов – 21,5 ± 4,5 и 11,5 ± 6,5 года соответственно. Длительность получаемой инсулинотерапии при среднем значении 14,0 ± 8,0 лет составила у пациентов с СД I типа 21,5 ± 4,5 года, с СД II типа – 6,5 ± 2,1 года. Полученная разность в длительности заболевания и инсулинотерапии пациентов с СД I и II типов обусловлена разным патогенезом развития заболевания. Следует отметить, что в этой выборке оказались пациенты с СД II типа с ранней инициацией инсулинотерапии, что свидетельствует о тяжелой форме течения заболевания.

Анализ показателей общего анализа крови у всех включённых в исследование пациентов продемонстрировал отсутствие статистически значимых отклонений, кроме количества тромбоцитов (320 ± 47,5 × 10^9), которые в некоторых случаях превышали верхнюю границу референсных значений на 12,5 %. Анализ биохимических показателей сыворотки крови показал, что повышенный уровень креатинина (589,5 ± 146,3 мкмоль/л) наблюдался у всех пациентов, превышая норму в 5–7 раз (44–115 мкмоль/л), что характерно для тХПН. Вычисленная средняя СКФ составила 7,8 ± 0,9 мл/мин/1,73 $м^2$. Результаты АЧТВ до операции находились в рамках референсных значений (38,0 ± 4,5 с).

Хирургическое лечение, заключавшееся в проведении эндовитреального вмешательства, мембранопилинга, завершившегося силиконовой тампонадой, проводилось спустя 26,7 ± 7,1 ч после процедуры гемодиализа.

Уровень сахара в крови у пациентов в среднем составил 8,0 ± 0,6, 6,5 ± 0,5 и 8,4 ± 0,9 ммоль/л в пред-, интра- и послеоперационном периодах соответственно.

Динамика изменения артериального давления в периоперационном периоде показала склонность к артериальной гипертензии у пациентов с СД на программном гемодиализе. (рис. 1). Без антигипертензивной терапии были 9,1 % пациентов с СД II типа, находящиеся на ЗПТ в течение полугода. На монотерапии агонистами I1-имидазолиновых рецепторов находились 36,3 % пациентов; 54,6 % пациентов получали комбинированную антигипертензивную терапию агонистами I1-имидазолиновых рецепторов с α- и β-адреноблокатором.

В день операции 18,2 % пациентам, включённым в исследование, понадобилось предоперационное назначение дополнительной дозы основного гипотензивного препарата. Итраоперационная коррекция гемодинамики гипотензивными препаратами потребовалась 9,1 % пациентов.

Во время выполнения ретробульбарной блокады не было отмечено случаев положительной аспирационной пробы и ретробульбарной гематомы. У двоих пациентов с тяжёлой стадией пролиферативной ретинопатии (наличие гемофтальма перед операцией) после выполнения ретробульбарной анестезии наблюдалось кровоизлияние в мягкие ткани нижнего века, что может

ТАБЛИЦА 1
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ

TABLE 1
GENERAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Характеристики	Значения
Общее количество, *n*	22
Тип сахарного диабета: СД I/СД II, *n*	9/13
М/Ж, *n*	10/12
Возраст (годы), M ± SD	44 ± 9
ASA: III/IV, *n*	1/21
Среднее количество часов после гемодиализа (ч), M ± SD	26,7 ± 7,1
Среднее количество часов до гемодиализа (ч), M ± SD	26 ± 5
Длительность СД I/СД II (годы), M ± SD	21,5 ± 4,5 / 11,5 ± 6,5
Длительность инсулинотерапии (годы), M ± SD	14,0 ± 8,0
Длительность на гемодиализе (мес.), M ± SD	14,9 ± 4,8
Длительность пролиферативной ретинопатии (годы), M ± SD	9,5 ± 3,6

быть обусловлено наличием диабетической микроангиопатии. Кровоизлияние было купировано путём кратковременной компрессии и дозированного снижения температуры с помощью хладоагента. Данное осложнение не привело к отмене операции.

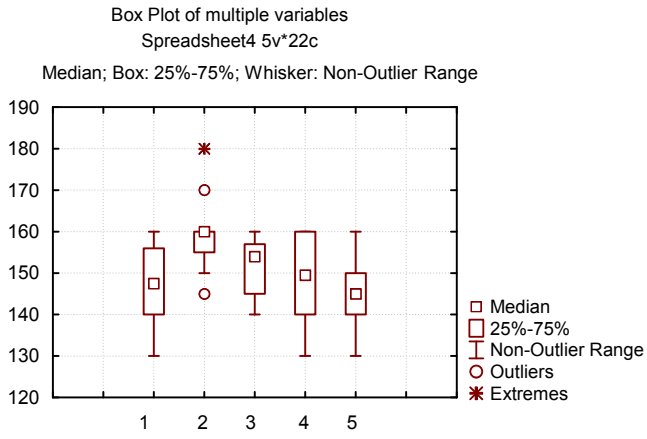


РИС. 1.

Диаграмма изменения систолического давления в периоперационном периоде при хирургическом лечении пролиферативной диабетической ретинопатии: 1 – перед операцией; 2 – начало операции; 3 – в травматичный момент операции; 4 – по окончании операции

FIG. 1.

Diagram of changes in systolic pressure in the perioperative period during surgical treatment of proliferative diabetic retinopathy: 1 – before surgery; 2 – the beginning of surgery; 3 – at the traumatic moment of surgery; 4 – at the end of surgery

Во время хирургического лечения патологии сетчатки у 27,2 % пациентов хирурги отметили нежелательные геморрагические явления в виде активного кровотечения из фиброваскулярной мембраны, а также кровотечение из сосудов сетчатки, что было устранено применением эндолазеркоагуляции и кратковременной компрессии сосудов мембран витреотомом.

С целью оценки взаимосвязей между исследуемыми признаками и наличием геморрагических осложнений был проведён корреляционный анализ по Спирмену. Наиболее статистически значимые корреляции со средней положительной связью были установлены между наличием геморрагических осложнений и длительностью пролиферативной формы диабетической ретинопатии ($r = 0,67$; $p < 0,05$), количеством тромбоцитов крови ($r = 0,3$; $p < 0,05$), уровнем креатинина ($r = 0,64$; $p < 0,05$).

С помощью ROC-анализа устанавливали хорошую диагностическую значимость длительности течения пролиферативной формы диабетической ретинопатии к нежелательным геморрагическим явлениям, Площадь под кривой (AUC, area under curve) соответствует 0,82 ± 0,09 с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ) [0,603; 0,951] (p = 0,03) с чувствительностью и специфичностью 87,5 % и 83,3 % соответственно (рис. 2).

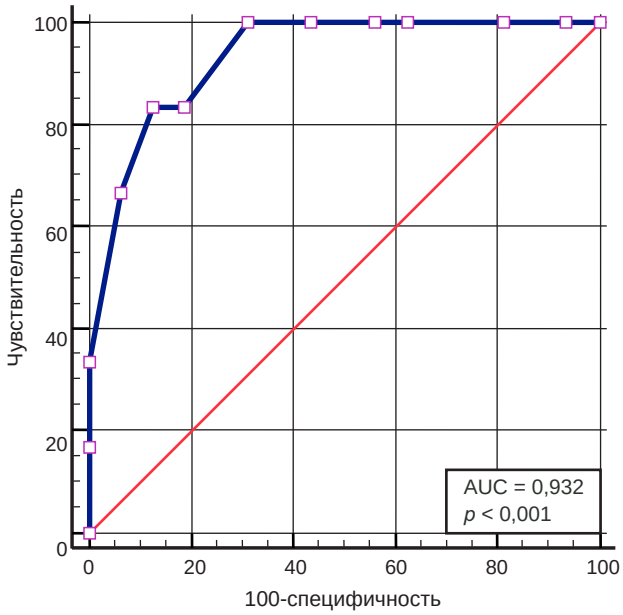


РИС. 2.

ROC-кривая, характеризующая зависимость геморрагических нежелательных явлений с длительностью течения пролиферативной формы диабетической ретинопатии

FIG. 2.

ROC curve characterizing the dependence of hemorrhagic adverse events on the duration of the proliferative form of diabetic retinopathy

Не было выявлено статистически значимой связи между геморрагическими нежелательными явлениями и АЧТВ, типом СД, длительностью нахождения на гемодиализе и срокам проведения гемодиализа, предшествующего операции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что при проведении различных хирургических вмешательств у пациентов с тХПН с СКФ < 15 мл/мин/1,73м^2, находящихся на длительном программном гемодиализе, возникают значительные сложности с гемостазом [8]. В настоящее время существует немало возможностей для обеспечения баланса между адекватной антикоагуляцией и риском геморрагических осложнений при ЗПТ. Хирургическое лечение сосудистой патологии сетчатки и проведение регионарного обезболивания имеют определённые сложности ввиду индивидуальных особенностей каждого пациента и времени, прошедшего после гемодиализа [9, 10]. В связи с этим скрининговый тест определения АЧТВ с целью мониторинга действия гепарина помогает при выборе тактики ведения больного [11].

Результаты нашего исследования продемонстрировали, что, несмотря на увеличение времени полувыведения гепарина на фоне повышения креатинина и значений СКФ 7,8 ± 0,9 мл/мин/1,73м^2 на момент выполнения хирургического лечения, АЧТВ было в пределах нормы и не влияло на возникновение геморрагических нежелательных явлений.

Также нарушение взаимодействий «тромбоциты – тромбоциты» и «тромбоциты – сосудистая стенка», обусловленное уремическим синдромом, оказывает влияние на наличие геморрагических явлений у этих пациентов. A. Scridon (2022) в своём исследовании доказал, что у пациентов с тХПН, несмотря на нормальное количество тромбоцитов, изменяются морфология и функция тромбоцитов за счёт снижения экспрессии GP IIb–IIIa рецепторов [12]. Взаимодействие этих рецепторов с мочевиной и креатинином, концентрация которых в плазме велика, снижает возможность их связи с фибриногеном и, как следствие, приводит к уменьшению адгезии и агрегации тромбоцитов, способствующих возникновению кровотечения, что объясняет наличие умеренной положительной связи между уровнем креатинина и геморрагическими осложнениями, представленными в данном исследовании [13].

Нарушенная функция тромбоцитов приводит к компенсаторному тромбоцитозу в первый год заместительной почечной терапии, что подтверждается результатами представленного исследования, где у двоих пациентов с гематомой века после ретробульбарной блокады количество тромбоцитов крови было повышено до 479×10^9 и 419×10^9 соответственно [14].

Согласно имеющимся на сегодняшний день исследованиям, многофакторность коагулопатии и артериальная гипертензия являются провоцирующими факторами нарушения гемостаза [15, 16].

Данное исследование установило, что повышенный риск возникновения нежелательных геморрагических явлений во время хирургического лечения пролиферативной диабетической ретинопатии в большей степени обусловлен длительностью пролиферативной формы диабетической ретинопатии, уровнем креатинина и увеличением количества тромбоцитов в крови. Полученные данные позволяют предположить, что выявленные критерии являются одним из факторов риска возникновения нежелательных геморрагических явлений у пациентов, находящихся на ЗПТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При хирургическом лечении патологии сетчатки длительность течения пролиферативной формы диабетической ретинопатии, выраженность уремического синдрома и степени тромбоцитоза можно рассматривать в качестве факторов возникновения нежелательных геморрагических явлений у больных с тХПН, находящихся на программном гемодиализе во время выполнения регионарного обезболивания.

Ограничения

В этом исследовании мы не смогли остановиться на всех аспектах, приводящих к нежелательным геморрагическим явлениям при хирургическом лечении пролиферативной диабетической ретинопатии пациентов данной категории.

Результаты исследования продемонстрировали отсутствие остаточного действия гепарина после гемодиализа на момент выполнения хирургического вмешательства, подтверждая, что он не является фактором риска возникновения нежелательных геморрагических явлений.

Однако необходимо более полное изучение предоперационной коагулограммы у гемодиализных пациентов, а также для понимания функциональных изменений тромбоцитов необходимо определение их агрегационной активности.

Также ограничением является то, что в исследовании не было больных с длительным сроком программного гемодиализа, у которых, как известно, присутствует тромбицитопения. Причины отсутствия данных больных не установлены.

В последующем исследовании необходимо включить в исследование пациентов, которым в качестве первого этапа хирургического лечения пролиферативной диабетической ретинопатии проводили интравитреальное введение ранибизумаба с целью снижения риска развития послеоперационных геморрагических осложнений.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ражабова Г.Б., Хамидова З.Н. Артериальная гипертензия и поражение почек у женщин фертильного возраста (обзорная статья). *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2016; (2): 139-146. [Razhabova GB, Khamidova ZN. Arterial hypertension and damage of kidney at women of fertile age. *Science of the* Young *(Eruditio Juvenium)*. 2016; (2): 139-146. (In Russ.)].

2. Шилов Е.М., Котенко О.Н., Шилова М.М., Мильчаков К.С., Габаев М.А., Хальфин Р.А. Состояние нефрологической службы: заместительная почечная терапия в Российской Федерации в период с 2015 по 2019 г. *Клиническая нефрология.* 2020; (1): 6-14. [Shilov EM, Kotenko ON, Shilova MM, Milchakov KS, Gabaev MA, Khalfin RA. State of the nephrological service: Renal replacement therapy in the Russian Federation from 2015 to 2019. *Clinical Nephrology.* 2020; (1): 6-14. (In Russ.)]. doi: 10.18565/nephrology.2020.1.6-14

3. Шамхалова М.Ш., Викулова О.К., Железнякова А.В., Исаков М.А., Шестакова М.В., Дедов И.И. Эпидемиология хронической болезни почек в Российской Федерации по данным Федерального регистра взрослых пациентов с сахарным диабетом (2013–2016 гг.). *Сахарный диабет.* 2018; 21(3): 160-169. [Shamkhalova MS, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Shestakova MV, Dedov II. Trends in the epidemiology of chronic kidney disease in Russian Federation according to the Federal Diabetes Register (2013–2016). *Diabetes Mellitus.* 2018; 21(3): 160-169. (In Russ.)]. doi: 10.14341/DM9392

4. Евлоева М.И., Арутюнова М.С., Северина А.С., Трубицына Н.П., Зайцева Н.В., Шамхалова М.Ш., и др. Хроническая болезнь почек у пациентов с длительным течением сахарного диабета 1 типа. *Сахарный диабет*. 2023; 26(6): 504-514. [Yevloyeva MI, Arutyunova MS, Severina AS, Trubitsyna NP, Zaitseva NV, Shamhalova MS, et al. Chronic kidney disease in patients with long-term type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Mellitus.* 2023; 26(6): 504-514. (In Russ.)]. doi: 10.14341/DM13108

5. Осиков М.В., Григорьев Т.А. Влияние эритропоэтина на активность систем плазменного протеолиза при экспериментальной почечной недостаточности. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2012; 153(1): 27-30. [Osikov MV, Grigoriev TA. The effect of erythropoietin on the activity of plasma proteolysis systems in experimental renal failure. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012; 153(1): 27-30. (In Russ.)].

6. Shi L, Huang YF. Postvitrectomy diabetic vitreous hemorrhage in proliferative diabetic retinopathy. *J Res Med Sci*. 2012; 17(9): 865-871.

7. Коновалова К.И., Шишкин М.М. Этапное хирургическое лечение далеко зашедшей пролиферативной диабетической ретинопатии и осложненной начальной катаракты как вариант щадящей хирургии: обоснование, отдаленные результаты. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2022; 17(Прил. 4): 19-21. [Konovalova KI, Shishkin MM. Staged surgical treatment of advanced proliferative diabetic retinopathy and complicated primary cataract as a variant of sparing surgery: Justification and remote results. *Bulletin of Pirogov National Medical and Surgical Center*. 2022; 17(Suppl 4): 19-21. (In Russ.)]. doi: 10.25881/20728255_2022_17_4_S1_19

8. Magliano DJ, Boyko EJ. *IDF diabetes atlas; 10th edition*. Brussels: International Diabetes Federation, 2021.

9. Столяров М.В., Уткин С.И., Игнатенко Д.Ю., Бачинин Е.А., Халфин Р.Н. Витреоретинальная хирургия при сопутствующей терминальной стадии хронической болезни почек. Клинический случай. *Современные технологии в офтальмо-логии*. 2019; (2): 178-181. [Stolyarov MV, Utkin SI, Ignatenko DYu, Bachinin EA, Khalfin RN. Vitreoretinal surgery for concomitant end-stage chronic kidney disease. Clinical case. *Modern Technologies in Ophthalmology*. 2019; (2): 178-181. (In Russ.)]. doi: 10.25276/2312-4911-2019-2-178-181

10. Строков А.Г., Поз Я.Л. Антикоагуляция при заместительной почечной терапии: классические подходы и новые возможности. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2010; 12(4): 80-85. [Strokov AG, Poz YaL. Clotting prevention in renal replacement therapy: Classical approaches and new opportunities. *Russian Journal of Transplantology and* Artificial *Organs*. 2010; 12(4): 80-85. (In Russ.)]. doi: 10.15825/1995-1191-2010-4-80-85

11. De Troyer M, Wissing KM, De Clerck D, Cambier ML, Robberechts T, Tonnelier A, et al. Risk for excessive anticoagulation during hemodialysis is associated with type of vascular access and bedside coagulation testing: Results of a cross-sectional study. *Front Med (Lausanne)*. 2022; 9: 1009748. doi: 10.3389/fmed.2022.1009748

12. Scridon A. Platelets and their role in hemostasis and thrombosis – from physiology to pathophysiology and therapeutic implications. *Int J Mol Sci*. 2022; 23: 12772. doi: 10.3390/ijms232112772

13. Sreedhara R, Itagaki I, Hakim RM. Uremic patients have decreased shear-induced platelet aggregation mediated by decreased availability of glycoprotein IIb–IIIa receptors. *Am J Kidney Dis*. 1996; 27(3): 355-364. doi: 10.1016/s0272-6386(96)90358-3

14. Molnar MZ, Streja E, Kovesdy CP, Budoff MJ, Nissenson AR, Krishnan M, et al. High platelet count as a link between renal cachexia and cardiovascular mortality in end-stage renal disease patients. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(3): 945-954. doi: 10.3945/ajcn.111.014639

15. Шкворченко Д.О., Каштан О.В., Средняков В.А., Афанасьев В.В., Осокин И.Г. Результаты хирургического лечения осложненных форм пролиферативной диабетической ретинопатии в условиях управляемой артериальной гипотонии. *Офтальмохирургия*. 2011; (1): 49-52. [Shkvorchenko DO, Kashtan OV, Srednyakov VA, Afanasyev VV, Osokin IG. Results of surgical treatment of complicated forms in proliferative diabetic retinopathy under conditions of controlled arterial hypotension. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2011; (1): 49-52. (In Russ.)].

16. Гойдин А.П. Ретроспективный анализ результатов витреоретинальных операций у пациентов с диабетической ретинопатией. *Российский офтальмологический журнал.* 2022; 15(1): 13-18. [Goydin AP. Retrospective analysis of vitreoretinal surgery outcomes in diabetic retinopathy. *Russian Ophthalmological Journal.* 2022; 15(1): 13-18. (In Russ.)]. doi: 10.21516/2072-0076-2022-15-1-13-18

Сведения об авторах

Олещенко Ирина Геннадьевна – кандидат медицинских наук, врач анестезиолог-реаниматолог, заведующая отделением анестезиологии, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; ассистент кафедры анестезиологии-реаниматологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: iga.oleshenko@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-1642-5276

Маньков Александр Викторович – кандидат медицинских наук, доцент, врач анестезиолог-реаниматолог, заведующий кафедрой анестезиологии-реаниматологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: man-aleksandrv@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8701-6432

Заболотский Дмитрий Владиславович – доктор медицинских наук, профессор, врач анестезиолог-реаниматолог, заведующий кафедрой анестезиологии-реаниматологии и неотложной педиатрии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской травматологии и ортопедии имени Г.И. Турнера» Минздрава России, e-mail: zdv4330303@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-6127-0798

Кузьмин Сергей Владимирович – врач-офтальмолог, заведующий операционным блоком, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: skz9093@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1590-7743

Information about the authors

Irina G. Oleshchenko – Cand. Sc. (Med.), Anesthesiologist, Head of the Department of Anesthesiology, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Teaching Assistant at the Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Irkutsk State Medical University, e-mail: iga.oleshenko@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-1642-5276

Aleksandr V. Mankov – Cand. Sc. (Med.), Docent, Anesthesiologist, Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Irkutsk State Medical University, e-mail: man-aleksandrv@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8701-6432

Dmitry V. Zabolotskii – Dr. Sc. (Med.), Professor, Anesthesiologist, Head of the Department of Anesthesiology, Intensive Care Medicine and Pediatric Emergency Treatment, Saint Petersburg State Pediatric Medical University; Senior Research Officer, H. Turner National Medical Research Center for Children's Orthopedics and Trauma Surgery, e-mail: zdv4330303@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-6127-0798

Sergey V. Kuzmin – Ophthalmologist, Head of the Surgical Unit, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: skz9093@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1590-7743

ОЦЕНКА ПРОВОДЯЩИХ ПУТЕЙ ЗРИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА С ПОМОЩЬЮ ДИФФУЗНО-ТЕНЗОРНОЙ МРТ И ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ У ПАЦИЕНТОВ С РАССЕЯННЫМ СКЛЕРОЗОМ

Швец Л.В. [1, 2],
Юрьева Т.Н. [1, 2, 3]

[1] Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337, Россия)
[2] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)
[3] 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:
Швец Лидия Витальевна,
e-mail: lidiy.isa@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Ранняя диагностика офтальмологических проявлений рассеянного склероза (РС) представляет значительные трудности.

Цель исследования. *Оценить степень нарушения проводящих путей зрительного анализатора у пациентов с рассеянным склерозом с учётом данных структурной оптической когерентной томографии (ОКТ) и магнитно-резонансных (МР) исследований.*

Материал и методы. *Проанализированы четыре группы пациентов: три группы пациентов с РС с различными изменениями зрительных функций и группа соматически здоровых пациентов. Структурные изменения зрительного нерва оценивались по данным ОКТ и магнитно-резонансных исследований.*

Результаты. *Установлено снижение толщины слоя нервных волокон во 2-й и 3-й группах в нижнем темпоральном секторе – до 29–44 мкм, в верхнем темпоральном секторе – до 30–33 мкм, в нижних назальных секторах – до 11–18 мкм. Данные 1-й и 4-й групп были сопоставимы (p = 0,22).*

По МР-трактографии во 2-й и 3-й группах определялись МРТ-картина разрежения и признаки прерывания проводящих путей соответственно. По данным МР-спектроскопии на уровне зрительной коры определено: снижение NAA/Cho во 2-й и 3-й группах на 13–23 %, данные 1-й и 4-й групп были сопоставимы; уменьшение NAA/Cr на 17 % в 1-й группе и на 23 % во 2-й и 3-й группах; уменьшение Cho/Cr на 21 % в 1-й группе, на 13,4 % во 2-й группе и на 8 % в 3-й группе.

На уровне зрительной лучистости наблюдалось: снижение NAA/Cho на 31,5 % в 1-й группе, на 39,5 % во 2-й группе и на 50 % в 3-й группе; снижение NAA/Cr на 21 % в 1-й группе и на 32–35 % во 2-й и 3-й группах; превышение Cho/Cr в среднем на 22 % во всех группах.

Заключение. *Полученные данные свидетельствуют о дегенеративных изменениях проводящих путей зрительного анализатора у пациентов с РС не только с частичной атрофией зрительного нерва, но и с отсутствием жалоб и клинически выраженных нарушений зрительных функций.*

Ключевые слова: *рассеянный склероз, ретробульбарный неврит, оптическая когерентная томография, МР-спектроскопия, МР-трактография*

Статья поступила: 30.05.2024
Статья принята: 19.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Швец Л.В., Юрьева Т.Н. Оценка проводящих путей зрительного анализатора с помощью диффузно-тензорной МРТ и оптической когерентной томографии у пациентов с рассеянным склерозом. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 156-165. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.16

ASSESSMENT OF THE PATHWAYS OF THE VISUAL ANALYZER USING DIFFUSE TENSOR MRI AND OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

Shvets L.V. [1, 2],
Iureva T.N. [1, 2, 3]

[1] Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Lermontova str. 337, Irkutsk 664033, Russian Federation)
[2] Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[3] Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author:
Lidia V. Shvets,
e-mail: lidiy.isa@gmail.com

ABSTRACT

Early diagnosis of ophthalmic manifestations of multiple sclerosis (MS) is quite complicated.

The aim. *To assess the degree of impairment of the pathways of the visual analyzer in patients with MS, taking into account the data of structural optical coherence tomography and magnetic resonance imaging.*

Material and methods. *Four groups of patients were analyzed: three groups of MS patients with various changes in visual functions and a group of somatically healthy patients. Structural changes of the optic nerve were assessed according to OCT and magnetic resonance studies.*

Results. *A decrease in the thickness of the nerve fiber layer was found in groups 2 and 3 in the lower temporal sector – to 29–44 μm, in the upper temporal sector – to 30–33 μm, in the lower nasal sectors – to 11–18 μm. The data of groups 1 and 4 were comparable (p = 0.22).*

MR tractography in groups 2 and 3 determined the MRI picture of rarefaction and signs of interruption of the pathways, respectively. MR spectroscopy at the level of the visual cortex revealed: a decrease in NAA/Cho in groups 2 and 3 by 13–23 % (the data of groups 1 and 4 were comparable); a decrease in NAA/Cr by 17 % in group 1, and by 23 % in groups 2 and 3, a decrease in Cho/Cr by 21 % in group 1, by 13.4 % – in group 2 and by 8 % – in group 3.

At the level of visual radiance, a decrease was observed: NAA/Cho by 31.5 % – in group 1, by 39.5 % – in group 2 and by 50 % – in group 3; NAA/Cr by 21 % – in group 1, by 32–35 % – in groups 2 and 3, and an excess of Cho/Cr by an average of 22 % in all groups.

Conclusion. *The data obtained indicate degenerative changes in the pathways of the visual analyzer not only in MS patients with partial optic nerve atrophy, but also in patients with no complaints and clinically pronounced visual impairment.*

Key words: *multiple sclerosis, retrobulbar neuritis, optical coherence tomography, MR spectroscopy, MR tractography*

Received: 30.05.2024
Accepted: 19.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Shvets L.V., Iureva T.N. Assessment of the pathways of the visual analyzer using diffuse tensor MRI and optical coherence tomography in patients with multiple sclerosis. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 156-165. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.16

ВВЕДЕНИЕ

Рассеянный склероз (РС) – это хроническое, демиелинизирующее заболевание, в основе которого лежит комплекс аутоиммунно-воспалительных и нейродегенеративных процессов, приводящих к множественному очаговому и диффузному поражению центральной нервной системы, значительному снижению качества жизни и инвалидизации больных [1, 2].

Частота встречаемости РС у больных в разных странах варьирует от 5 до 70 случаев на 100 тыс. населения. Отчётливо прослеживается высокий уровень заболеваемости в северных и западных регионах. Страны Северной, Западной и Центральной Европы, а также Северную Америку относят к зонам высокого риска – 30–50–70 случаев и более на 100 тыс. населения, к югу и востоку она снижается до 0,1–2,0 случаев на 100 тыс. населения [2].

Установлено, что среди близких родственников это заболевание наблюдается в 15–20 раз чаще, чем в общей популяции. РС преимущественно развивается у лиц молодого и трудоспособного возраста, в 1,5–2 раза чаще у женщин, чем у мужчин, а также приводит к ранней инвалидизации.

До конца не изучены причины и механизмы развития повреждения нервных клеток при РС. На сегодняшний день можно считать доказанным, что РС является заболеванием полигенной природы, характеризующимся генетической гетерогенностью. Генетические факторы определяют разнообразие клинических форм, влияют не только на риск развития заболевания, но и на особенности его течения [3–5].

Симптомы зрительных нарушений у пациентов с РС наблюдаются в 36–52 % случаев. При длительности заболевания более 5 лет практически у всех больных имеются различные нарушения зрительной системы. В 80 % случаев причиной снижения зрения является ретробульбарный или оптический неврит, который характеризуется большим разнообразием изменений зрительных функций, что объясняется различным уровнем поражения зрительного анализатора. При этом неврит может быть первым и единственным проявлением РС [6, 7].

Зрительные нарушения при РС вызваны повреждением проводящих путей зрительного анализатора на разных уровнях. Проводится множество работ в попытке найти наиболее характерные изменения при РС на уровне зрительного нерва и сетчатки по данным оптической когерентной томографии (ОКТ) [8–11]. Широко используются методы визуализации проводящих путей с помощью магнитно-резонансной (МР) трактографии и МР-спектроскопии [12, 13], но все они дают разрозненную информацию о течении патологического процесса.

До сих пор отсутствуют чёткие диагностические критерии, позволяющие на ранних стадиях заболевания дифференцировать воспалительный или нейродегенеративный характер оптического неврита. Данные о закономерностях и механизмах структурных и метаболических нарушений зрительного тракта у больных с РС носят несистематизированный характер. Это, возможно, и определяет низкую эффективность лечебных мероприятий, а также частые рецидивы заболевания, что в свою очередь приводит к значительному снижению зрительных функций.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить степень нарушения проводящих путей зрительного анализатора у пациентов с РС с учётом данных структурной оптической когерентной томографии и магнитно-резонансных исследований.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 27 пациентов, из них 9 (31,33 %) мужчин и 18 (66,66 %) женщин, с подтверждённым диагнозом РС. Диагноз РС был установлен в соответствии с критериями W.I. McDonald пересмотра 2017 г. [3, 5, 9, 14–16].

Все пациенты наблюдались на базе кабинета демиелинизирующих заболеваний (рассеянного склероза) ОГБУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 3». Исследование проводилось на базе клиники глазных болезней ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России и Иркутского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России.

Неврологический статус оценивался по шкале EDSS (Expanded Disability Status Scale). Выраженность инвалидизации определялась по пятибалльной шкале оценки степени инвалидизации EDSS J. Kurtzke [11, 17].

Офтальмологические методы диагностики включали в себя визометрию, периметрию, тонометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию и дополнительные методы исследования – ОКТ зрительного нерва и макулярной области сетчатки. Оптическая когерентная томография проводилась на аппарате RTVue RT-100 OCT (Optovue, США).

При оценке ОКТ макулярной области использовались ретинальные карты трёхмерного изображения участка сетчатки размером 4 × 4 мм с помощью 141 горизонтального скана. Зона измерения ограничивалась внутренней пограничной мембраной с одной стороны и пигментным эпителием – с другой. Ретинальная топографическая карта состояла из трёх концентрических кругов диаметром 1, 3 и 6 мм с радиальными линиями и обозначением средней толщины сетчатки.

Протокол оценки параметров структурной ОКТ диска зрительного нерва (ДЗН) и перипапиллярного слоя нервных волокон включал в себя измерение толщины слоя нервных волокон по окружности диаметром 3,45 мм, центрированной в области ДЗН. Границы ДЗН определялись по комплексу «пигментный эпителий/мембрана Бруха», границы экскавации – в местах её пересечения с плоскостью, параллельной плоскости указанного отверстия и расположенной на 150 мкм кнутри от неё. Количественно оценивались следующие показатели: толщина слоя нервных волокон ДЗН; площадь и объём нейроретинального пояска; объём экскавации; соотношение площадей экскавации и ДЗН и их диаметров по вертикали и горизонтали; минимальная ве-

личина соотношения нейроретинального пояска и ДЗН; зона отсутствия нейроретинального пояска.

Магнитно-резонансная томография (МРТ) проводилась на сверхвысокопольном цифровом магнитно-резонансном томографе INGENIA 3,0 Тесла (Philips, Нидерланды), контраст во время исследования не применялся, толщина среза составила 1–3 мм. Визуализация проводящих путей зрительного анализатора проводилась с помощью диффузно-тензорной трактографии с 3D-реконструкциией. Для определения метаболических нарушений пациентам была проведена моновоксельная МР-спектроскопия. Воксел размером 20 × 20 × 20 мм позиционировали в 4 зонах интереса: на уровне зрительной коры и зрительной лучистости мозга справа и слева.

По результатам оценки зрительных функций все пациенты были разделены на три группы следующим образом.

Группа 1 – пациенты с отсутствием в анамнезе эпизодов внезапного снижения зрения (5 человек); средний возраст 26 ± 6,12 года; критерии включения: максимально корригированная острота зрения (МКОЗ) 0,9–1,0; EDSS < 1,0; в исследование были включены данные обследования правого глаза пациентов.

Группа 2 – пациенты с постепенным безболезненным снижением зрения, без эпизодов выраженной потери зрения, с частичной атрофией зрительного нерва (ЧАЗН) (12 человек); средний возраст 36,63 ± 6,94 года; МКОЗ < 0,8; EDSS < 3,0; в исследование были включены данные обследования правого глаза пациентов.

Группа 3 – пациенты с внезапным ухудшением зрительных функций на фоне подтверждённого диагноза ретробульбарного неврита (10 человек); средний возраст 34,82 ± 5,76 года; МКОЗ < 0,7; EDSS > 2,5; в исследование были включены данные глаза с наиболее низкими зрительными функциями, у 3 человек был односторонний ретробульбарный неврит.

Кроме того, была сформирована группа контроля (группа 4), в которую были включены 15 соматически здоровых пациентов соответствующего возраста (средний возраст 27,0 ± 8,22 года) и пола без изменений зрительной системы; МКОЗ = 1,0 (табл. 1).

В исследование не включались пациенты с другими заболеваниями сетчатки и ДЗН, такими как глаукома, оптическая невропатия другой этиологии, возрастная макулярная дегенерация.

Статистическая выборка оценивалась по значениям среднего арифметического и его квадратичной ошибке (M ± S). В связи с малой выборкой для оценки статистической значимости использовался критерий Манна – Уитни. Степень статистической значимости различий подтверждалась при пороговых значениях $p < 0,05$. Расчёты проводились с помощью программного пакета для статистического анализа Statistica (StatSoft Inc., США). Сравнения групп рассматривали как попарные.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пациенты групп сравнения были сопоставимы по гендерному распределению. Были установлены статистически значимые отличия в длительности заболевания среди пациентов групп 2 и 3 ($p = 0,02$). Максимальная длительность заболевания выявлена у пациентов группы 1, которая достигала 15 лет. Минимальная длительность заболевания была отмечена у пациентов с ретробульбарным невритом в анамнезе (группа 3) – 1 год, в этих случаях РС манифестировал с нарушениями зрения. При оценке степени выраженности симптомов РС по шкале EDSS отмечено, что самая высокая степень тяжести основного заболевания была установлена у пациентов с перенесённым невритом и составила 6,5 балла ($p < 0,01$), минимальные значения выявлены у пациентов группы 1 (табл. 1).

Максимальное снижение зрительных функций наблюдалось у пациентов с перенесенным ретробульбар-

ТАБЛИЦА 1
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

TABLE 1
CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE PATIENTS

Параметры	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4 (контроль)	*p*
Возраст, лет	24 (22–29)	36,55 (30,0–40,0)	33,0 (31,0–38,0)	21 (20–34)	$p > 0,01$
Мужчины/женщины	1/4	5/7	3/7	2/13	$p_{1-2} = 0,18$ $p_{1-3} = 0,3$ $p_{2-3} = 0,37$
Длительность заболевания, годы	7,0 (2,0–10,0)	9,5 (3,0–10,0)	5,0 (3,0–6,0)	–	$p_{1-2} = 0,74$ $p_{1-3} = 0,14$ $p_{2-3} = 0,02$
EDSS, баллы	1,0 (1–1,5)	2,75 (1,0–3,5)	2,0 (1,5–3,0)	–	$p_{1-2} = 0,01$ $p_{1-3} = 0,01$ $p_{2-3} = 0,45$
МКОЗ	0,95 (0,8–1,0)	0,85 (0,6–1,0)	0,9 (0,7–1,0)	0,95 (0,9–1,0)	$p_{1-2} = 0,06$ $p_{1-3} = 0,01$ $p_{2-3} = 0,92$

Примечание. Данные представлены в виде медианы и квартилей.

ным невритом (МКОЗ варьировала от 0,02 до 1,0, в среднем 0,56 ± 0,32). В то же время установлено статистически значимое снижение зрительных функций и у пациентов группы2 с отсутствием в анамнезе эпизодов ретробульбарного неврита (МКОЗ в среднем составила 0,7 ± 0,26).

По данным структурной ОКТ ДЗН выявлена разница толщины перипапиллярного слоя нервных волокон у пациентов с ЧАЗН групп 2 и 3 с наибольшим снижением толщины слоя нервных волокон в нижнем темпоральном секторе на 29–44 мкм, в верхнем темпоральном – на 30–33 мкм, в нижних назальных – на 11–18 мкм по сравнению с данными пациентов с отсутствием изменений зрительной системы и группой контроля. Наиболее значимые изменения ДЗН наблюдалось у пациентов с перенесённым ретробульбарным невритом (рис. 1).

Архитектоника сетчатки у пациентов всех групп была сохранена. Максимальное снижение толщины сетчатки до 43 мкм во всех сегментах пара- и перифовеа по сравнению с референсными значениями наблюдалось у пациентов с перенесённым ретробульбарным невритом (рис. 2). Статистически значимая разница с группой контроля и данными группы 1 была и у пациентов группы 2 только в области перифовеа. Данные группы 1 и группы контроля были сопоставимы (рис. 2).

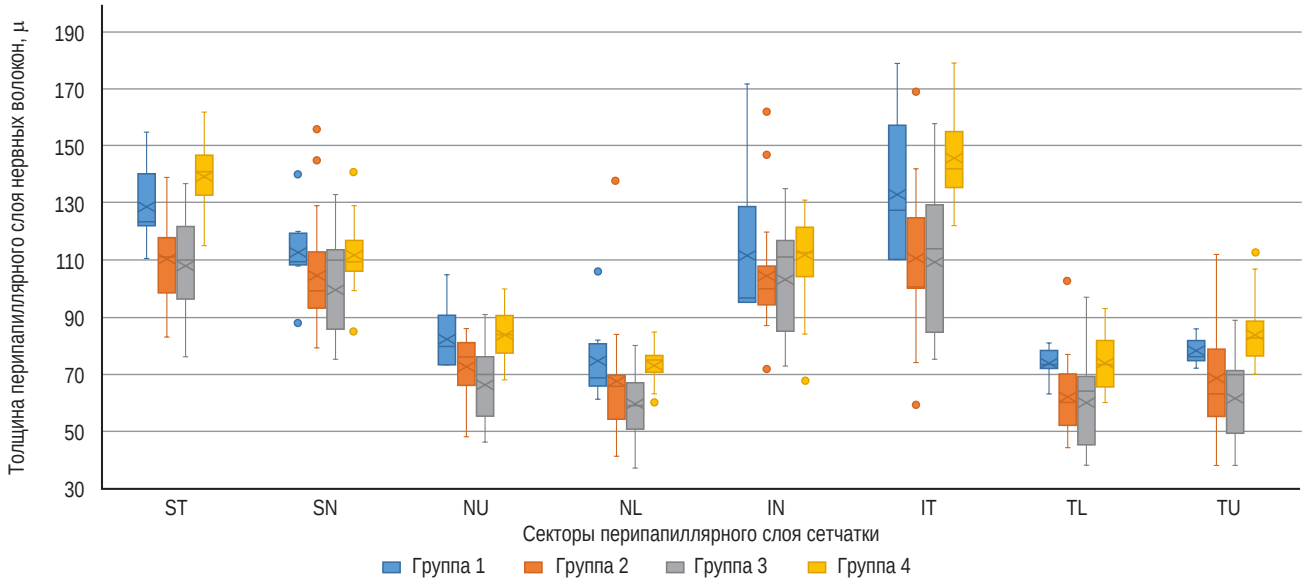


РИС. 1.

Сравнительный анализ толщины слоя нервных волокон зрительного нерва между группами по восьми секторам

FIG. 1.

Comparative analysis of the thickness of the optic nerve fiber layer between groups by 8 sectors

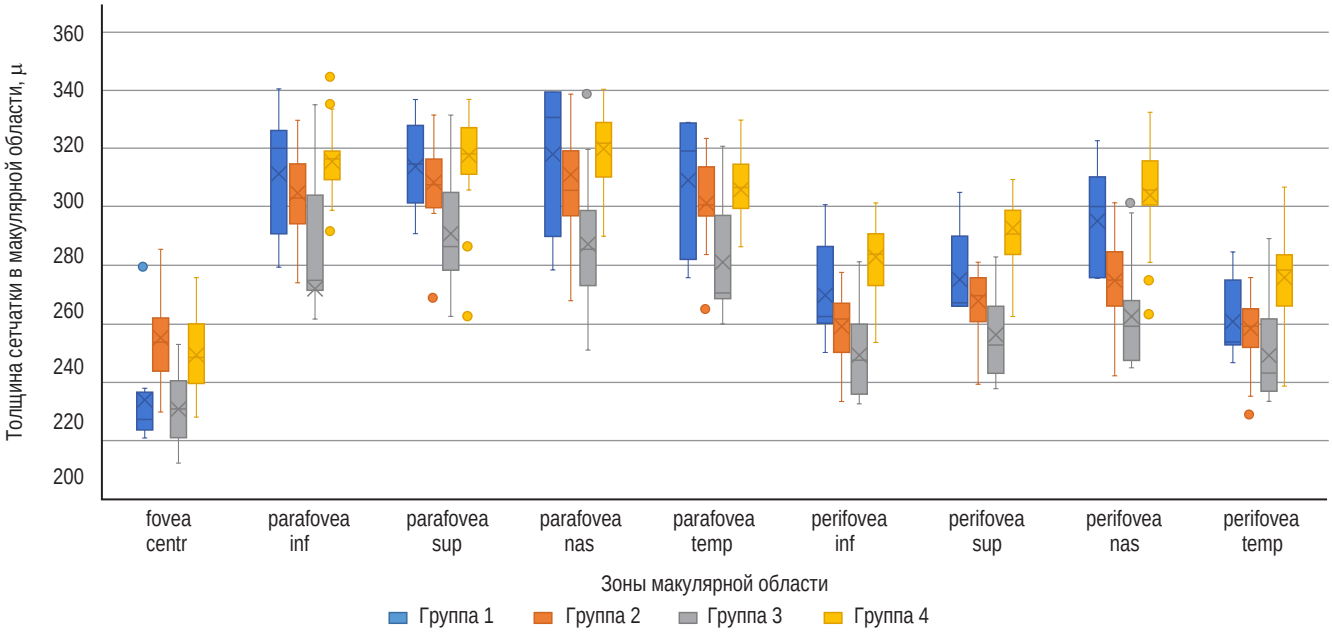


РИС. 2.

Сравнительный анализ толщины сетчатки в макулярной области между группами

FIG. 2.

Comparative analysis of retinal thickness in the macular region between groups

Важным было установить, насколько различные отделы зрительного тракта вовлечены в патологический процесс. Для этого пациентам была выполнена МР-трактография с целью визуализации целостности и ориентации проводящих путей головного мозга. В результате исследования получали трёхмерные графические изображения (векторные карты) в виде пучка кривых, являющихся волокнами белого вещества (рис. 3, 4).

При проведении МР-трактографии у пациентов групп 1 и 2 не было выявлено признаков нейродегенеративного поражения проводящих путей зрительной системы (рис. 3, 4).

У пациентов с двусторонним ретробульбарным невритом наблюдались значительные нарушения проводящих путей в виде прерывания и дислокации ассоциативных волокон, сокращения аксональных связей проводящий путей зрительного анализатора (рис. 5).

Количественное содержание метаболитов было изображено в протонном VH-спектре на графике (рис. 6). Как известно из данных литературы, наиболее стабильными во времени метаболитами головного мозга являются N-ацетиласпартат (NAA), холин (Cho), креатин (Cr) [18, 19].

При анализе графиков спектрограмм выявлен «химический сдвиг» в сторону понижения пика холина (Cho) и деформация пиков креатина (Cr) по типу «двугорбого», понижение энергетических процессов клеточных мембран миелиновых оболочек и изменение метаболизма фосфолипидов (рис. 5). Для оценки концентраций метаболитов использовалось соотношение метаболитов к креатину (Cr) как наиболее стабильному показателю. При анализе данных МР-спектроскопии выявлены статистически значимые отличия между группами пациентов с РС без клинических офтальмологических проявлений и с клинически значимыми изменениями зрительной системы (табл. 2, 3).

При сравнении с данными группы контроля выявлено снижение показателя соотношения NAA/Cho на уровне зрительной коры у пациентов группы 2 на 13 % и до 23 % – в группе пациентов после перенесённого ретробульбарного неврита, что может говорить о более выраженном угнетении жизнеспособности нейронов и нарушении синаптической передачи. Стоит отметить, что при анализе данных у пациентов с перенесённым односторонним ретробульбарным невритом максимальное снижение показателей было выявлено в соответствующем полушарии. У пациентов группы 1 соотношение NAA/Cho на уровне зрительной коры находилось в пределах референсных значений группы контроля. При этом важно отметить, что выраженное снижение соотношения NAA/Cho наблюдалось на уровне зрительной лучистости: на 31,5 % – в группе 1, на 39,5 % – в группе 2, на 50 % – в группе 3.

При анализе показателя NAA/Cr установлено его уменьшение на уровне зрительной коры на 17 % в группе 1 и до 23 % в группах 2 и 3. На уровне зрительной лучистости отмечено уменьшение данного показателя на 21 % в группе 1 и на 32–35 % у пациентов групп 2 и 3 по сравнению с показателями группы контроля.

Сравнительный анализ показателя Cho/Cr позволил установить его уменьшение на уровне зрительной коры по сравнению с показателями группы контроля на 21 % в группе 1, на 13,4 % в группе 2 и на 8 % в группе 3. При этом показатель Cho/Cr превышал показатели группы контроля на уровне зрительной лучистости в среднем на 22 %.

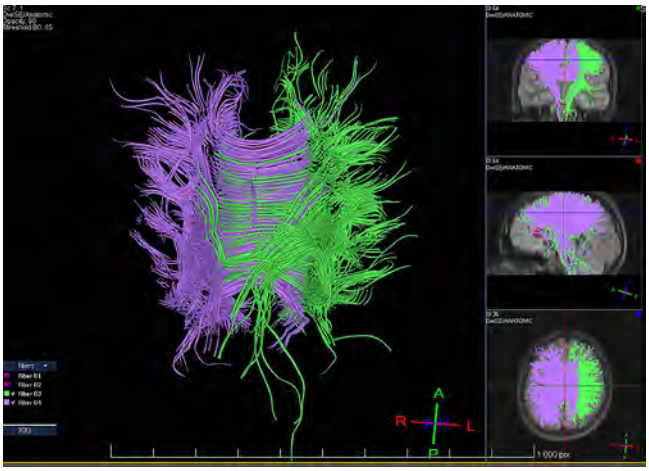


РИС. 3.
3D-реконструкция изображения проводящих путей зрительного анализатора у пациента с рассеянным склерозом (группа 1) без ухудшения зрительных функций
FIG. 3.
3D reconstruction of the image of the visual analyzer pathways in a patient with multiple sclerosis (group 1) without deterioration of visual functions

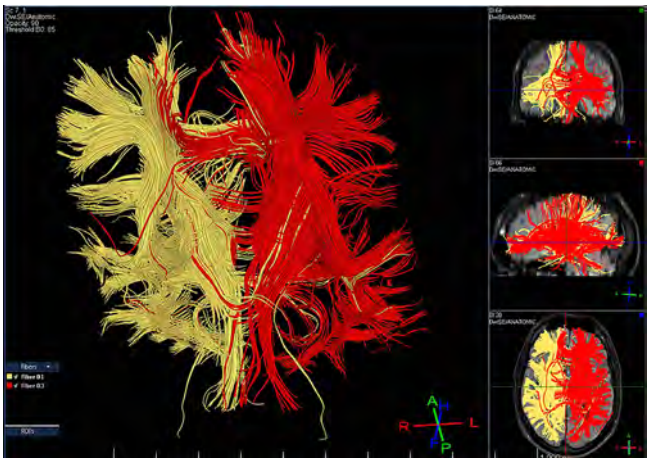


РИС. 4.
3D-реконструкция изображения проводящих путей зрительного анализатора у пациента с постепенным безболезненным снижением зрения, без эпизодов выраженной потери зрения, с частичной атрофией зрительного нерва (группа 2)
FIG. 4.
3D reconstruction of the image of the visual analyzer pathways in a patient with a gradual painless visual impairment, without episodes of severe visual loss, with partial optic atrophy (group 2)

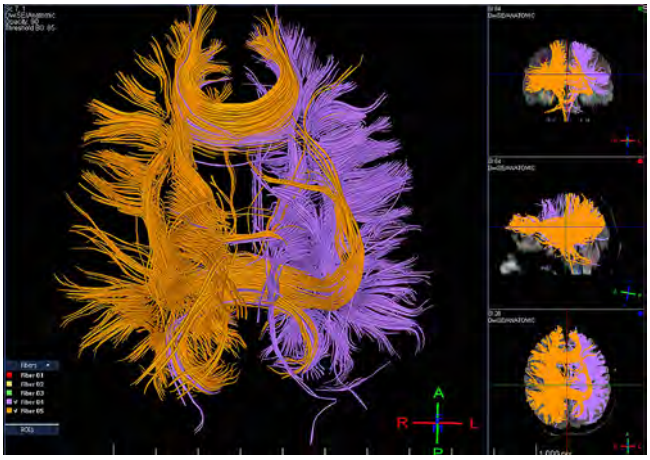


РИС. 5.

3D-реконструкция изображения проводящий путей зрительного анализатора у пациента с перенесённым двусторонним ретробульбарным невритом

FIG. 5.

3D reconstruction of the image of the visual analyzer pathways in a patient with bilateral retrobulbar neuritis

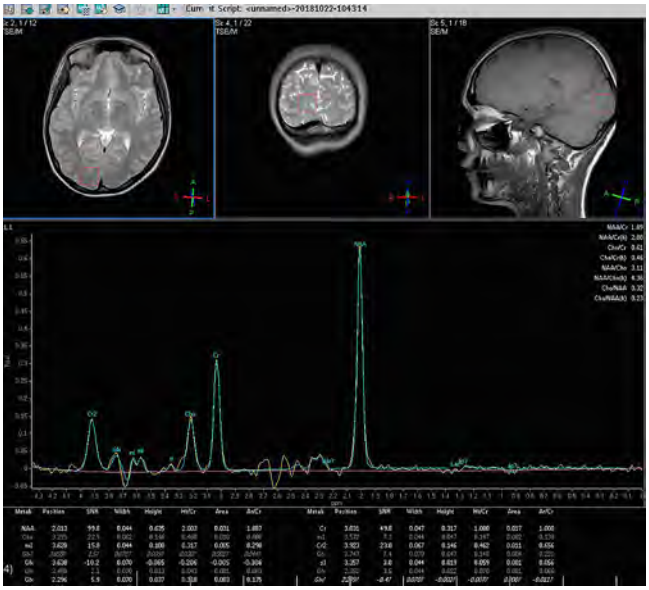


РИС. 6.

МР-спектроскопическая картина зрительных трактов на уровне зрительной коры слева

FIG. 6.

Magnetic resonance spectroscopy of the visual tracts at the level of the visual cortex at the left

ТАБЛИЦА 2

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МР-СПЕКТРОСКОПИИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

TABLE 2

DISTRIBUTION OF INDICATORS OF MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY OF THE CEREBRAL CORTEX

Показатели	Группа 1		Группа 2		Группа 3		Группа 4		*p*	
	Зрительная кора справа	Зрительная кора слева	Зрительная кора справа	Зрительная кора слева	Зрительная кора справа	Зрительная кора слева	Зрительная кора справа	Зрительная кора слева	Зрительная кора справа	Зрительная кора слева
NAA/Cho	2,7 (2,55–2,80)	2,94 (2,71–3,11)	2,33 (1,94–2,81)	2,27 (1,96–2,68)	2,32 (2,24–2,62)	2,19 (2,08–2,62)	2,65 (2,50–2,78)	2,67 (2,51–2,82)	$p_{1-2} = 0{,}047$ $p_{1-3} = 0{,}012$ $p_{2-4} = 0{,}037$ $p_{3-4} = 0{,}013$	$p_{1-2} = 0{,}001$ $p_{1-3} = 0{,}000$ $p_{2-4} = 0{,}026$ $p_{3-4} = 0{,}013$
NAA/Cr	1,83 (1,72–1,94)	1,82 (1,80–1,89)	1,67 (1,60–1,81)	1,61 (1,53–1,8)	1,80 (1,64–1,86)	1,65 (1,64–1,78)	1,95 (1,83–1,97)	1,93 (1,81–1,98)	$p_{1-2} = 0{,}014$ $p_{1-4} = 0{,}043$ $p_{2-4} = 0{,}017$ $p_{3,4}$=0,024	$p_{1-2} = 0{,}004$ $p_{1-3} = 0{,}016$ $p_{1-4} = 0{,}003$ $p_{2-4} = 0{,}002$ $p_{3-4} = 0{,}001$
Cho/Cr	0,68 (0,62–0,68)	0,61 (0,58–0,67)	0,72 (0,67–0,78)	0,76 (0,64–0,82)	0,76 (0,63–0,81)	0,73 (0,69–0,81)	0,83 (0,71–0,85)	0,78 (0,70–0,81)	$p_{1-4} = 0{,}043$ $p_{2-4} = 0{,}027$	$p_{1-2} = 0{,}019$ $p_{1-3} = 0{,}002$ $p_{1-4} = 0{,}033$

Примечание. Данные представлены в виде медианы и квартилей.

ТАБЛИЦА 3

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МР-СПЕКТРОСКОПИИ ЛУЧИСТОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

TABLE 3

DISTRIBUTION OF INDICATORS OF MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY OF BRAIN RADIANCE

Показатели	Группа 1		Группа 2		Группа 3		Группа 4		*p*	
	Правая лучистость	Левая лучистость	Правая лучистость	Левая лучистость	Правая лучистость	Левая лучистость	Правая лучистость	Левая лучистость	Правая лучистость	Левая лучистость
NAA/Cho	1,80 (1,73–2,08)	1,81 (1,50–1,81)	1,64 (1,38–1,82)	1,36 (1,26–1,49)	1,42 (1,32–1,50)	1,52 (1,22–1,74)	2,66 (2,52–2,88)	2,69 (2,60–2,82)	$p_{1-2} = 0,02$ $p_{1-3} = 0,001$ $p_{1-4} = 0,0003$ $p_{2-4} = 0,00004$ $p_{3-4} = 0,00001$	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-4} = 0,000$ $p_{2-4} = 0,000$ $p_{3-4} = 0,000$
NAA/Cr	1,69 (1,63–1,89)	1,80 (1,70–1,83)	1,50 (1,45–1,59)	1,5 (1,45–1,59)	1,52 (1,40–1,63)	1,55 (1,44–1,69)	2,07 (2,52–2,90)	2,10 (2,60–2,87)	$p_{1-2} = 0,02$ $p_{1-3} = 0,007$ $p_{1-4} = 0,0005$ $p_{2-4} = 0,00004$ $p_{3-4} = 0,00001$	$p_{1-2} = 0,009$ $p_{1-4} = 0,000$ $p_{2-4} = 0,000$ $p_{3-4} = 0,000$
Cho/Cr	0,97 (0,92–0,98)	0,99 (0,96–1,03)	1,13 (0,94–1,16)	1,13 (0,94–1,16)	1,09 (0,99–1,17)	1,02 (0,97–1,11)	0,87 (0,82–0,98)	0,84 (0,78–1,03)	$p_{1-3} = 0,016$ $p_{2-4} = 0,037$ $p_{3-4} = 0,04$	$p_{2-4} = 0,040$ $p_{3-4} = 0,040$

Примечание. Данные представлены в виде медианы и квартилей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Диагностика РС и сегодня остаётся наиболее трудной и сложной задачей. Ранняя постановка достоверного диагноза затруднена наличием различных клинико-инструментальных диссоциаций, а также моносимптомным дебютом заболевания. Это относится и к такому клиническому проявлению РС, как ретробульбарный неврит, который считается основной причиной снижения зрительных функций у данной категории пациентов [1].

Анализ полученных в исследовании данных убедительно показал, что формирование ЧАЗН, ассоциированной с РС, может носить медленно прогрессирующий характер без эпизодов внезапного ухудшения зрения.

При этом во всех случаях установлено уменьшение толщины слоя нервных волокон на уровне перипапиллярной сетчатки ДЗН с преимущественным поражением нижне-темпоральных и нижне-назальных сегментов. Наиболее значимое снижение толщины сетчатки установлено в верхнем, нижнем и назальном квадрантах перифовеальной зоны, достигая максимума в нижнем и назальном квадрантах парафовеа, при этом сама фовеа была практически не затронута. Структурные изменения сетчатки и зрительного нерва сопоставимы с тяжестью заболевания и наличием в анамнезе ретробульбарного неврита, что согласуется с исследованиями [8, 10, 11].

При анализе трёхмерных графических изображений МР-трактографии не было выявлено нейродегенеративного повреждения проводящих путей зрительной системы у пациентов с РС без клинически значимых офтальмологических проявлений. У пациентов с ЧАЗН определялась МРТ-картина разрежения, признаки нейродегенеративного поражения проводящих путей зрительного тракта. Более выраженные изменения МРТ-картины проводящих путей наблюдались у пациентов после перенесённого ретробульбарного неврита, а также у этих пациентов были выявлены признаки прерывания проводящих путей.

Интересным оказался анализ МР-спектрограмм, которые представляют собой неинвазивный метод, основанный на свойстве ядер атомов водорода индуцировать МР-сигналы в магнитных полях высокой напряжённости, после воздействия радиочастотного импульса. Ядро водорода даёт наиболее интенсивный МР-сигнал и входит в состав всех органических соединений. В настоящее время МР-спектроскопия получила широкое применение в диагностике объёмных образований и очагов головного мозга, в дифференциальной диагностике опухолевых образований, а также в оценке тяжести поражения центральной нервной системы [19–22]. Благодаря МР-спектроскопии можно определить биохимические изменения в проводящих путях зрительного анализатора [12].

Для анализа данных спектроскопии были выбраны основные метаболиты головного мозга, наиболее стабильные во времени, – N-ацетиласпартат, холин и креатин. N-ацетиласпартат (NAA) синтезируется в нейронах, является достоверным признаком жизнеспособности

нейронов, аксонов и дендритов. На фоне РС его концентрация снижается. Холин (Cho) входит в состав клеточных мембран и холинэргических синаптических окончаний нейронов и является частью липидного обмена. Его увеличение может свидетельствовать о наличии опухолевого процесса или очагов демиелинизации. Креатин (Cr) – основной маркер энергетических процессов в астроцитах и нейронах ткани головного мозга [18, 19].

Анализ МР-спектрограм показал снижение показателей NAA/Cr и NAA/Cho у пациентов всех групп при сравнении с группой контроля, а также ассиметричную концентрацию этих показателей у пациентов с односторонним ретробульбарным невритом. Отмечено увеличение концентрации Cho/Cr на уровне зрительной лучистости, что может говорить о повреждении клеточных мембран и нарушении синаптического проведения. При сравнении концентраций метаболитов максимальные изменения выявлены на уровне зрительной лучистости. Полученные нами результаты не противоречат данным отечественной и зарубежной литературы [12–13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

РС ежегодно посвящаются десятки публикаций в отечественной и зарубежной медицинской литературе. Тем не менее, частота диагностических ошибок при постановке диагноза «рассеянный склероз» показывает, что эта проблема остаётся весьма актуальной. Даже при отсутствии жалоб на снижение зрительных функций у пациентов с РС выявляются признаки поражения проводящих путей зрительного анализатора на уровне зрительной лучистости, при этом по данным ОКТ патологические изменения ДЗН и сетчатки не визуализируются. Полученные данные диктуют необходимость всестороннего офтальмологического обследования всех пациентов с РС вне зависимости от предъявляемых ими жалоб.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Этический комитет

Данное исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией на основании подписанного пациентом информированного добровольного согласия, одобренного этическим комитетом (выписка из протокола № 1 заседания этического комитета ФГБОУ ВО «Иркутский государственый медицинский университет» Минздрава России от 15.12.2017).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бисага Г.Н., Гайкова О.Н., Онищенко Л.С., Чикуров А.А., Поздняков А.В. *Рассеянный склероз: от морфологии к патогенезу.* СПб.; 2015. [Bisaga GN, Gaikova ON, Onishchenko LS, Chikurov AA, Pozdnyakov AV *Multiple sclerosis: From morphology to pathogenesis.* St. Petersburg; 2015. (In Russ.)].

2. Гусев Е.И., Бойко А.Н. *Рассеянный склероз: научно-практическое руководство.* М.: РООИ «Здоровье человека», 2020. [Gusev EI, Boyko AN. *Multiple sclerosis: Scientific and practical guide.* Moscow: Zdorovye cheloveka; 2020. (In Russ.)].

3. *Рассеянный склероз: клинические рекомендации.* М.; 2022. [*Multiple sclerosis: Clinical guidelines.* Moscow; 2022. (In Russ.)]

4. Пажигова З.Б., Карпов С.М., Шевченко П.П., Бурнусус Н.И. Распространенность рассеянного склероза в мире (обзорная статья). *Международный журнал экспериментального образования.* 2014; 1-2: 78-82. [Pazhigova ZB, Karpov SM, Shevchenko PP, Burnusus NI. Prevalence of multiple sclerosis in the world (review article). *International Journal of Experimental Education.* 2014; 1-2: 78-82. (In Russ.)].

5. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2001; 50(1): 121-127. doi: 10.1002/ana.1032

6. Елисеева Е.К., Нероев В.В., Зуева М.В., Цапенко И.В., Захарова М.Н. Оптический неврит на фоне рассеянного склероза (обзор литературы и результаты собственного исследования). *Точка зрения. Восток-Запад.* 2018; (2): 112-115. [Eliseeva EK, Neroev VV, Zueva MV, Tsapenko IV, Zakharova MN. Optic neuritis with multiple sclerosis (review of literature and own data). *Point of view. East-West.* 2018; (2): 112-115. (In Russ.)].

7. Зайнутдинова Г.Х., Бабушкин А.Э. Офтальмологические аспекты рассеянного склероза. *Точка зрения. Восток-Запад.* 2021; (1): 91-96. [Zaynutdinova GH, Babushkin AE. Ophthalmological aspects of multiple sclerosis. *Point of view. East-West.* 2021; (1): 91-96. (In Russ.)].

8. McNamara D. Revised 'McDonald criteria' expected to speed the diagnosis of multiple sclerosis. *ScienceDaily*. 2017 Dec 22. URL: https://www.sciencedaily.com/releases/2017/12/171222111412.htm [date of access: 25.04.2024].

9. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018; 17(2): 162-173. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2

10. Sharma R, Gaillard F, Bell D. McDonald diagnostic criteria for multiple sclerosis. *Radiopaedia.org.* 2018. doi: 10.53347/rID-57578

11. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). *Neurology.* 1983; 33(11): 1444-1452.

12. Труфанов Г.Е., Литвиненко И.В., Тарумов Д.А. *Магнитно-резонансная спектроскопия: учебное пособие.* Казань: Бук; 2018. [Trufanov GE, Litvinenko IV, Tarumov DA. *Magnetic resonance spectroscopy: A tutorial.* Kazan: Buk; 2018. (In Russ.)].

13. Прокудин М.Ю., Одинак М.М., Литвиненко И.В., Мартынов Б.В., Железняк И.С., Лыткин М.В., и др. Магнитно-резонансная спектроскопия при глиомах головного мозга: биологические маркеры. *Доктор.Ру.* 2018; 1(145): 10-15. [Prokudin MYu, Odinak MM, Litvinenko IV, Martynov BV, Zheleznyak IS, Lytkin MV, et al. Magnetic resonance spectroscopy in brain gliomas: Biological markers. *Doctor.Ru.* 2018; 1(145): 10-15. (In Russ.)].

14. Kallenbach K, Frederiksen J. Optical coherence tomography in optic neuritis and multiple sclerosis: A review. *Eur J Neurol*. 2007; 14(8): 841-849. doi: 10.1111/j.1468-1331.2007.01736.x.

15. Соломатова Е.С., Шнайдер Н.А., Молгачев А.А., Дмитренко Д.В, Строцкая И.Г. Магнитно-резонансная спектроскопия головного мозга в диагностике височной эпилепсии. *Невро-*

логия, нейропсихиатрия, психосоматика. 2018; (Спецвып. 1): 51-55. [Solomatova ES, Shnaider NA, Molgachev AA, Dmitrenko DV, Strotskaya IG. Magnetic resonance spectroscopy of the brain in the diagnosis of temporal lobe epilepsy. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2018; (Special Issue 1): 51-55. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2018-1S-51-55

16. Хоружик С.А., Жаврид Э.А., Сачивко Н.В. Диффузионно-взвешенная магнитно-резонансная томография с расчетом измеряемого коэффициента диффузии при мониторинге и раннем прогнозировании регрессии опухолевых очагов в процессе химиотерапии лимфом. *Медицинская визуализация.* 2015; 5: 83-99. [Kharuzhyk SA, Zhavrid EA, Sachivko NV. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging with apparent diffusion coefficient measurement for monitoring and early tumor response prediction during lymphoma chemotherapy. *Medical Visualization.* 2015; (5): 83-99. (In Russ.)].

17. Kousi E, Tsougos I, Eftychia K. Proton magnetic resonance spectroscopy of the central nervous system. *Novel Frontiers of Advanced Neuroimaging.* InTech; 2013. doi: 10.5772/53892

18. Касимова М.С., Хамраева Г.Х. МР-спектроскопия в диагностике оптического неврита на фоне рассеянного склероза (обзор литературы). *Современные технологии в офтальмологии.* 2019; 3(28): 62-66. [Kasimova MS, Khamraeva GH. MR-spectroscopy in the diagnosis of optical neuritis on the background of multiple sclerosis (literature review). *Modern Technologies in Ophthalmology*. 2019; 3(28): 62-66. (In Russ.)].

19. Фурсова А.Ж., Зубкова М.Ю., Васильева М.А., Гамза Ю.А., Малкова Н.А., Прокаева А.И., и др. Современные диагностические возможности изучения структурных и функциональных изменений сетчатки и зрительного нерва у пациентов с рассеянным склерозом. *Российский офтальмологический журнал.* 2023; 16(4): 97-104. [Fursova AZh, Zubkova MYu, Vasilyeva MA, Gamza YuA, Malkova NA, Prokaeva AI, et al. Modern diagnostic potentials of studying structural and functional changes of the retina and the optic nerve in multiple sclerosis patients. *Russian Ophthalmological Journal.* 2023; 16(4): 97-104. (In Russ.)] doi: 10.21516/2072-0076-2023-16-4-97-104

20. Pardini M, Botzkowski D, Müller S, Vehoff J, Kuhle J, Ruberte E, et al. The association between retinal nerve fibre layer thickness and N-acetyl aspartate levels in multiple sclerosis brain normal-appearing white matter: A longitudinal study using magnetic resonance spectroscopy and optical coherence tomography. *Eur J Neuro*l. 2016; 23(12): 1769-1774. doi: 10.1111/ene.13116

21. Ткаченко Н.В., Белехова С.Г., Колесникова Е.Т., Тургель В.А., Семенюта В.В. Анализ данных оптической когерентной томографии диска зрительного нерва и сетчатки макулярной зоны у пациентов с рассеянным склерозом. *Офтальмологические ведомости.* 2022; 15(1): 15-28. [Tkachenko NV, Belekhova SG, Kolesnikova ET, Turgel VA, Semenyuta VV. Analysis of optical coherence tomography of the optic nerve head and of the retinal macular area in multiple sclerosis patients. *Ophthalmology Reports.* 2022; 15(1): 15-28. (In Russ.)]. doi: 10.17816/OV105639

22. Paul F, Calabresi PA, Barkhof F, Green AJ, Kardon R, Sastre-Garriga J, et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis: A 3-year prospective multicenter study. *Ann Clin Transl Neurol.* 2021; 8(12): 2235-2251. doi: 10.1002/acn3.51473

Сведения об авторах

Швец Лидия Витальевна – врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; ассистент кафедры глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: lidiy.isa@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1303-9030

Юрьева Татьяна Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России; профессор кафедры глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России; профессор кафедры офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: tnyurieva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0547-7521

Information about the authors

Lidiya V. Shvets – Ophthalmologist, S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Teaching Assistant at the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University; e-mail: lidiy.isa@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1303-9030

Tatiana N. Iureva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for Science, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Professor at the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University; Professor at the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; e-mail: tnyurieva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0547-7521

ПЕДИАТРИЯ
PEDIATRICS

МЕДИЦИНСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ТРУДНОСТЕЙ В ОБУЧЕНИИ ШКОЛЬНИКОВ

Ткачук Е.А. [1, 2],
Прохорова Ж.В. [1],
Черевикова И.А. [1],
Вотинева А.С. [1],
Рычкова Л.В. [1]

[1] ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья, семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)
[2] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Черевикова Ирина Александровна,
e-mail: gothic.craze@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Введение. *Трудности в обучении среди школьников являются важным вопросом как образования, так и здравоохранения. Как правило, понимание данной проблемы у разных специалистов (врачей, педагогов, психологов) различается. Несмотря на то, что медицинский взгляд на данные нарушения отражён в Международной классификации болезней 10-го пересмотра в разделе «Специфические расстройства развития учебных навыков» (F81), они зачастую остаются вне поля внимания педиатрической службы.*

Цель работы. *Рассмотреть педиатрическую составляющую трудностей в обучении школьников и предложить методические подходы к её возможному решению усилиями педиатра.*

Материалы и методы. *Всего проанализировано 360 источников литературы, опубликованных с 2006 по 2024 г., индексированных в РИНЦ, PubMed, Scopus. Для статьи использовано 30 источников.*

Результаты и обсуждение. *В обзоре изложены современные представления о трудностях в обучении школьников и медико-биологических причинах их формирования. Показано, что основными причинами трудностей в обучении являются наследственные полиморфизмы различных генов, ответственных за развитие и функционирование организма, которые проявляют свою изменённую функцию на фоне социальных и биологических факторов риска. Отражена роль разных специалистов в лечении и коррекции данных нарушений. Показано, что известные в настоящее время методы лечения являются симптоматическими и малоэффективны.*

Вывод. *Для эффективного лечения необходимо выяснять причину формирования нарушений, ассоциированных с трудностями в обучении школьников. Важную роль в их диагностике должен играть врач-педиатр, который имеет возможность наблюдать за ростом и развитием ребёнка с момента его рождения.*

Ключевые слова: *трудности в обучении, медико-биологические факторы, полиморфизм генов, молекулярно-генетическая диагностика, дети, школьники*

Статья поступила: 11.10.2024
Статья принята: 06.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Ткачук Е.А., Прохорова Ж.В., Черевикова И.А., Вотинева А.С., Рычкова Л.В. Медицинские проблемы трудностей в обучении школьников. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 166-175. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.17

MEDICAL PROBLEMS OF LEARNING DIFFICULTIES IN SCHOOLCHILDREN

Tkachuk E.A. [1, 2],
Prokhorova Zh.V. [1],
Cherevikova I.A. [1],
Votineva A.S. [1],
Rychkova L.V. [1]

[1] Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[2] Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Irina A. Cherevikova,
e-mail: gothic.craze@mail.ru

ABSTRACT

Background. *Learning difficulties among schoolchildren are an important issue in both education and health care. As a rule, the understanding of this problem is ambiguous among different specialists (physicians, teachers, psychologists). Despite the fact that the medical view of these disorders is reflected in the International Classification of Diseases, 10th revision, in the section "Specific developmental disorders of scholastic skills" (F81), it often remains outside the field of attention of the pediatric service.*
The aim. *To consider the pediatric component of learning difficulties in schoolchildren and to propose methodological approaches to its possible solution by the efforts of a pediatrician.*
Materials and methods. *A total of 360 literature sources published from 2006 to 2024, indexed in the RSCI, PubMed, Scopus, were analyzed. For the article, 30 literary sources were used.*
Results and discussion. *The review presents modern ideas about learning difficulties in schoolchildren and the medical and biological causes of their formation. It is shown that the main causes of learning difficulties are hereditary polymorphisms of various genes responsible for the development and functioning of the body, which exhibit their altered function against the background of social and biological risk factors. The role of different specialists in the treatment and correction of these disorders is reflected. It is shown that currently known treatment methods are symptomatic and ineffective.*
Conclusion. *For the effective treatment, it is necessary to find out the cause of the formation of disorders associated with learning difficulties in schoolchildren. An important role in their diagnosis should be played by a pediatrician who has the opportunity to observe the growth and development of the child from the moment of his birth.*

Key words: *learning difficulties, medical and biological factors, gene polymorphism, molecular genetic diagnostics, children, schoolchildren*

Received: 11.10.2024
Accepted: 06.12.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Tkachuk E.A., Prokhorova Zh.V., Cherevikova I.A., Votineva A.S., Rychkova L.V. Medical problems of learning difficulties in schoolchildren. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 166-175. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.17

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на очевидные успехи прошлого столетия в развитии систем обучения, человечество вступило в XXI век с большим грузом нерешённых проблем, одной из которых является сохранение и укрепление здоровья школьников. Новые технологии и стремительное накопление знаний человечеством предъявляют серьёзные требования к интенсивности овладения ими в процессе школьного обучения. Появилось большое количество авторских программ обучения, инновационных технологий, однако это приводит не к улучшению, а к резкому ухудшению состояния здоровья детей. В связи с этим перед педагогами, родителями и врачами встаёт сложная задача – обучить ребёнка, но не навредить его здоровью.

Правительством Российской Федерации не раз подчёркивалась роль российского образования как основной стратегической задачи. Указом Президента Российской Федерации от 7.05.2018 № 204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года» утверждена необходимость обеспечения вхождения Российской Федерации в число 10 ведущих стран мира по качеству общего образования, внедрения на уровнях основного общего и среднего общего образования новых методов обучения и воспитания, образовательных технологий, обеспечивающих освоение обучающимися базовых навыков и умений и повышение их мотивации к обучению. Для выявления общего уровня образования детей в Российской Федерации в 2021 г. Рособрнадзор совместно с Федеральным институтом оценки качества образования провёл рейтинговое исследование качества школьного образования. В нём приняли участие 85 регионов Российской Федерации. Территории были распределены на «зелёную» (самая благополучная) зону, в которую вошли 5 регионов: Санкт-Петербург, Москва, Ярославская, Калининградская и Свердловская области. В «красную» зону вошли 28 территорий, в «бордовую» (неблагополучные) – 4 региона. В целом неблагополучные регионы включают более 35 % образовательных организаций страны. Неблагополучие образования, как считают многие педагоги, в большинстве случаев заключается в большом количестве трудностей в учебной деятельности (особенно у младших школьников) [1].

Трудности в обучении школьников не простая проблема, которую пытается самостоятельно решить каждое новое поколение. Ей в основном занимаются психологи, логопеды, дефектологи и редко – психиатры [2]. Каждый специалист по-своему определяет «трудности в обучении» и трактует их причины. Медицинский взгляд на данный вопрос отражён в Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10) в разделе «Специфические расстройства развития учебных навыков» (F81) [3]. Однако несмотря на то, что трудности в обучении являются актуальным предметом обсуждения, они зачастую остаются вне поля внимания педиатрической службы. Это приводит к тому, что проблемы трудностей в обучении пытаются решить только педагоги и родители без учёта реальных особенностей и нарушений роста и развития ребёнка.

ЦЕЛЬ ОБЗОРА

Рассмотреть педиатрическую составляющую трудностей в обучении школьников и предложить методические подходы к её возможному решению усилиями педиатра.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С использованием электронных библиографических баз данных (РИНЦ, PubMed, Scopus) выполнен поиск исследований, опубликованных в период с января 2006 г. по август 2024 г. на английском и русском языках. Первичный поиск осуществлялся с применением логических операторов для комбинаций следующих ключевых слов: «трудности в обучении», «медико-биологические факторы», «полиморфизм генов», «молекулярно-генетическая диагностика». В процессе анализа из 360 найденных полнотекстовых публикаций отобрано 30 источников к рассмотрению в данной обзорной статье.

КЛАССИФИКАЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

В МКБ-10 категория F81 относится к «Нарушениям психологического развития» (F80–F89) и определяется как расстройства, имеющие общие черты [3]. Так, одной из важных особенностей данных нарушений является их манифестация в младенческом или детском возрасте. Это связано с тем, что нарушение или задержка развития функций тесно связаны с биологическим созреванием центральной нервной системы, а само течение имеет прогрессирующий характер, устойчивое течение без ремиссий и рецидивов. При этом отмечается, что при нарушениях психологического развития в большинстве случаев страдают речь, зрительно-пространственные навыки и двигательная координация. При нарушениях данного характера первые изменения проявляются в раннем возрасте, и их трудно диагностировать достоверно, однако с возрастом они прогрессивно уменьшаются, при этом лёгкая недостаточность нарушенной функции часто сохраняется и в зрелом возрасте [3].

Нарушения психологического развития имеют свою иерархию в МКБ-10, представленную в таблице 1.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА РАЗВИТИЯ РЕЧИ (СРРР)

Расстройства развития речи, как правило, формируются на ранних этапах развития. В МКБ-10 [3] к СРРР относятся расстройства развития экспрессивной (F80.1)

ТАБЛИЦА 1

КЛАССИФИКАЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ В СООТВЕТСТВИИ С МКБ-10 [3]

TABLE 1

CLASSIFICATION OF PSYCHOLOGICAL DEVELOPMENT DISORDERS ACCORDING TO ICD-10 [3]

Код по МКБ-10	Характеристика по МКБ-10	Подгруппа по МКБ-10
F80 Специфические расстройства развития речи и языка	Расстройства, при которых нормальный характер приобретения языковых навыков страдает уже на ранних стадиях развития. Эти состояния непосредственно не соотносятся с нарушениями неврологических или речевых механизмов, сенсорной недостаточностью, умственной отсталостью или факторами окружающей среды. Специфические расстройства развития речи и языка часто сопровождаются смежными проблемами, такими как трудности при чтении, правописании и произношении слов, нарушения межличностных отношений, эмоциональные и поведенческие расстройства.	F80.0 Специфическое расстройство речевой артикуляции F80.1 Расстройство экспрессивной речи F80.2 Расстройство рецептивной речи F80.3 Приобретённая афазия с эпилепсией (Ландау – Клефнера) F80.8 Другие расстройства развития речи и языка F80.9 Расстройства развития речи и языка неуточнённые
F81 Специфические расстройства развития учебных навыков	Расстройства, при которых нормальные показатели приобретения учебных навыков нарушены, начиная с ранних стадий развития. Такие нарушения не являются просто следствием отсутствия возможности обучаться или исключительно результатом умственной отсталости и не обусловлены полученной травмой или перенесённой болезнью головного мозга.	F81.0 Специфическое расстройство чтения F81.1 Специфическое расстройство спеллингования F81.2 Специфическое расстройство арифметических навыков F81.3 Смешанное расстройство учебных навыков F81.8 Другие расстройства развития учебных навыков F81.9 Расстройство развития учебных навыков неуточнённое
F82 Специфические расстройства развития моторной функции	Расстройства включают моторные и координационные нарушения при отсутствии умственной отсталости и неврологических нарушений.	F82.0 Специфическое расстройство развития крупной моторики F82.1 Специфическое расстройство развития мелкой моторики и графомоторики F82.2 Специфическое расстройство развития оральной моторики F82.9 Специфическое расстройство развития моторной функции неуточнённое
F83 Смешанные специфические расстройства психологического развития	Расстройства включают признаки различных нарушений психологического развития.	
F84 Общие расстройства психологического развития	Группа расстройств, характеризующихся качественными отклонениями в социальных взаимодействиях и показателях коммуникабельности, а также ограниченным, стереотипным, повторяющимся комплексом интересов и действий. Эти качественные отклонения являются общей характерной чертой деятельности индивида во всех ситуациях. При необходимости идентифицировать связанные с данными нарушениями заболевания или умственную отсталость используют дополнительный код.	F84.0 Детский аутизм F84.1 Атипичный аутизм F84.2 Синдром Ретта F84.3 Другое дезинтегративное расстройство детского возраста F84.4 Гиперактивное расстройство, сочетающееся с умственной отсталостью и стереотипными движениями F84.5 Синдром Аспергера F84.8 Другие общие расстройства развития F84.9 Общее расстройство развития неуточнённое
F88 Другие расстройства психологического развития	Специфические расстройства в развитии речевых и учебных навыков, а также моторики; при этом трудно выявить преимущественное расстройство.	
F89 Расстройство психологического развития неуточнённое	Расстройства психологического развития и поведения не укладывающиеся в другие группы.	

и рецептивной речи (F80.2). По данным исследований Н.Н. Заваденко и Я.М. Сапожникова и соавт., частота таких нарушений среди детей составляет 5–10 % [4, 5]. Эти нарушения проявляются без предшествовавшего периода нормального развития речи.

Алалия или дисфазия развития – это нарушение речи, которое развивается на доречевом этапе и связано с недоразвитием речевых центров. Выделяют моторную и сенсорную алалию. При моторной алалии страдают функции центра Брока, в связи с чем определяются затруднения речевой моторики и её координация. При сенсорной алалии фиксируются дисфункции в восприятии речи, в частности затруднены анализ и синтез, и, как следствие, звукообразование не формируется или формируется неправильно. Афазия – это нарушение, характеризующееся полной или частичной утратой речевых функций [6].

Дизартрия – нарушение артикуляции из-за поражения ядер головного мозга (псевдобульбарного, бульбарного, подкоркового, мозжечкового), отвечающих за речевую мускулатуру [7].

Существует целый ряд исследований, которые подтвердили наличие факторов риска для развития нарушений речи. Так, в группу высокого риска развития данных нарушений отнесены дети, у которых в первые 3 месяца жизни в результате клинико-инструментального обследования были выявлены структурные изменения со стороны центральной нервной системы; недоношенные дети, особенно с экстремально низкой массой тела; дети с нарушениями со стороны слухового и зрительного анализаторов; дети с недостаточностью функций черепно-мозговых нервов (V, VII, IX, X, XII пар); дети с задержкой редукции безусловных автоматизмов, длительно сохраняющимися нарушениями мышечного тонуса [8, 9]. Исследования D.F. Newbury и соавт., Н.Н. Заваденко и соавт. показали, что у глубоко недоношенных детей в раннем возрасте наблюдаются задержка речевого развития, а в школьном возрасте – трудности обучения, проблемы с чтением и письмом, концентрацией внимания и контролем поведения [10, 11].

Всё большую роль в формировании нарушений развития речи отводят генетическим факторам, а именно полиморфизмам определенных генов, отвечающих за речевое и нервно-психическое развитие: *FOXP1*, *FOXP2*, *CNTNAP2*, *ATP2C2*, *CMIP*, *SETBP1*, *NRXN1*, *TM4SF20*, *SRPX2*, *KIAA0319* [2, 10]. Определение полиморфизмов, приводящих к речевым нарушениям, имеет большое значение, так как это позволит установить патогенетические пути развития речевых нарушений и предлагать новые методы лечения и профилактики [6].

Современные методы лечения речевых нарушений предполагают совместную работу логопеда, психолога, педагога, психотерапевта, а также медикаментозное лечение курсами ноотропных препаратов [6]. Адекватная фармакотерапия позволяет уменьшить церебрастенические, психосоматические, моторные нарушения, скорректировать гиперактивность, улучшить внимание и эмоциональный контроль поведения ребёнка [12].

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА РАЗВИТИЯ ШКОЛЬНЫХ УЧЕБНЫХ НАВЫКОВ (СРРШУН)

СРРШУН – это группа нарушений, проявляющихся характерными затруднениями в освоении чтения, письма и счета при условии отсутствия тяжёлых неврологических заболеваний и снижения интеллектуального уровня или нарушений остроты зрения и слуха [6]. При этом, по данным M. McDowell, дети с СРРШУН запаздывают с усвоением общеобразовательной программы, что проявляется в том, что их биологический и паспортный возраст значимо не соответствуют нормам усвоения школьных знаний [13]. Распространённость СРРШУН в детской популяции составляет от 1 до 40 % [6, 14]. В МКБ-10 к ним относятся расстройства чтения, письма, формирования арифметических навыков и смешанные расстройства школьных навыков [3]. Причинами нарушения развития школьных навыков являются всё те же генетические нарушения и сопутствующие им факторы риска. При поиске в «Каталоге NHGRI-EBI исследований ассоциаций по всему геному человека» или GWAS-каталоге на запрос «нарушения развития» (developmental disorder) выдается около 12 наименований нарушений, и в каждом нарушении – до 2215 полиморфных вариантов генов по данным разных исследований [15]. Например, полиморфизм гена *STK24* (ген серин/треонин протеин киназы 24) N. Irwin и соавт. относят к факторам, ответственным за рост аксонов, и связывают с нарушениями в обучении [16].

Расстройства чтения или дислексия – это расстройство, при котором ребёнок в ходе чтения пропускает, заменяет, искажает слова или включает дополнительные, имеет медленный темп чтения, недостаточно понимает прочитанное [7].

Нарушения моторной функции речевого аппарата, хотя и выделяют отдельно в специфические расстройства развития оральной моторики (F82.2), всё же можно рассматривать как нарушение важнейшей функции, востребованной при обучении – правильного звукопроизношения. Артикуляционная моторика – одно из условий правильного выговаривания звуков, выражающееся в совокупности скоординированных движений органов речевого аппарата [3]. Нарушение артикуляционной моторики может приводить к дизартрии (нарушению речи), обусловленной неправильной работой артикуляционных органов: языка, губ, щёк, гортани. Причинами дизартрии могут быть бульбарные и псевдобульбарные нарушения. Псевдобульбарная форма дизартрии возникает вследствие двустороннего центрального пареза мышц, приводящих в движение органы артикуляции. Бульбарная дизартрия связана с периферическим парезом тех же мышц, вызванным поражением ядер черепно-мозговых нервов бульбарной группы. У детей псевдобульбарная дизартрия наиболее часто встречается в симптомокомплексе детского церебрального паралича, а также в случае нарушения мозгового кровоснабжения [17].

Расстройства письма (спеллингования) или дисграфия имеет оптическую, артикулярно-акустическую, фонематическую (акустическую), лингвистическую и аграмматическую формы [6, 12].

Расстройства формирования арифметических навыков или дискалькулия – это нарушение развития навыков счёта, понимание арифметических понятий, терминов или знаков, неспособность выучить таблицу умножения; а также смешанное расстройство школьных навыков [6, 14].

Все эти навыки связаны с формированием высших психических и когнитивных функций. Большую роль в развитии данных функций играют генетические факторы и нарушения онтогенеза на ранних этапах [14]. Дети с расстройствами обучения находятся в группе социального риска [14], поэтому своевременная диагностика и лечение данных нарушений очень важны. Лечение строится на медико-психолого-педагогическом взаимодействии, а в качестве медикаментозной терапии эффективно используют нейрометаболические препараты, ноотропы, анксиолитики, антидепрессанты и корректоры поведения [14].

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА РАЗВИТИЯ МОТОРНОЙ ФУНКЦИИ

В настоящее время выделяют нарушения крупной и мелкой моторики [18]. При нарушениях крупной моторики (F82.0 Специфическое расстройство развития крупной моторики) происходит нарушение координации при отсутствии умственной отсталости и неврологических нарушений. Дети с данным расстройством характеризуются неловкостью, неуклюжестью, своеобразной задержкой развития координации движений. Походка таких детей неустойчива, они часто падают, медленно обучаются бегу, играм с мячом [19].

Нарушение мелкой моторики (F82.1 Специфическое расстройство развития мелкой моторики и графомоторики) проявляется трудностями в рисовании, обучении письму. Ребёнок с трудом одевается, не может пользоваться карандашом и ручкой, не может копировать простейшие геометрические фигуры – круг, треугольник. Также может нарушаться способность к управлению движениями глаз. По данным С.Я. Волгина и соавт., нарушения мелкой моторики часто сочетаются с расстройствами речи [20].

Расстройство развития моторики у детей часто относят к минимальным мозговым дисфункциям. Причинами могут служить перинатальная патология, недоношенность, нейроинфекции, травмы и наследственные особенности развития [19].

СПЕЦИФИЧЕСКОЕ РАССТРОЙСТВО РАЗВИТИЯ МОТОРНОЙ ФУНКЦИИ НЕУТОЧНЁННОЕ

Нарушение моторной функции проявляется расстройствами координации у детей без неврологических нарушений и умственной отсталости. Это связано с задержкой формирования моторных навыков, поэтому такие дети неловкие и неуклюжие, им трудно самостоятельно одеваться, копировать рисунки при рисовании и сложно обучаться письму. Они плохо выполняют физические упражнения, их походка неустойчива, они часто падают. Нарушения развития моторной функции у детей необходимо дифференцировать с манифестацией тяжёлых нервно-мышечных заболеваний, которые очень часто имеют наследственное происхождение, однако не стоит забывать, что сами нарушения моторной функции носят наследственный характер и, скорее всего, имеют место у родителей или близких родственников. Известно, что, как правило, в подростковом возрасте такие нарушения усугубляются из-за быстрого роста и изменений пропорций тела, а затем постепенно нивелируются с течением времени. Однако у некоторых пациентов они могут сохраняться на протяжении всей жизни. Стоит отметить, что у большинства таких пациентов в зрелом возрасте может манифестировать нервно-мышечная патология, что свидетельствует о наличии непоставленного диагноза наследственного заболевания ещё в детском возрасте [12].

Поэтому для данной категории пациентов важна ранняя диагностика заболевания. При этом дифференциальный диагноз необходимо проводить с наследственными расстройствами развития, нарушениями координации движений и другими неврологическими расстройствами [12].

Лечение моторных нарушений основано на назначении нейрофизиологической, нейропсихологической коррекции и медикаментозной терапии (симптоматической и по возможности патогенетической) [20].

СМЕШАННЫЕ СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАССТРОЙСТВА ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

В МКБ-10 существует ещё одна рубрика, которая включает специфические расстройства в развитии речевых и учебных навыков, а также моторики. При этом трудно выявить преимущественное расстройство. Иногда такие нарушения сочетаются с недостаточностью познавательных способностей. Эта категория нарушений достаточно часто встречается, главной проблемой выступает выявление наиболее значимого нарушения. Вероятнее всего, эти нарушения связаны с генетическими расстройствами, проявляющимися на фоне осложнённого биологического и социального анамнеза [21].

ОБЩИЕ РАССТРОЙСТВА ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

К этой группе отнесены расстройства социального взаимодействия и коммуникативных навыков. Такие расстройства имеют качественный характер, а пациенты имеют ограниченный, стереотипный и повторяющийся комплекс интересов и действий. Чаще такие нарушения развиваются с младенчества, но могут появляться и в первые 5 лет. Имеют место нарушения когнитивной функции в разной степени тяжести и отклоняющееся по-

ведение по отношению к возрастной норме интеллектуального развития при наличии или отсутствии умственной отсталости [22].

К этой группе нарушений относятся детский аутизм (F84.0); атипичный аутизм (F84.1); синдром Ретта (F84.2); другое дезинтегративное расстройство детского возраста (F84.3); гиперактивное расстройство, сочетающееся с умственной отсталостью и стереотипными движениями (F84.4); синдром Аспергера (F84.5); другие общие расстройства развития (F84.8); общее расстройство развития неуточнённое (F84.9) [3].

Детский аутизм – это общее расстройство развития, которое характеризуется аномальным и/или нарушенным развитием, аномальным социальным взаимодействием, стереотипным, повторяющимся поведением, проявляющимся до 3 лет. В настоящий момент известно, что детский аутизм представляет собой группу различных по этиологии наследственных заболеваний, которые уже были обсуждены в наших работах [23]. Все эти заболевания носят наследственный характер и поэтому в настоящий момент разработана исключительно симптоматическая и коррекционно-педагогическая терапия [24].

Гиперактивное расстройство, сочетающееся с умственной отсталостью и стереотипными движениями, которое в МКБ-10 отнесено к этой же группе расстройств, вероятнее всего, относится к наследственной патологии с пока ещё не ясной этиологической причиной. Часто оно характеризуется выраженной умственной отсталостью с IQ менее 50, гиперактивностью, нарушением внимания, стереотипным поведением, аутистическими чертами [3]. У детей отмечаются выраженная гиперактивность и нарушения внимания, а также выраженные стереотипии. В подростковом возрасте гиперактивность может сменяться сниженной активностью. Опыт показывает, что подобные симптомы наблюдаются при Х-сцепленной адренолейкодистрофии, некоторых мукополисахаридозах и т. д. [24, 25].

ДРУГИЕ РАССТРОЙСТВА ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ

Эта группа нарушений имеет общие признаки расстройств психологического развития.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рассмотренные вопросы трудностей в обучении школьников являются серьёзной проблемой не только образования, но и сферы охраны здоровья.

Ведущие учёные и педагоги [26] в своих работах указывают на то, что в настоящее время в научной литературе и нормативных документах, регламентирующих образовательную деятельность, не определено смысловое значение термина «школьная неуспешность», в связи с чем он по-разному трактуется [26]. Однако проблема имеет широкое распространение и серьёзное значение. В работе В.С. Басюка и С.Б. Лазуренко, по данным оценки программы исследования обученности школьников PISA (Programme for International Student Assessment), в 2021 г. менее 80 % российских школьников достигли порогового уровня знаний и 20 % респондентов были отнесены к категории «неуспевающих» [26]. По данным статистики, около 40 % школьников имеют трудности в обучении, усвоении материала, выполнении заданий, предусмотренных школьной программой [27].

Педагоги, работающие в школах, отмечают, что за последнее время проблема трудностей в обучении усугубилась. Конечно, педагогические работники несколько иначе определяют трудности в обучении. Так, по данным Е.И. Исаевой и соавт., Ю.П. Вавилова, в педагогической практике трудностями в обучении у учащихся называют «невыполнение требований к освоению образовательных программ» [28, 29]. Трудности в обучении фиксируются через недостижение обучающимися определённых, заданных параметров выполнения заданий (проверочных работ, тестов, экзаменов) [28]. Такие нарушения диагностируются через определение уровня сформированности определённых знаний, умений, навыков. В педагогике существует собственная типология, предложенная Н.И. Мурачковским, в основу которой положены соотношения особенностей мыслительной деятельности школьника (связанные с обучаемостью) и направленности личности школьника, которая определяет его отношение к обучению, что позволяет выделить типы неуспевающих школьников [29].

Другой известный педагог и популяризатор интенсификации образования Ю.К. Бабанский предлагал учитывать в изучении проблем трудностей в обучении особенности личности и состояния организма ребёнка. Он указывал на существование внутренних и внешних факторов проблем в обучении. К внутренним относятся нарушения здоровья детей, дефициты развития, недостаточный объём знаний, умений и навыков; к внешним – бытовые, гигиенические условия в школе, особенности воспитания в семье, а также специфика обучения и воспитания в школе [29].

Психологи-исследователи в свою очередь предлагают уделять больше внимания психологическим особенностям ребёнка, в частности его уровню интеллектуального развития (IQ) [28].

Нейропсихологический подход, учитывающий особенности развития высших психических функций (мышления, памяти, внимания), позволяет сконцентрировать внимание коррекционных педагогов на индивидуальных особенностях учащихся и разработать персонализированные программы психологического сопровождения ребёнка [28].

Медико-биологический анализ причин трудностей в обучении указывает на наличие наследственных отклонений роста и развития, а также осложнённого фона биологического и социального анамнеза. В настоящий момент, по данным Е.К. Гинтера и Р.А. Зинченко, в геноме человека насчитывается около 9 вредных рецессивных генов [21]. Всё это свидетельствует о наличии большого массива латентных полиморфизмов, которые проявляются трудностями в обучении. Коррекционная, пси-

хологическая, педагогическая реабилитация и социализации таких детей весьма трудна и малоэффективна, в связи с тем, что не учитывается сама причина нарушений (генетические полиморфизмы). К сожалению, данная проблема ускользает из поля зрения педиатра, который как никто другой из медицинских работников имеет возможность наблюдать за ростом и развитием ребёнка. Без подключения педиатрической службы данную проблему решить сложно, так как именно педиатр наблюдает за ребёнком с рождения и направляет в случае необходимости к неврологу, психиатру или генетику [20, 21, 30].

Другой проблемой трудностей в обучении является их выявление. Это связано с тем, что все рассмотренные нарушения развития распространены достаточно широко, однако их клиника часто стёртая, а диагностика в плане поиска причины заболевания сложная и дорогостоящая. В связи с этим большинство таких нарушений либо остаются неустановленными, либо их выявление значительно запаздывает.

Исследуя тему многолетних исследований состояния здоровья детей в школах, можно сделать вывод о том, что эта проблема не теряет своей актуальности. На наш взгляд, необходимо обратить внимание исследователей на применение генетических технологий в изучении состояния здоровья детей в школах как на наиболее перспективный и менее освещённый аспект. Только понимание причин заболевания, которое проявляется трудностями в обучении, поможет составить адекватный план лечения и коррекции [24]. И, конечно, особую роль в постановке диагноза для ребёнка с трудностями в обучении должен сыграть врач-педиатр. Именно педиатр имеет возможность с самого раннего возраста наблюдать за развитием ребёнка и своевременно начать обследования на выявление причин отставания в росте и развитии, а также трудностей в обучении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, рассмотрены современные представления о трудностях в обучении и медико-биологических причинах их формирования. Показано, что основными причинами трудностей в обучении являются наследственные полиморфизмы различных генов, ответственных за развитие и функционирование организма, которые проявляют свою изменённую функцию на фоне социальных и биологических факторов риска. Отмечено, что в настоящий момент имеются значительные расхождения в понимании «трудностей в обучении» между врачами, педагогами и психологами. Эти различия касаются как определения термина, так и причин формирования затруднений в обучении. Отражена роль разных специалистов в лечении и коррекции трудностей в обучении. Показано, что основой для разработки методических подходов к решению проблемы и эффективного лечения трудностей в обучении является необходимость выявления причины формирования нарушения, то есть необходимость проведения молекулярно-генетической диагностики. Важную роль в выявлении трудностей в обучении должен играть врач-педиатр, который имеет возможность наблюдать за ростом и развитием ребёнка с момента его рождения.

Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках государственной темы № 0416-2021-001 «Ключевые закономерности и механизмы формирования нарушений здоровья детей и подростков как основа персонализированного подхода к диагностике, лечению и профилактике в современной педиатрии».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Виноградова Н.Ф., Кузнецова М.И., Рыдзе О.А. *Работа с детьми младшего школьного возраста, испытывающими трудности при изучении учебных предметов.* М.: ФГБНУ «Институт стратегии развития образования»; 2023. [Vinogradova NF, Kuznetsova MI, Rydze OA. *Working with children of primary school age experiencing difficulties in learning academic subjects.* Moscow; 2023. (In Russ.)].

2. Barnett CP, van Bon BW. Monogenic and chromosomal causes of isolated speech and language impairment. *J Med Genet.* 2015; 52(11): 719-730. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103161

3. Всемирная организация здравоохранения. Классификация психических и поведенческих расстройств. Международная классификация болезней 10-го пересмотра. [World Health Organization. Classification of mental and behavioural disorders. International Classification of Diseases, 10th revision. (In Russ.)]. URL: https://mkb-10.com/index.php?pid=4001 [дата доступа: 05.11.2024].

4. Заваденко Н.Н. Расстройства развития речи у детей: ранняя диагностика и терапия. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2016; 116(12): 119-125. [Zavadenko NN. Speech disorders in children: Early diagnosis and treatment. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2016; 116(12): 119-125. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro2016116121119-125

5. Сапожников Я.М., Черкасова Е.Л., Минасян В.С., Мхитарян А.С. Нарушения речи у детей. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* 2013; 92(4): 82-88. [Sapozhnikov YaM, Cherkasova EL, Minasyan VS, Mkhitaryan AS. Speech disorders in children. *Pediatria named after G.N. Speransky.* 2013; 92(4): 82-88. (In Russ.)].

6. Заваденко Н.Н., Скрипченко Н.В., Гайнетдинова Д.Д., Халецкая О.В., Доронина О.Б., Суворинова Н.Ю., и др. Нарушения развития учебных навыков у детей: эффективность и безопасность Тенотена детского по данным многоцентрового двойного слепого плацебо-контролируемого рандомизированного исследования. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2020; 120(9): 28-36. [Zavadenko NN, Skripchenko NV, Gaynetdinova DD, Khaletskaya OV, Doroina OB, Suvorinova NYu, et al. Developmental disorders of academic skills in children: The efficacy and safety of Tenoten for children in the multicenter double-blind placebo-controlled randomized study. *S.S. Korsakov*

Journal of Neurology and Psychiatry. 2020; 120(9): 28-36. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro202012009128

7. Заваденко Н.Н., Румянцева М.В. Дислексия: механизмы развития и принципы лечения. Русский журнал детской неврологии. 2008; 3(1): 3-9. [Zavadenko NN, Roumyantseva MV. Dyslexia: Underlying mechanisms and treatment principles. *Russian Journal of Child Neurology.* 2008; 3(1): 3-9. (In Russ.)].

8. Асмолова Г.А., Заваденко А.Н, Заваденко Н.Н., Козлова Е.В., Медведев М.И., Рогаткин С.О., и др. *Ранняя диагностика нарушений развития речи. Особенности речевого развития у детей с последствиями перинатальной патологии нервной системы: методические рекомендации.* М.: Союз педиатров России; 2014. [Asmolova GA, Zavadenko AN, Zavadenko NN, Kozlova EV, Medvedev MI, Rogatkin SO, et al. *Early diagnostics of speech development disorders. Speech development in children with consequences of perinatal pathology of the nervous system: guidelines.* Moscow; 2014. (In Russ.)].

9. Заваденко Н.Н., Щедеркина И.О., Заваденко А.Н, Козлова Е.В., Орлова К.А., Давыдова Л.А., и др. Отставание развития речи в практике педиатра и детского невролога. *Вопросы современной педиатрии.* 2015; 14(1): 132-139. [Zavadenko NN, Shchederkina IO, Zavadenko AN, Kozlova EV, Orlova KA, Davydova LA, et al. Speech delay in the practice of a paediatrician and child's neurologist. *Current Pediatrics.* 2015; 14(1): 132-139. (In Russ.)]. doi: 10.15690/vsp.v14i1.1272

10. Newbury DF, Monaco AP. Genetic advances in the study of speech and language disorders. *Neuron*. 2010; 68(2): 309-332. doi: 10.1016/j.neuron.2010.10.001

11. Заваденко Н.Н., Суворинова Н.Ю. Задержки развития речи у детей: причины, диагностика и лечение. *РМЖ.* 2016; 6: 362-366. [Zavadenko NN, Suvorinova NYu. Speech development delays in children: Causes, diagnosis and treatment. *Russian Medical Journal.* 2016; 6: 362-366. (In Russ.)].

12. Заваденко Н.Н., Козлова Е.В. Лекарственная терапия дисфазии развития у детей ноотропными препаратами. *Вопросы практической педиатрии.* 2013; 8(5): 24-29. [Zavadenko NN, Kozlova EV. Drug therapy of developmental dysphasia in children with nootropic drugs. *Clinical Practice in Pediatrics.* 2013; 8(5): 24-29. (In Russ.)].

13. McDowell M. Specific learning disability. *J Paediatr Child Health*. 2018; 54(10): 1077-1083. doi: 10.1111/jpc.14168

14. Handler SM, Fierson WM, the Section on Ophthalmology and Council on Children with Disabilities, American Academy of Ophthalmology, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, and American Association of Certified Orthoptists. Learning disabilities, dyslexia and vision. *Pediatrics*. 2011; 127(3): e818-e856. doi: 10.1542/peds.2010-3670

15. The NHGRI-EBI. *Catalog GWAS of human genome-wide association studies*. URL: https://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=developmental%20disorder [date of access: 22.09.2024].

16. Irwin N, Li YM, O'Toole JE, Benowitz LI. Mst3b, a purine-sensitive Ste20-like protein kinase, regulates axon outgrowth. *Proc Natl Acad Sci*. 2006; 103(48): 18320-18325. doi: 10.1073/pnas.0605135103

17. Поляков В.М., Прохорова Ж.В., Бердина О.Н., Домашенкина А.С., Ярославцева И.В., Лутошлива Е.С., и др. Особенности онтогенеза речевой деятельности у мальчиков школьного возраста с эссенциальной артериальной гипертензией. *Вестник Новосибирского государственного педагогического университета.* 2017; 7(5): 112-126. [Polyakov VM, Prokhorova ZV, Berdina ON, Domashenkina AS, Yaroslavtseva IV, Lutoshliva ES, et al. Features of speech ontogenesis in male schoolchildren with essential hypertension. *Novosibirsk State Pedagogical University Bulletin.* 2017; 7(5): 112-126. (In Russ.)]. doi: 10.15293/2226-3365.1705.08

18. Спирина А.В. Особенности крупной, мелкой и артикуляционной моторики у детей дошкольного возраста с дизартрией. *Вестник Курганского государственного университета.* 2018; 4(51): 71-73. [Spirina AV. Features of gross, fine and articulatory motor skills in preschool children with dysarthria. *Bulletin of Kurgan State University.* 2018; 4(51): 71-73. (In Russ.)].

19. Бугун О.В., Машанская А.В., Аталян А.В., Михнович В.И., Белогорова Т.А., Власенко А.В., и др. Комплексная реабилитация пациентов с двигательными нарушениями при спастических формах ДЦП. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(6-2): 82-91. [Bugun OV, Mashanskaya AV, Atalyan AV, Mikhnovich VI, Belogorova TA, Vlasenko AV, et al. Comprehensive rehabilitation of patients with movement disorders with spastic forms of cerebral palsy. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(6-2): 82-91. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.9

20. Волгина С.Я., Журкова Н.В., Гамирова Р.Г., Николаева Е.А., Соловьева Н.А. Ранняя диагностика двигательных нарушений у детей: междисциплинарный подход. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2022; 67(5): 225-230. [Volgina SYa, Zhurkova NV, Gamirova RG, Nikolaeva EA, Solovyeva NA. Early diagnostics of motor disorders in children: An interdisciplinary approach. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2022; 67(5): 225-230. (In Russ.)]. doi: 10.21508/1027-4065-2022-67-5-225-230

21. Гинтер Е.К., Зинченко Р.А. Наследственные болезни в российских популяциях. *Информационный вестник ВОГиС.* 2006; 10(1): 106-125. [Ginter EK, Zinchenko RA. Hereditary diseases in Russian populations. *The Herald of Vavilov Society of Geneticists and Breeders.* 2006; 10(1): 106-125. (In Russ.)].

22. Воробьев В.Ф. Теоретический анализ проблемы моторного развития детей с ограниченными возможностями здоровья. *Научное обозрение. Биологические науки.* 2017; 5: 5-12. [Vorobiev VF. Theoretical analysis of the problem of motor development of children with disabilities. *Scientific review. Biological sciences.* 2017; 5: 5-12. (In Russ.)].

23. Ткачук Е.А. Использование синдромального подхода к диагностике аутизма у детей. *Медицинский совет.* 2022; (12): 200-204. [Tkachuk EA. Using the syndrome approach to the diagnosis of autism in children. *Medical Council.* 2022; (12): 200-204. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2022-16-12-200-204

24. Ткачук Е.А., Мартынович Н.Н., Рычкова Л.В. Скрининговые методы исследования расстройств аутистического спектра в исследовании нервно-психического развития детей дошкольного возраста. *Казанский медицинский журнал.* 2021; 102(3): 302-306. [Tkachuk EA, Martynovich NN, Rychkova LV. Screening methods for autism spectrum disorders in the study of neuropsychological development of preschool children. *Kazan Medical Journal.* 2021; 102(3): 302-306. (In Russ.)]. doi: 10.17816/KMJ2021-302

25. Заваденко Н.Н. Школьная дезадаптация в педиатрической практике. *Лечащий врач.* 2005; 1: 22-27. [Zavadenko NN. School maladaptation in pediatric practice. *Lechaschi Vrach.* 2005; 1: 22-27. (In Russ.)].

26. Басюк В.С., Лазуренко С.Б. Научные подходы к преодолению учебных трудностей современных школьников.

Альманах Института коррекционной педагогики. 2023; 54(1): 22-31. [Basyuk VS, Lazurenko SB. Scientific approaches to overcoming educational difficulties of modern schoolchildren. *Almanac of Institute of Special Education.* 2023; 54(1): 22-31. (In Russ.)].

27. Давидович Л.Р., Гусева А.Ю. Активизация эгоцентрической речи у детей с речевыми нарушениями в условиях семьи. *Специальное образование.* 2022; 4(68): 46-57. [Davidovich LR, Guseva AYu. Activization of egocentric speech in children with speech disorders in a family. *Special Education.* 2022; 4(68): 46-57. (In Russ.)]. doi: 10.26170/1999-6993_2022_04_03

28. Исаев Е.И., Марголис А.А. Трудности в обучении: диагностика, профилактика, преодоление. *Психологическая наука и образование.* 2023; 28(5): 7-20. [Isaev EI, Margolis AA. Learning difficulties: Diagnosis, prevention, overcoming. *Psychological Science and Education.* 2023; 28(5): 7-20. (In Russ.)]. doi: 10.17759/pse.2023280501

29. Вавилов Ю.П. Проблемы учебной неуспеваемости школьников. *Ярославский педагогический вестник.* 2016; 2: 19-24. [Vavilov YuP. Problems of schoolchildren's educational backwardness. *Yaroslavl Pedagogical Bulletin.* 2016; 2: 19-24. (In Russ.)].

30. Xing J, Andersen RA. Models of the posterior parietal cortex which perform multimodal integration and represent space in several coordinate frames. *J Cogn Neurosci*. 2000; 12(4): 601-614. doi: 10.1162/089892900562363

Сведения об авторах

Ткачук Елена Анатольевна – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; профессор кафедры генетики, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: zdorowie38@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-7525-2657

Прохорова Жанна Владимировна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: proxorowa.janna2011@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8236-1747

Черевикова Ирина Александровна – младший научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: gothic.craze@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5328-8525

Вотинева Анастасия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: votinevaas@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-0361-2868

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

Elena A. Tkachuk – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Professor at the Department of Genetics, Irkutsk State Medical University, e-mail: zdorowie38@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-7525-2657

Zhanna V. Prokhorova – Cand. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: proxorowa.janna2011@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8236-1747

Irina A. Cherevikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: gothic.craze@mail.ru,https://orcid.org/0000-0002-5328-8525

Anastasiya S. Votineva – Junior Research Officer at the Laboratory of Pediatric Psychoneurosomatic Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: votinevaas@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-0361-2868

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

ТРАВМАТОЛОГИЯ
TRAUMATOLOGY

РЕКОНСТРУКЦИЯ ВЕРХНЕЙ КАПСУЛЫ ПЛЕЧЕВОГО СУСТАВА ПРИ МАССИВНЫХ РАЗРЫВАХ СУХОЖИЛИЙ ВРАЩАТЕЛЬНОЙ МАНЖЕТЫ ПЛЕЧА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Слайковский Е.Н.,
Куклин И.А.,
Меньшова Д.В.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Меньшова Дарья Васильевна,
e-mail: menschovadar@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Распространённость разрывов вращательной манжеты плеча среди травм опорно-двигательного аппарата, по данным литературы, составляет 20 %. Массивные повреждения вращательной манжеты плеча – это разрывы с ретракцией более 5 см или повреждение двух и более сухожилий. При массивных повреждениях происходят децентрация головки плечевой кости, нарушение биомеханики сустава и, как следствие, прогрессирование остеоартроза.

Цель обзора. *Проанализировать данные литературы и представить обзор современных взглядов на реконструкцию верхней капсулы плечевого сустава при массивных разрывах сухожилия вращательной манжеты плеча.*

Материалы и методы. *Были проведены поиск и анализ литературы зарубежных и отечественных авторов при помощи интернет-ресурсов PubMed, eLibrary в период с 2010 по 2024 г.*

Результаты и их обсуждение. *На сегодняшний день при лечении массивных разрывов большое внимание уделяется реконструкции верхней капсулы плечевого сустава. Биомеханический принцип, лежащий в основе реконструкции верхней капсулы, предполагает использование трансплантата для закрытия дефекта сухожилий. В качестве трансплантатов на сегодняшний день наиболее часто используются аллотрансплантаты, аутотрансплантаты, ксенотрасплантаты и синтетические материалы. В данном обзоре приводятся хирургические техники и результаты оперативного лечения при помощи широкой фасции бедра, дермальных аллотрасплантатов, сухожилия длинной малоберцовой мышцы, сухожилия длинной головки двуглавой мышцы плеча, пяточного сухожилия, однако единого мнения в выборе трансплантатов и способов их фиксации не существует.*

Заключение. *Анализ литературных источников не даёт однозначного ответа на вопрос о выборе наиболее эффективного способа лечения данной патологии. Количество современных публикаций показывает, что проблема совершенствования лечения таких пациентов в настоящее время является актуальной и требует углублённого исследования.*

Ключевые слова: *реконструкция верхней капсулы, массивные разрывы вращательной манжеты плеча, сухожилие длинной малоберцовой мышцы, широкая фасция бедра, сухожилие двуглавой мышцы плеча*

Для цитирования: Слайковский Е.Н., Куклин И.А., Меньшова Д.В. Реконструкция верхней капсулы плечевого сустава при массивных разрывах сухожилий вращательной манжеты плеча (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 176-183. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.18

Статья поступила: 10.10.2024
Статья принята: 28.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

RECONSTRUCTION OF THE SUPERIOR CAPSULE OF THE SHOULDER JOINT IN MASSIVE RUPTURES OF THE ROTATOR CUFF TENDONS (LITERATURE REVIEW)

Slaykovskiy E.N.,
Kuklin I.A.,
Menshova D.V.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Darya V. Menshova,
e-mail: menschovadar@yandex.ru

ABSTRACT

The prevalence of rotator cuff ruptures among injuries of the musculoskeletal system according to the literature is 20 %. Massive injuries to the rotator cuff of the shoulder are tears with retraction of more than 5 cm or damage to two or more tendons. With massive injuries, the head of the humerus is decentrated, the biomechanics of the joint is impaired and, as a result, the progression of osteoarthritis occurs.

The aim. *To analyze the literature data of foreign and domestic authors and to provide an overview of modern views on the surgical treatment of massive ruptures of the rotator cuff tendons.*

Materials and methods. *A search and analysis of the literature of foreign and domestic authors was carried out using the Internet resources PubMed, eLibrary in the period from 2010 to 2024.*

Results and discussion. *To date, in treatment of massive ruptures, much attention is paid to the reconstruction of the upper capsule of the shoulder joint. The biomechanical principle underlying the reconstruction of the superior capsule involves the use of a graft to close a tendon defect. Today, the most commonly used grafts are allografts, autografts, xenografts, and synthetic materials. This review presents surgical techniques and results of surgical treatment using the broad fascia of the thigh, dermal allografts, peroneus longus tendon, biceps brachii longus tendon, and Achilles tendon, but there is no consensus on the choice of grafts and methods of their fixation.*

Conclusion. *An analysis of literature sources does not provide a clear answer to the question of choosing the most effective method of treating this pathology. The number of modern publications shows that the problem of improving the treatment of such patients is currently relevant and requires in-depth research.*

Key words: *superior capsule reconstruction, massive rotator cuff ruptures, tendon of the long peroneal muscle, fascia lata, the long head of the biceps tendon*

Received: 10.10.2024
Accepted: 28.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Slaykovskiy E.N., Kuklin I.A., Menshova D.V. Reconstruction of the superior capsule of the shoulder joint in massive ruptures of the rotator cuff tendons (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 176-183. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.18

ВВЕДЕНИЕ

Распространённость разрывов вращательной манжеты плеча среди травм опорно-двигательного аппарата, по данным литературы, составляет 20 % [1]. Патология вращательной манжеты плеча чаще всего обусловлена дегенеративными изменениями в сухожилиях, а также возможен механизм травматизации, например в результате вывиха головки плечевой кости. По данным литературы, частота встречаемости разрывов вращательной манжету у пациентов старше 60 лет наблюдается в 54 % случаев, а у пациентов старше 80 лет – в 62 % [1–3]. Массивными повреждениями вращательной манжеты плеча считаются разрывы с ретракцией более 5 см либо повреждение двух и более сухожилий. Биомеханически вращательная манжета плеча центрирует головку плечевой кости и является точкой опоры, препятствуя смещению головки плечевой кости при сокращении дельтовидной мышцы. При массивных повреждениях происходят децентрация головки плечевой кости, нарушение биомеханики сустава и, как следствие, прогрессирование остеоартроза [4]. Массивный разрыв сухожилий вращательной манжеты плеча является той патологией, относительно лечения которой не существует единого мнения. Одним из таких мнений является необходимость восстановления вращательной манжеты плеча либо препятствование формированию верхнего подвывиха головки плеча и импиджмент-синдрома путём реконструкции верхней капсулы плеча (SCR, superior capsule reconstruction) с помощью различных видов пластик. Показаниями к SCR являются массивные разрывы сухожилий вращательной манжеты плеча, неэффективность консервативной терапии и сохраняющаяся функция дельтовидной мышцы [5]. В данном обзоре рассматриваются наиболее распространённые и результативные методики, применяемые в настоящее время.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Проанализировать литературные данные и представить обзор современных взглядов на реконструкцию верхней капсулы плечевого сустава при массивных разрывах сухожилия вращательной манжеты плеча.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Был проведён поиск литературы зарубежных и отечественных авторов при помощи интернет-ресурсов PubMed и eLibrary с использованием ключевых слов: «реконструкция верхней капсулы», «массивные разрывы вращательной манжеты плеча», «сухожилие длинной малоберцовой мышцы», «широкая фасция бедра», «сухожилие двуглавой мышцы плеча» и их англоязычных аналогов. Анализировались публикации в период с 2010 по 2024 г.

Биомеханический принцип, лежащий в основе реконструкции верхней капсулы, предполагает использование трансплантата для закрытия дефекта сухожилий. Трансплантат выступает в роли «биологического капюшона», препятствуя смещению головки проксимально и смягчая её контакт с акромиальным отростком [6, 7]. Основные цели реконструкции верхней капсулы: уменьшение натяжения; биологическая аугментация; увеличение площади контакта для заживления; распределение нагрузки [8–10]. В качестве трансплантатов на сегодняшний день наиболее часто используются аллотрансплантаты, аутотрансплантаты, ксентотрасплантаты и синтетические материалы [11].

РЕКОНСТРУКЦИЯ ВЕРХНЕЙ КАПСУЛЫ ШИРОКОЙ ФАСЦИЕЙ БЕДРА

В 2007 г. T. Mihata с коллегами разработали метод лечения массивных разрывов вращательной манжеты плеча, названный ими Superior Capsule Reconstruction. Основной идеей данного метода является создание биологического спейсера в субакромиальном пространстве, препятствующего формированию верхнего подвывиха головки плечевой кости и исключению субакромиального импиджмента. Пластика осуществляется при помощи части широкой фасции бедра, размер которой определяется путём измерения расстояния от верхнего полюса гленоида до зоны прикрепления сухожилия надостной мышцы на большом бугорке плечевой кости при отведении плеча на угол 30°. По наблюдениям авторов, наилучший результат достигается при толщине трансплантата 6–8 мм. После введения трансплантата в субакромиальное пространство производится его крепление при помощи якорных фиксаторов к гленоиду и большому бугорку с формированием мягкотканного «гамака», низводящего головку плеча книзу. Авторы уделяют особое внимание соблюдению оптимального натяжения трансплантата и его толщине. T. Mihata и соавт. представили результаты лечения 181 пациента, которым была выполнена артроскопическая реконструкция верхней капсулы плечевого сустава. Пациенты были разделены на три группы в зависимости от возраста: 1-я группа – младше 55 лет; 2-я группа – 55–70 лет; 3-я группа – старше 70 лет. Реабилитация у пациентов проводилась по следующему протоколу: после операции в течение 4 недель осуществлялась иммобилизация при помощи абдукционной повязки. Через 5 недель после операции разрешалось выполнение пассивных и активных вспомогательных упражнений. Укрепление мышц разрешалось через 8 недель после операции. Авторы сообщают о значительном улучшении показателей по визуально-аналоговой шкале, шкалам ASES (American Shoulder and Elbow Surgeons) и JOA (Japanese Orthopaedic Association) во всех трёх группах. Частота отрыва трансплантата в 1-й группе составила 9 %, во 2-й группе – 6 %, в 3-й группе – 10 % [12–17]. Основной недостаток предложенного способа заключается в болезненности в области забора трансплантата. Для устранения данного недостатка был предложен малоинвазивный забор трансплантата. Были проанализированы результаты малоин-

вазивной методики, срок наблюдения составил 2 года. За этот период негативного влияния на донорскую область выявлено не было. Однако при получении трансплантата толщиной не менее 5 мм образовывался большой дефект широкой фасции бедра. Таким образом, оптимальная техника забора трансплантата на сегодняшний день не определена [18, 19].

РЕКОНСТРУКЦИЯ ВЕРХНЕЙ КАПСУЛЫ ДЕРМАЛЬНЫМИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАТАМИ

В 2016 г. S.S. Burkhart и соавт. представили модернизированную операцию Mihata. В отличие от оригинальной методики, S.S. Burkhart и соавт. используют децеллюляризованный дермальный аллотрансплантат в качестве замещающего дефект материала. Предварительно производится тенодез или тенотомия сухожилия длинной головки бицепса плеча, поскольку подготовка костного ложа гленоида подразумевает широкое иссечение суставной губы с неизбежной в последующем нестабильностью корня данного сухожилия. После этого в субакромиальное пространство помещается бесклеточный дермальный аллотрансплантат, медиальная часть которого фиксируется тремя якорями к гленоиду, а латеральная – двумя якорями к большому бугорку плечевой кости, к месту прикрепления сухожилия надостной мышцы. Авторы также рекомендуют следом за фиксацией дермального трансплантата производить частичное восстановление манжеты поверх него [20].

J.O. Kim и соавт. в своём клиническом исследовании продемонстрировали результаты хирургического лечения методом реконструкции верхней капсулы с помощью бесклеточного кожного трансплантата. Функциональные результаты по шкале ASES увеличились с 50 до 83 баллов, результаты по шкале UCLA (University of California, Los Angeles) увеличились с 17 до 30 баллов. Тем не менее, повторные разрывы отмечались у 21 % пациентов [21].

P.J. Denard и соавт., W.T. Pennington и соавт. в качестве трансплантата для реконструкции верхней капсулы при лечении пациентов с массивными разрывами сухожилий вращательной манжеты плеча выбирали дермальные аллотрансплантаты. P.J. Denard и соавт. опубликовали результаты лечения 59 пациентов, срок наблюдения составил 1 год. В 70 % случаев отмечались хорошие результаты. Сгибание улучшилось со 130 до 158°, болевой синдром снизился с 5,8 до 1,7 баллова. W.T. Pennington и соавт. показали, что реконструкция капсулы с использованием дермальных аллотрансплантатов способствовала уменьшению болевого синдрома и улучшению функции плечевого сустава. T. Mihata и соавт. провели биомеханический сравнительный анализ дермальных трансплантатов и широкой фасции бедра. В эксперименте было доказано, что дермальный трансплантат во время тестирования удлинился на 15 %, тогда как широкая фасция бедра осталась неизменной [22–24].

C.H. Chiu и соавт. в 2021 г. была описана техника, при которой в качестве пластического материала для замещения дефекта сухожилий вращательной манжеты плеча используется как собственное сухожилие длинной головки бицепса плеча, так и аллотрансплантат дермального матрикса. Таким образом, они модернизировали операцию S.S. Burkhart и соавт., дополнив аллотрансплантат аутосухожилием вместо его резекции. При данной технике после ревизии вращательной манжеты плеча производится поперечное рассечение бицепса сухожилия длинной головки бицепса плеча. Далее осуществляется тенодез дистальной части сухожилия, а проксимальная часть смещается кзади и фиксируется к подготовленному большому бугорку плечевой кости с помощью якорных фиксаторов. После этого в субакромиальное пространство помещается децеллюляризованный дермальный аллотрансплантат размером 2 × 4 см при толщине от 1,26 до 1,75 мм. Трансплантат покрывает сверху проксимальную часть сухожилия длинной головки бицепса плеча, медиальная его часть фиксируется двумя якорями к гленоиду, а латеральная – к большому бугорку плечевой кости, к месту прикрепления сухожилия надостной мышцы, с использованием лент. По мнению авторов, данная техника обеспечивает большую толщину биологического спейсера, одновременно обеспечивая широкую площадь покрытия головки плечевой кости [25].

РЕКОНСТРУКЦИЯ ВЕРХНЕЙ КАПСУЛЫ АУТОСУХОЖИЛИЕМ ДЛИННОЙ МАЛОБЕРЦОВОЙ МЫШЦЫ

Оригинальную методику предложили H. Li и соавт. в 2023 г. В отличие от SCR во всех её вариантах, авторы предлагают формировать три внутрикостных тоннеля, один – в гленоиде, поперёк оси головки плечевой кости, и два – в головке плечевой кости, из одной точки на большом бугорке плеча в направлении к концам костного тоннеля в гленоиде, образуя треугольник. При формировании тоннелей используется тибиальное направляющее устройство из комплекта инструмента для пластики передней крестообразной связки. Затем производится забор аутосухожилия длинной малоберцовой мышцы, его подготовка и проведение через костные тоннели, начиная от большого бугорка плеча в заднюю часть тоннеля в гленоиде, через него – во второй тоннель головки плеча. Далее свободные концы сухожилия сшиваются со стороны головки плечевой кости [26]. Авторы считают, что данная методика обладает преимуществом перед пластикой верхней капсулы за счёт более прочной внутрикостной фиксации сухожилия в тоннелях в сравнении с накостной, более высокого потенциала интеграции сухожилия в кость при значительно меньших материальных затратах. Но также не удалось избежать и негативных аспектов, в частности не удалось добиться анатомичного восстановления вращательной манжеты плеча, что является противопоказанием для применения данной техники у молодых пациентов с высоким уровнем физической активности.

Н.Н. Чирков и соавт. разработали новый способ лечения пациентов с массивными разрывами сухожилий вращательной манжеты плеча. Для аугментации дефекта в качестве трансплантата используется аутосухожилие длинной малоберцовой мышцы. Анализ результатов осуществлялся при помощи шкал UCLA, ASES, CS (Constant Score). Хорошие и отличные результаты были достигнуты в 53,6 % случаев. Средняя величина акромионо-плечевого интервала составила 6,7 ± 2,7 мм [27].

В.А. Крылов разработал способ лечения массивных разрывов вращательной манжеты плеча, при котором в качестве трансплантата используется аутосухожилие длинной малоберцовой мышцы, фиксированное на пропиленовой сетке. Трансплантат фиксируется при помощи якорных фиксаторов к гленоиду и чрескостно – к большому бугорку плечевой кости. Разработанный способ способствует созданию спейсер-эффекта и препятствует развитию импеджмент-синдрома. Также В.А. Крылов разработал другой вариант реконструкции сухожилий вращательной манжеты. В качестве трансплантата также используется аутосухожилие длинной малоберцовой мышцы, фиксированное на пропиленовой сетке. Медиально трансплантат фиксируется к оставшейся части повреждённых сухожилий, а латерально – к большому бугорку плечевой кости. Также при выраженном остеопорозе осуществляется дополнительная фиксация трансплантата к большому бугорку плечевой кости при помощи губчатых винтов с шайбой. Разработанный способ способствует созданию спейсер-эффекта и препятствует развитию импеджмент-синдрома [28, 29].

В качестве альтернативы K. Okamura и соавт. в 2020 г. предложили использовать тефлоновый войлочный пластырь. Очевидным преимуществом данной методики является отсутствие необходимости забора трансплантата у пациента, что уменьшает хирургические риски, длительность оперативного вмешательства, исключает болевой синдром в области донорской раны. Двухлетние наблюдения показали эффективность в отношении купирования болевого синдрома плечевого сустава у пожилых людей с массивным разрывом вращательной манжеты плеча, но худшее функциональное восстановление относительно пластики верхней капсулы. По технике выполнения данная операция схожа с пластикой верхней капсулы. Производится артроскопическая ревизия плечевого сустава. При выявлении повреждения или вывиха сухожилия длинной головки бицепса плеча выполняется его тенотомия или тенодез. Обработка костного ложа большого бугорка плечевой кости и гленоида не производится, так как отсутствует необходимость обеспечения сухожильно-костного сращения. Сложенный втрое тефлоновый войлочный пластырь прошивается по краям с трёх сторон, затем помещается в субакромиальное пространство, где фиксируется двумя якорями к гленоиду и двумя якорями – к большому бугорку плечевой кости [30, 31].

РЕКОНСТРУКЦИЯ ВЕРХНЕЙ КАПСУЛЫ СУХОЖИЛИЕМ ДЛИННОЙ ГОЛОВКИ ДВУГЛАВОЙ МЫШЦЫ ПЛЕЧА

В литературе большое внимание уделяется реконструкции верхней капсулы плечевого сустава с использованием сухожилия длинной головки двуглавой мышцы плеча. Преимуществами данной методики являются наличие трансплантата в месте оперативного вмешательства, отсутствие болезненности в области забора аутотрансплантата, сокращение времени операции и рисков инфицирования, отсутствие дополнительных затрат на искусственные трансплантаты [32].

J.D. Hassebrock и соавт. в 2023 г. опубликовали методику, при которой после ревизии плечевого сустава производится установка якорей медиальнее места прикрепления сухожилий вращательной манжеты плеча к большому бугорку плечевой кости, затем сухожильная культя прошивается и подтягивается на минимально возможное расстояние к месту его прикрепления, после чего производится её фиксация. Далее через минидоступ производятся тенотомия и резекция сухожилия длинной головки двуглавой мышцы плеча. Отрезок проксимального сухожилия длиной 3 см помещается в пресс, где производится его распластывание таким образом, чтобы образовался «пластырь» размером 2 × 3 см. Данный пластырь затем помещается в полость сустава, где фиксируется поверх якорных швов к сухожильной культе и большому бугорку плечевой кости [33].

J. Barth и соавт. выполняли реконструкцию верхней капсулы при помощи сухожилия длинной головки двуглавой мышцы плеча. Был проведён анализ результатов лечения 24 пациентов. У всех пациентов оценивались диапазон движений, интенсивность болевого синдрома и результаты по шкале ASES, а также состоятельность трансплантата – при помощи ультразвукового исследования через 1 год после операции. Болевой синдром уменьшился с 5,2 до 1,4 балла, функция по шкале ASES улучшилась с 45 до 80 баллов, состоятельность трансплантата наблюдалась у 91,7 % пациентов [34].

Y.S. Kim и соавт. опубликовали методику внутрисуставной тенотомии длинной головки двуглавой мышцы плеча без отсечения её от суставной губы и дальнейшей транспозиции сухожилия с фиксацией на большом бугорке плечевой кости. Данная методика способствует низведению головки плечевой кости [35]. Второй вариант, предложенный D. Kim и соавт., заключался в использовании как внутрисуставной так и внесуставной части сухожилия длинной головки бицепса. Средняя длина сухожилия составляла 14 см, далее оно располагалось в форме «тройного пучка» на головке плечевой кости (проксимальная часть сухожилия фиксируется на большом бугорке, затем свободный конец проводится обратно к суставному отростку лопатки, следующим этапом проводится обратно и фиксируется в задней части большого бугорка плечевой кости). Однако клинические результаты данного исследования не опубликованы [36].

В 2023 г. J.J. Heifner и соавт. описали свой подход к лечению разрыва вращательной манжеты плеча, заключающийся в комбинации пластики капсулы с пластикой дефекта сухожилия надостной мышцы. При комбинированной реконструкции верхней капсулы и вращательной манжеты плеча используются двойные трансплантаты, которые имеют общее латеральное прикрепление на большом бугорке плечевой кости, но раздельное прикрепление медиальных частей. Эта конструкция позволяет трансплантатам функционировать независимо друг от друга. Прикрепляясь к верхней части сустава, верхняя капсула является механическим препятствием для верхнего подвывиха головки плечевой кости. Трансплантат вращательной манжеты плеча прикрепляется к ретрагированной культе сухожилия надостной мышцы для восстановления поперечной силовой пары и поддержания стабильной точки опоры. В качестве трансплантатов автор использует аллотрансплантаты бесклеточного дермального матрикса. Хирургическая техника не имеет особенностей, за исключением последовательности фиксации трансплантатов: первым этапом выполняется сухожильная пластика, далее – пластика капсулы [37].

РЕКОНСТРУКЦИЯ ВЕРХНЕЙ КАПСУЛЫ АУТОСУХОЖИЛИЕМ ПОДОШВЕННОЙ МЫШЦЫ

S.G. Park и соавт. в 2022 г. описали способ, при котором производится восстановление сухожилий вращательной манжеты плеча методом замещения сухожильного дефекта аутосухожилием подошвенной мышцы. Сухожилие подошвенной мышцы после его забора подготавливается в форме буквы Y. Одна точка, соответствующая основанию буквы Y, крепится к большому бугорку плечевой кости с помощью интерферентного винта, а оставшиеся две вшиваются в культю вращательной манжеты и затем возвращаются к латеральному отделу и также фиксируются к большому бугорку плечевой кости анкерами. Таким образом, формируется сухожильный мост, берущий на себя функцию передачи мышечных усилий, стабилизирующих головку плечевой кости [38].

РЕКОНСТРУКЦИЯ ВЕРХНЕЙ КАПСУЛЫ АУТОТРАНСПЛАНТАТОМ ПЯТОЧНОГО СУХОЖИЛИЯ

В 2021 г. K.W. Lee и соавт. описали свой вариант пластики верхней капсулы, основным отличием которого является использование аллотрансплантата пяточного сухожилия вместо аутотрансплантата из широкой фасции бедра. В качестве преимуществ данного способа авторы называют отсутствие болей и вероятных осложнений в области забора трансплантата, его значительную толщину, исключающую потерю времени на дополнительную подготовку трансплантата и значительную механическую прочность сухожилия [39]. E. Kholinne и соавт. оценили результаты лечения 6 пациентов, которым была выполнена пластика верхней капсулы при помощи аллотрансплантата из пяточного сухожилия. Медиально трансплантат фиксировался к ретрагированным сухожилиям, латерально костный блок пяточного сухожилия фиксировался к большому бугорку плечевой кости при помощи кортикального винта. Средний срок наблюдения составил 14,5 месяца. Акромионо-плечевой интервал увеличился с 3,9 ± 0,8 до 6,4 ± 2,2 мм. Сгибание увеличились с 98 ± 36 до 123 ± 20°. Несостоятельность трансплантата наблюдалась у одного пациента через 3 месяца после операции [40]. M.S. Joo и соавт. в 2023 г. представили свой взгляд на пластику верхней капсулы. По данным ретроспективного анализа осложнений, ведущим является отрыв трансплантата, частота которого достигает 30 %. Для профилактики данного осложнения автор использует аллотрансплантат пяточного сухожилия с костным блоком размером 1 см. При фиксации на большом бугорке используется модифицированная техника «замочной скважины», представляющая собой формирование 10 мм канала в передне-заднем направлении, пропиливание большого бугорка до этого канала и введение в него костного блока аллотрансплантата. Таким образом обеспечивается остеоинтеграция, и сухожилие менее подвержено отрыву [41, 42].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При анализе литературных источников очевидно, что на сегодняшний день значительный интерес исследователей вызывают различные способы реконструкции верхней капсулы плечевого сустава при лечении пациентов с массивными разрывами сухожилий вращательной манжеты плеча. Восстановление правильной биомеханики плечевого сустава и центрирование головки плечевой кости относительно гленоида достижимо разными способами, количество которых продолжает увеличиваться с развитием этого направления хирургии. Но несмотря на большое количество предложенных вариантов, процент неудовлетворительных исходов лечения всё ещё достаточно высок. Не существует единого мнения в выборе трансплантатов и способов их фиксации. Количество современных публикаций показывает, что проблема совершенствования лечения таких пациентов в настоящее время является актуальной и требует углублённого исследования.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Yamamoto A, Takagishi K, Osawa T, Yanagawa T, Nakajima D, Shitara H, et al. Prevalence and risk factors of a rotator cuff tear in the general population. *J Shoulder Elb Surg.* 2010; 19: 116-120. doi: 10.1016/j.jse.2009.04.006

2. Dang A, Davies M. Rotator cuff disease: Treatment options and considerations. *Sports Med Arthrosc Rev.* 2018; 26: 129-133. doi: 10.1097/JSA.0000000000000207

3. Teunis T, Lubberts B, Reilly BT, Ring D. A systematic review and pooled analysis of the prevalence of rotator cuff disease with increasing age. *J Shoulder Elb Surg.* 2014; 23: 1913-1921. doi: 10.1016/j.jse.2014.08.001

4. Llopis E, Perez A, Cerezal L. Rotator cuff. In: Hodler J, Kubik-Huch RA, von Schulthess GK (eds). *Musculoskeletal diseases 2021–2024: Diagnostic imaging*. Cham (CH): Springer; 2021.

5. Li H, Zhou B, Tang K. Advancement in arthroscopic superior capsular reconstruction for irreparable massive rotator cuff tear. *Orthop Surg.* 2021; 13(7): 1951-1959. doi: 10.1111/os.12976

6. Gulotta LV, Craig EV. *Massive rotator cuff tears: Diagnosis and management.* 2015.

7. Jones CR, Snyder SJ. Massive irreparable rotator cuff tears: A solution that bridges the gap. *Sports Med Arthroscopy Rev.* 2015; 23: 130-138. doi: 10.1097/JSA.0000000000000064

8. Hirahara AM, Andersen WJ, Panero AJ. Ultrasound assessment of the superior capsular reconstruction with dermal allograft: An evaluation of graft thickness and vascularity. *Arthroscopy.* 2019; 35(12): 3194-3202. doi: 10.1016/j.arthro.2019.06.042

9. Snyder SJ, Arnoczky SP, Bond JL, Dopirak R. Histologic evaluation of a biopsy specimen obtained 3 months after rotator cuff augmentation with GraftJacket matrix. *Arthroscopy.* 2009; 25(3): 329-333. doi: 10.1016/j.arthro.2008.05.023

10. Barber FA, Herbert MA, Boothby MH. Ultimate tensile failure loads of a human dermal allograft rotator cuff augmentation. *Arthroscopy.* 2008; 24(1): 20-24. doi: 10.1016/j.arthro.2007.07.013

11. Lewington MR, Ferguson DP, Smith TD, Burks R, Coady C, Wong IHB. Graft utilization in the bridging reconstruction of irreparable rotator cuff tears: A systematic review. *Am J Sports Med.* 2017; 45(13): 3149-3157. doi: 10.1177/0363546517694355

12. Mihata T. Clinical outcomes of arthroscopic superior capsule reconstruction in patients aged over 70 with irreparable rotator cuff tears. *JSES Int.* 2024; 8(3): 667-672. doi: 10.1016/j.jseint.2024.01.012

13. Mihata T, Lee TQ, Watanabe C, Fukunishi K, Ohue M, Tsujimura T, et al. Clinical results of arthroscopic superior capsule reconstruction for irreparable rotator cuff tears. *Arthroscopy*. 2013; 29: 459-470. doi: 10.1016/j.arthro.2012.10.022

14. Mihata T, Lee TQ, Fukunishi K, Itami Y, Fujisawa Y, Kawakami T, et al. Return to sports and physical work after arthroscopic superior capsule reconstruction among patients with irreparable rotator cuff tears. *Am J Sports Med.* 2018; 46: 1077-1083. doi: 10.1177/0363546517753387

15. Mihata T, Lee TQ, Hasegawa A, Fukunishi K, Kawakami T, Fujisawa Y, et al. Arthroscopic superior capsule reconstruction for irreparable rotator cuff tears: Comparison of clinical outcomes with and without subscapularis tear. *Am J Sports Med.* 2020; 48: 3429-3438. doi: 10.1177/0363546520965993

16. Mihata T, Lee TQ, Hasegawa A, Fukunishi K, Kawakami T, Fujisawa Y, et al. Five-year follow-up of arthroscopic superior capsule reconstruction for irreparable rotator cuff tears. *J Bone Joint Surg Am.* 2019; 101: 1921-1930. doi: 10.2106/JBJS.19.00135

17. Mihata T, Watanabe C, Fukunishi K, Ohue M, Tsujimura T, Fujiwara K, et al. Functional and structural outcomes of single-row versus double-row versus combined double-row and suture-bridge repair for rotator cuff tears. *Am J Sports Med.* 2011; 39: 2091-2098. doi: 10.1177/0363546511415660

18. Claro R, Fonte H. Superior capsular reconstruction: Current evidence and limits. *EFORT Open Rev.* 2023; 8(5): 340-350. doi: 10.1530/EOR-23-0027

19. Ângelo ACLPG, de Campos Azevedo CI. Minimally invasive fascia lata harvesting in ASCR does not produce significant donor site morbidity. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2019; 27(1): 245-250. doi: 10.1007/s00167-018-5085-1

20. Burkhart SS, Denard PJ, Adams CR, Brady PC, Hartzler RU. Arthroscopic superior capsular reconstruction for massive irreparable rotator cuff repair. *Arthrosc Tech.* 2016; 5(6): e1407-e1418. doi: 10.1016/j.eats.2016.08.024

21. Kim JO, Lee JH, Kim KS, Ji JH, Koh SJ, Lee JH. Rotator cuff bridging repair using acellular dermal matrix in large to massive rotator cuff tears: Histologic and clinical analysis. *J Shoulder Elbow Surg.* 2017; 26(11): 1897-1907. doi: 10.1016/j.jse.2017.04.010

22. Denard PJ, Brady PC, Adams CR, Tokish JM, Burkhart SS. Preliminary results of arthroscopic superior capsule reconstruction with dermal allograft. *Arthroscopy*, 2018; 34: 93-99. doi: 10.1016/j.arthro.2017.08.265

23. Pennington WT, Bartz BA, Pauli JM, Walker CE, Schmidt W. Arthroscopic superior capsular reconstruction with acellular dermal allograft for the treatment of massive irreparable rotator cuff tears: Short-term clinical outcomes and the radiographic parameter of superior capsular distance. *Arthroscopy*, 2018; 34: 1764-1773. doi: 10.1016/j.arthro.2018.01.009

24. Mihata T, Bui CNH, Akeda M, Cavagnaro MA, Kuenzler M, Peterson AB, et al. A biomechanical cadaveric study comparing superior capsule reconstruction using fascia lata allograft with human dermal allograft for irreparable rotator cuff tear. *J Shoulder Elbow Surg*. 2017; 26: 2158-2166. doi: 10.1016/j.jse.2017.07.019

25. Chiu CH, Weng CJ, Tang HC, Yang CP, Chang SS, Hsu KY, et al. Anatomical dermal allograft and autologous biceps long head superior capsule reconstruction for irreparable posterosuperior rotator cuff tears. *Arthrosc Tech.* 2021; 10(10): e2237-e2243. doi: 10.1016/j.eats.2021.05.028

26. Li H, Chen G, Fang R, Zhou D, Wang K, Peng C, et al. Arthroscopic rotator cuff repair with superior fulcrum reconstruction using autologous ipsilateral peroneus longus tendon for irreparable massive rotator cuff tears. *Arthrosc Tech.* 2023; 12(11): e2035-e2040. doi: 10.1016/j.eats.2023.07.024

27. Чирков Н.Н., Яковлев В.Н., Алексеева А.В., Пашенцев Ю.А. Дифференцированный подход к хирургическому лечению посттравматических повреждений вращательной манжеты плеча. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки.* 2021; 4(60): 36-49. [Chirkov NN, Yakovlev VN, Alekseeva AV, Pashentsev YuA. A differential approach to surgical treatment of post-traumatic injuries of the rotator cuff. *University Proceedings. Volga Region. Medical Sciences.* 2021; 4(60): 36-49. (In Russ.)]. doi: 10.21685/2072-3032-2021-4-4

28. Крылов В.А. *Способ пластики верхней части капсулы плечевого сустава:* Патент № 2811821 Рос. Федерация; МПК A61B 17/00, A61F 2/08. № 2023110817; заявл. 25.04.2023: опубл. 17.01.2024. [Krylov VA. *Method of plastic surgery of the upper part of the shoulder joint capsule:* Patent No. 2811821 of the Russian Federation. 2024. (In Russ.)].

29. Крылов В.А. *Способ реконструкции вращательной манжеты плечевого сустава при массивных невосстанови-*

мых повреждениях, сопровождающихся артропатией: Патент № 2793881 Рос. Федерация; МПК A61B 17/00. № 2022128807; заявл. 07.11.2022: опубл. 07.04.2023. [Krylov VA. *Method for reconstructing the rotator cuff in case of massive irreparable injuries accompanied by arthropathy:* Patent No. 2793881 of the Russian Federation. 2023. (In Russ.)].

30. Okamura K, Makihara T. Cable graft: Simple superior capsule reconstruction technique for irreparable rotator cuff tear using a Teflon patch. *Arthrosc Tech.* 2020; 9(4): e575-e580. doi: 10.1016/j.eats.2020.01.009

31. Takayama K, Ito H. Clinical effectiveness of superior capsular reconstruction using Teflon felt graft in the elderly for pain relief: A comparison using tensor fascia lata graft. *JSES Int.* 2023; 7(6): 2379-2388. doi: 10.1016/j.jseint.2023.07.006

32. Chiang CH, Shaw L, Chih WH, Yeh ML, Su WR. Arthroscopic rotator cuff repair combined with modified superior capsule reconstruction as reinforcement by the long head of the biceps. *Arthrosc Tech.* 2019; 8(10): e1223-e1231. doi: 10.1016/j.eats.2019.06.01

33. Hassebrock JD, McCarthy TP, Sylvia SM, Stokes DJ, Shinsako KK, Tokish JM, et al. Rotator cuff repair with knotless all-suture medial row anchors and biceps autograft augmentation. *Arthrosc Tech.* 2023; 12(8): e1361-e1367. doi: 10.1016/j.eats.2023.04.005

34. Barth J, Olmos MI, Swan J, Barthelemy R, Delsol P, Boutsiadis A. Superior capsular reconstruction with the long head of the biceps autograft prevents infraspinatus retear in massive posterosuperior retracted rotator cuff tears. *Am J Sports Med.* 2020; 48: 1430-1438. doi: 10.1177/0363546520912220

35. Kim YS, Lee HJ, Park I, Sung GY, Kim DJ, Kim JH. Arthroscopic *in situ* superior capsular reconstruction using the long head of the biceps tendon. *Arthrosc Tech.* 2018; 7(2): e97-e103. doi: 10.1016/j.eats.2017.08.058

36. Kim D, Jang Y, Park J, On M. Arthroscopic superior capsular reconstruction with biceps autograft: Snake technique. *Arthrosc Tech*. 2019; 8(10): e1085-e1092. doi: 10.1016/j.eats.2019.05.023

37. Heifner JJ, Grewal G, Sakalian PA, Hommen JP. Treatment of irreparable rotator cuff tear with dual graft reconstruction: A case report and technique description. *JSES Rev Rep Tech.* 2023; 3(3): 416-422. doi: 10.1016/j.xrrt.2023.04.007

38. Park SG, Seok HG. Use of an arthroscopic bridging graft for irreparable rotator cuff tears with the modified Mason – Allen stitch using a tendon autograft. *Arthrosc Tech.* 2022; 11(5): e857-e861. doi: 10.1016/j.eats.2021.12.044

39. Lee KW, Choi HG, Yang DS, Yu YT, Kim WS, Choy WS. Achilles tendon allograft for superior capsule reconstruction in irreparable massive rotator cuff tears. *Clin Orthop Surg*. 2021; 13(3): 395-405. doi: 10.4055/cios20284

40. Kholinne E, Sun Y, Kwak JM, Kim H, Koh KH, Jeon IH. Failure rate after superior capsular reconstruction with Achilles tendon-bone allograft for irreparable rotator cuff tears. *Orthop J Sports Med*. 2021; 9(5): 23259671211002280. doi: 10.1177/23259671211002280

41. Lee SJ, Min YK. Can inadequate acromiohumeral distance improvement and poor posterior remnant tissue be the predictive factors of re-tear? Preliminary outcomes of arthroscopic superior capsular reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2018; 26(7): 2205-2213. doi: 10.1007/s00167-018-4912-8

42. Joo MS, Lee SH, Kim DK, Cho YH, Kim JW. Outcomes after superior capsular reconstruction with an Achilles tendon-bone allograft using the modified keyhole technique: A 2-year follow-up of a novel technique for irreparable rotator cuff tears. *Orthop J Sports Med*. 2023; 11(7): 23259671231182327. doi: 10.1177/23259671231182327

Сведения об авторах

Слайковский Елисей Николаевич – аспирант, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: slaykovskiy@gmail.com, https://orcid.org/0009-0007-7113-2392

Куклин Игорь Александрович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: irkuklin@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-4733-9178

Меньшова Дарья Васильевна – младший научный сотрудник, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: menschovadar@yandex.ru; https://orcid.org/0000-0003-1471-2482

Information about the authors

Elisey N. Slaykovskiy – Postgraduate, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: slaykovskiy@gmail.com, https://orcid.org/0009-0007-7113-2392

Igor A. Kuklin – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: irkuklin@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-4733-9178

Darya V. Menshova – Junior Research Officer, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: menschovadar@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-1471-2482

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ
PHARMACOLOGY AND PHARMACY

MITIGATION OF INTESTINAL AUTOFLUORESCENCE ACCUMULATION IN *CAENORHABDITIS ELEGANS* TREATED WITH PLANT-BASED NATURAL PRODUCTS

Salimon S.S. [1],
Marusich E.I. [1],
Leonov S.V. [1, 2],
Pustovalova M.V. [1]

[1] Institute of Future Biophysics, Moscow Institute of Physics and Technology (Institutsky lane 9, Dolgoprudny 141700, Russian Federation)
[2] Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences (Institutskaya str. 3., Pushchino 142290, Russian Federation)

Corresponding author:
Saoban Sunkanmi Salimon,
e-mail: salimon.s@phystech.edu

ABSTRACT

Introduction. *Aging is a complex process related with the gradual diminution in cellular and physiological functions. The geroprotective effect of 10 biologically active substances (BASs) – rutin, squalene, kaempferol, biochanin A, ursolic acid, chlorogenic acid, baicalin, mangiferin, quercetin and trans-cinnamic acid and 5 crude extracts (Ginkgo biloba L., Pulmonaria officinalis L., Scutellaria baicalensis Georgi, Hedysarum neglectum Ledeb. and Panax ginseng C.A. Mey) isolated from medicinal plants of Altai Region of Russia were evaluated for their influence on the accumulation of intestinal autofluorescence material (IAM) using Caenorhabditis elegans model.*
The aim of the study. *IAM facilitates age-related decline and is a non-intrusive biomarker of senescence. This study assessed the impact of different bioactive substances in reducing the build-up of IAM using C. elegans model.*
Materials and methods. *Gravid nematodes were synchronized, and then seeded in 96-well plates to develop to L4-stage. Each BAS in 200 μM, 100 μM, 50 μM and 10 μM concentrations and extracts with a tenth, hundredth and thousandth times-dilution were administered to each well in 6 replicates for each treatment group. On incubation days 1, 5, and 15, adult L4 nematodes underwent spectrofluorometric analysis to determine the effect of the BASs and extracts on IAM accumulation.*
Results. *It was found that quercetin, kaempferol, baicalin, mangiferin, G. biloba and P. officinalis extracts exhibited the most profound inhibition of IAM accumulation compared to the control. It was noteworthy that the 10 μM concentration of mangiferin significantly inhibited IAM accumulation in a manner comparable to the 200 μM of baicalin and 100 μM of quercetin. In addition, the crude extracts of G. biloba and P. officinalis respectively exhibited 2.8- and 1.8-fold decrease in IAM accumulation.*
Discussion. *The accretion of IAM is inversely proportional to longevity. Thus, the BASs identified in this study to modulate IAM accumulation could serve as important precursors or active ingredients for the pharmacosynthesis of geroprotective drugs in future research.*

Key words: *aging, bioactive substances, Caenorhabditis elegans, intestinal autofluorescence*

Received: 01.05.2024
Accepted: 13.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Salimon S.S., Marusich E.I., Leonov S.V., Pustovalova M.V. Mitigation of intestinal autofluoresceяnce accumulation in Caenorhabditis elegans treated with plant-based natural products. *Acta biomedica scientifica.* 2024; 9(6): 184-194. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.19

СНИЖЕНИЕ НАКОПЛЕНИЯ АУТОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ КИШЕЧНИКА У *CAENORHABDITIS ELEGANS* ПРИ ЛЕЧЕНИИ НАТУРАЛЬНЫМИ ПРОДУКТАМИ НА РАСТИТЕЛЬНОЙ ОСНОВЕ

Салимон С.С. [1],
Марусич Е.И. [1],
Леонов С.В. [1, 2],
Пустовалова М.В. [1]

[1] Институт биофизики будущего, ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» (141700, г. Долгопрудный, Институтский пер., 9, Россия)
[2] Институт биофизики клетки Российской академии наук (142290, г. Пущино, ул. Институтская, 3)

Автор, ответственный за переписку:
Саобан Сунканми Салимон,
e-mail: salimon.s@phystech.edu

РЕЗЮМЕ

Введение. *Старение – сложный процесс, связанный с постепенным снижением клеточных и физиологических функций. Геропротекторное действие 10 биологически активных веществ (БАВ) (рутин, сквален, кемпферол, биоханин А, урсоловая кислота, хлорогеновая кислота, байкалин, мангиферин, кверцетин и транскоричная кислота) и 5 неочищенных экстрактов (гинкго билоба, медуница лекарственная, шлемник байкальский, копеечник забытый и женьшень обыкновенный), выделенных из лекарственных растений Алтайского края России, были оценены на предмет их влияния на накопление кишечного аутофлуоресцентного материала (КАМ) с использованием модели Caenorhabditis elegans.*

Цель. *Кишечный аутофлуоресцентный материал способствует возрастному снижению и является неинвазивным биомаркером старения. В этом исследовании оценивалось влияние различных биоактивных веществ на снижение накопления КАМ с использованием модели C. elegans.*

Материалы и методы. *Беременные нематоды были синхронизированы, а затем посеяны в 96-луночные планшеты для развития до стадии L4. Каждый БАВ в концентрациях 200, 100, 50 и 10 мкмоль и экстракты с разбавлением в десять, сто и тысячу раз вводились в каждую лунку в 6 повторениях для каждой группы обработки. На 1-й, 5-й и 15-й дни инкубации взрослые нематоды L4 прошли спектрофлуориметрический анализ для определения влияния БАВ и экстрактов на накопление КАМ.*

Результаты. *Было обнаружено, что кверцетин, кемпферол, байкалин, мангиферин, экстракты G. biloba и P. officinalis продемонстрировали наиболее глубокое ингибирование накопления КАМ по сравнению с контролем. Примечательно, что концентрация мангиферина 10 мкмоль значительно ингибировала накопление КАМ, сопоставимое с концентрацией байкалина 200 мкмоль и кверцетина 100 мкмоль. Кроме того, сырые экстракты G. biloba и P. officinalis продемонстрировали соответственно 2,8- и 1,8-кратное снижение накопления КАМ.*

Заключение. *Накопление КАМ обратно пропорционально продолжительности жизни. Таким образом, БАВ, выявленные в этом исследовании для модуляции накопления КАМ, могут служить важными предшественниками или активными ингредиентами для фармакосинтеза геропротекторных препаратов в будущих исследованиях.*

Ключевые слова: *старение, биологически активные вещества, Caenorhabditis elegans, аутофлюоресценция кишечника*

Статья получена: 01.05.2024
Статья принята: 13.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Салимон С.С., Марусич Е.И., Леонов С.В., Пустовалова М.В. Снижение накопления аутофлюоресценции кишечника у Caenorhabditis elegans при лечении натуральными продуктами на растительной основе. *Acta biomedica scientifica.* 2024; 9(6): 184-194. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.19

INTRODUCTION

By 2050, every sixth person in the globe will be over 65 years old, making up 16 % of the overall population, as opposed to 2019, when only 9 %, or every eleventh person lived past this mark [1]. Furthermore, it has been predicted that by 2050, the number of seniors (those over 65) worldwide will triple. As people age in life, there is a change in physical abilities, which may lead to unpleasant experiences, such as a decline in mental capabilities, difficulty in social interactions, or limitation in the types and quality of task execution. These transformations are manifested as one of the several age-related diseases like cardiovascular diseases, cancer, neurodegeneration (Parkinson's, Alzheimer's, and other dementia). The process of aging is intricately linked to the steady decline in physiological and cellular activities [2]. However, current research has shown that food or naturally occurring substances referred to as geroprotectors can slow down, prevent, or even reverse this age-related deterioration [3].

According to recent aging studies, bioactive compounds have exhibited enormous promises for managing even the most severe ailments and may one day replace conventional medications [4]. Nevertheless, the effects of many medicinal plant products on human are largely a mystery, despite the multitudes of research in this area. *G. biloba, P. officinalis, S. baicalensis, H. neglectum* and *P. ginseng* (or their active compounds) are some of the medicinal plants that are often explored for their geroprotective properties [5]. These plants were chosen because of their folkloric usage in the Altai region for the management of various geriatric conditions as well as their established abundance in biologically active substances. The intestinal autofluorescence material (IAM – identified by various scholars as lipofuscin, age-pigment or death fluorescence) is a non-invasive biomarker of senescence that can be monitored to evaluate the geroprotective effect of bioactive substances in animal models over time [6]. It is an intralysosomal waste material with a complex chemical composition including proteins, polyunsaturated fatty acid oxidation products, carbohydrates, and some trace elements (such as Al, Ca, Cu, Fe, Mn, and Zn) in varying concentrations [2]. In mammals and invertebrates, the build-up of IAM has been established as the most persistent and perceptible alteration throughout the aging process [2].

Although, IAM has been reported not to be biodegradable, which is further highlighted by the fact that starving cells with activated autophagy and lysosomal hydrolases are unable to break down or get rid of the pigment [7]. This could be due to the polymerization and cross linking of peptides with aldehydes that results in plastic-like structures resistant to biological degradation thereby leading to bioaccumulation over time [7]. However, there is no consensus regarding the likelihood of lysosomal IAM degeneration or its exocytosis-mediated removal. The most recognizable characteristic of IAM is its fluorescence property, which can be detected through spectrofluorimetric analysis, or laser-scanning microscopy at excitation/emission maxima of 290–420/430–650 nm [2, 8]. The intensity of colour emission changes over time (from immature pigment to mature pigment), which makes it easy to monitor [8]. Short-lived creatures like fruit flies, zebra fish, mice, rats, and nematodes accumulate the IAM at a greater rate than long-lived species thus validating their use as model animals for aging studies. This is particularly because of their highly active mitochondria, which produce more superoxide and hydrogen peroxide radicals than long-lived species [9]. These models make it easier to thoroughly research how newly created medications affect the aging process. However, the model organism *C. elegans* is gaining increasing popularity in these studies because of its numerous advantages. They include short lifespan, easy lab maintenance, transparent body for real-time imaging, advanced genetic, genomic and molecular tools and manipulations, high genetic homology with human, etc.

Autofluorescence has long been recognized as a correlate of aging in *C. elegans* [8]. Similar to mammalian cells, *C. elegans* intestinal cells frequently exhibit intracellular granules of lysosomal origin, which are the primary source of autofluorescence [10]. In this study, 10 biologically active substances (BASs) namely rutin, squalene, kaempferol, biochanin A, ursolic acid, chlorogenic acid, baicalin, mangiferin, quercetin and trans-cinnamic acid isolated from medicinal plants of Altai Region of Russia and 5 crude extracts (*G. biloba*, *P. officinalis*, *S. baicalensis*, *H. neglectum*, and *P. ginseng*) were evaluated for their capacity to delay the onset of aging by monitoring the dynamics of IAM accumulation using *C. elegans* model.

MATERIALS AND METHODS

Reagents and chemicals

Tryptone (Lot No. 1135C419), agar – European type technical grade (Lot No. 0000542402) and peptone were products of VWR Life Science AMRESCO Inc. (Russia), AppliChem GmBH (Germany), and Helicon (Russia), respectively. Tissue culture 96-well plates (TPP, Switzerland), 90 mm Petri dishes (Pertin, Russia), and other chemicals used were of analytical grade, supplied by Thermo-Fisher Scientific Inc. (Russian Federation).

Biologically active substances and crude extracts

Stock solutions of all the BASs (10 mM) and crude extracts were provided by the Laboratory of Bioassay of Natural Nutraceuticals, Kemerovo State University (Russia) and stored at 4 °C. The crude extract of *G. biloba* and *P. ginseng* were prepared by percolation in a solution of 50 % ethanol mixed with water-glycerol (1:1, v/v %); *S. baicalensis* and *H. neglectum* were extracted in a solution of 50 % ethanol and water-propylene glycol (1:1, v/v %); whereas *P. officinalis* was extracted in 50 % ethanol. Then, all extracts were diluted in sterilized deionized water in ten-, hundred- and thousand-times and used in this study. The BASs were dissolved in sterilized deionized water to arrive at the concentrations of 200 μM, 100 μM, 50 μM, and 10 μM of each BAS.

Nematode growth conditions

The nematodes *C. elegans* wildtype N2 Bristol strain was provided by the Swammerdam Institute of Life Sciences, Department of Molecular Biology and Microbial Food Safety, University of Amsterdam (Netherlands). They were seeded with 100 µL of *Escherichia coli* OP50 (Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russia) pre-coated on nematode growth medium (NGM) plates and housed in a Binder Growth Chamber (KBWF 240, GmbH Tuttlingen, Germany) at 20 °C.

Nematodes synchronization

Adult gravid nematodes were synchronized using sodium hypochlorite solution to collect eggs, which were left overnight in S-media to produce L1 nematodes. The young nematodes were inoculated with 100 mg/mL of *Escherichia coli* OP50 and 120 µL of the *C. elegans/E. coli* OP50 solution, were dispensed in 96-well plates, where they were allowed to mature to adult L4 stage. Forty-eight hours later, an aliquot (15 µL) of 1.2 mM 5′-fluoro-2-deoxyuridine (FUDR) was added into each well. Finally, after 24 hours, 15 µL of each BASs and crude extracts at varying concentrations were added to each well to make up a total volume of 150 µL/well. The dynamics of IAM accumulation was evaluated per-treatment group on days 1, 5, and 15. All experiments were conducted with 6 repeats for each treatment condition. The nematode count per well for BASs treatment and the crude extract treatments are shown in Supplementary Tables S1 and S2 respectively.

Intestinal autofluorescence accumulation assay

The level of IAM accumulation was measured spectrofluorimetrically at excitation – emission maxima of 340–430 nm using CLARIOstar® Plus multimodal plate reader (BMG Labtech, Germany). The non-invasive measurement of IAM accumulation was first recorded 24 hours after treatment with the BASs and crude extracts after which the live nematodes were returned to their growth chamber. In the control group, the BASs or crude extracts were replaced with an equal volume of S-media. On days 5 and 15 post-administrations of the BASs and crude extracts, the measurements were repeated. Each experiment was repeated three times.

Statistical data analysis

The data obtained were expressed as the difference between the mean relative fluorescence units-RFU (Supplementary Tables S3–S8) of IAM accumulation at each day of measurement compared to the first day (Equation 1) for the mean value of six replicates per treatment group. The statistical analysis was conducted using Microsoft Office Professional Plus 2021 (Microsoft Corp., USA) and GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software, USA). Using Tukey's *post-hoc* test, the results were considered to be statistically significant at $p < 0.05$ and the error bars on each graph depicts the standard error of means.

$$RRFUdifference = \{MeanRFUforDay5(day15) - meanRFUforDay1\} \quad (1).$$

RESULTS

Dose-dependent mode of BASs influence on IAM accumulation

The administration of 50 µM and 100 µM of rutin significantly ($p < 0.05$) decreased the rate of IAM accumulation by 0.8- and 1.2-folds, respectively, when compared to the control (Fig. 1). In addition, the difference in RFU of IAM accumulation in *C. elegans* treated with 200 µM and 100 µM of quercetin were 1.8- and 2.1-folds, respectively (Fig. 1). Similar to rutin, the administration of 200 µM and 50 µM of kaempferol significantly ($p < 0.05$) decreased the rate of IAM accumulation when compared to the control (Fig. 1).

Furthermore, the 200 µM of baicalin and chlorogenic acid facilitated a reduction in IAM accumulation whereas the lower doses did not (Fig. 1). The treatment with squalene and biochanin A at all experimental doses did not have any significant effect in the rate of IAM accumulation when compared to the control (Fig. 2). Although, the accumulation of IAM was decreased at all doses investigated for ursolic acid, trans-cinnamic acid and mangiferin (Fig. 2), the decreases by mangiferin at all treatment doses (Fig. 2) were particularly noteworthy. Furthermore, the efficacy of kaempferol, baicalin and chlorogenic acid were only significant ($p < 0.05$) at 200 µM, whereas quercetin was more effective at 100 µM (Fig. 2). Mangiferin was the only compound to exhibit a significant ($p < 0.05$) decrease in IAM accumulation at the extremely low dose of 10 µM (Fig. 2). In addition, the IAM accumulation lowering effect of quercetin at 100 and 200 µM, kaempferol, baicalin and chlorogenic acid at 200 µM, and mangiferin at 50 and 10 µM, were evidently visible from day 5 of measurement compared to the control.

Lowering of IAM signals in the presence of medicinal plants extracts

Next, the 10-fold dilution of *G. biloba* and 1000-fold dilution of *P. officinalis* significantly ($p < 0.05$) decreased the accretion of IAM by 2.8- and 1.8-folds, respectively (Fig. 3). *S. baicalensis* at all treatment doses did not have a significant ($p < 0.05$) effect on the rate of IAM accumulation, when compared to the control (Fig. 3). In addition, *C. elegans* pretreated with the 100-fold dilution concentration of *H. neglectum* and 10-fold dilution concentration of *P. ginseng* exhibited 75 and 50 % decrease in IAM accumulation, respectively (Fig. 3).

Relative to the dynamics of IAM accumulation, the highest (10-fold dilution) concentration of *G. biloba* exhibited the most significant ($p < 0.05$) decrease in the rate of IAM accumulation while the lower doses were ineffective (Supplementary Table S8). In contrast, the lowest (1000-fold dilution) concentration of *P. officinalis* was required to produce a similar IAM lowering effect (Supplementary Table S8). However, the 10-fold dilution concentration of *P. ginseng* exhibited the most significant decrease in IAM accumulation relative to the control. *G. biloba* produced a swift effect, noticeable from day 5 whereas the effect of *P. officinalis* was not evident until day 15 (Fig. 3).

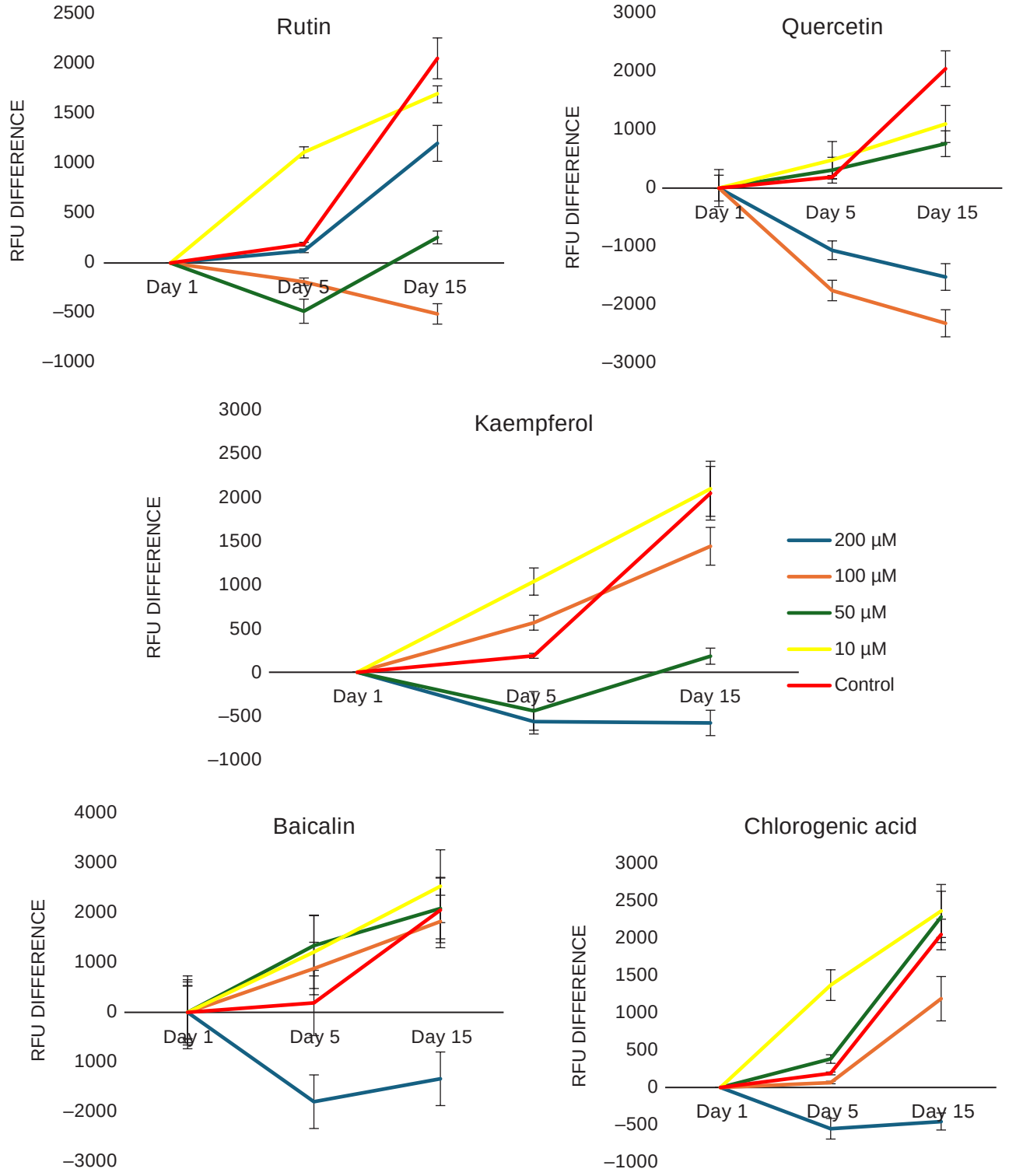


FIG. 1.

Effect of rutin, quercetin, kaempferol, baicalin, and chlorogenic acid on IAM in C. elegans. Rutin, quercetin, kaempferol, baicalin, and chlorogenic acid were added to C. elegans in each well of 96-well plate in concentrations 10 μM, 50 μM, 100 μM, and 200 μM. The IAM was measured on days 1, 5, and 15 after treatment with BASs. The IAM accumulation results were presented as a difference value between the mean RFU of 6 replicates on days 5 and 15 of measurement, compared to the RFU value on day 1.

Comparison of the inhibitory effect of the most effective BASs and extracts during *C. elegans* adulthood

The rate of IAM inhibition exhibited by the 200 μM of quercetin, kaempferol, baicalin, and mangiferin on day 15 of adulthood were 19.94 %, 18.88 %, 20.60 %, and 43.41 %, respectively, when compared to the control (Fig. 4). In addition, the crude extracts of *G. biloba* and *P. ginseng* exhibited 16.21 and 24.12 % inhibition of IAM accumulation respectively (Fig. 4).

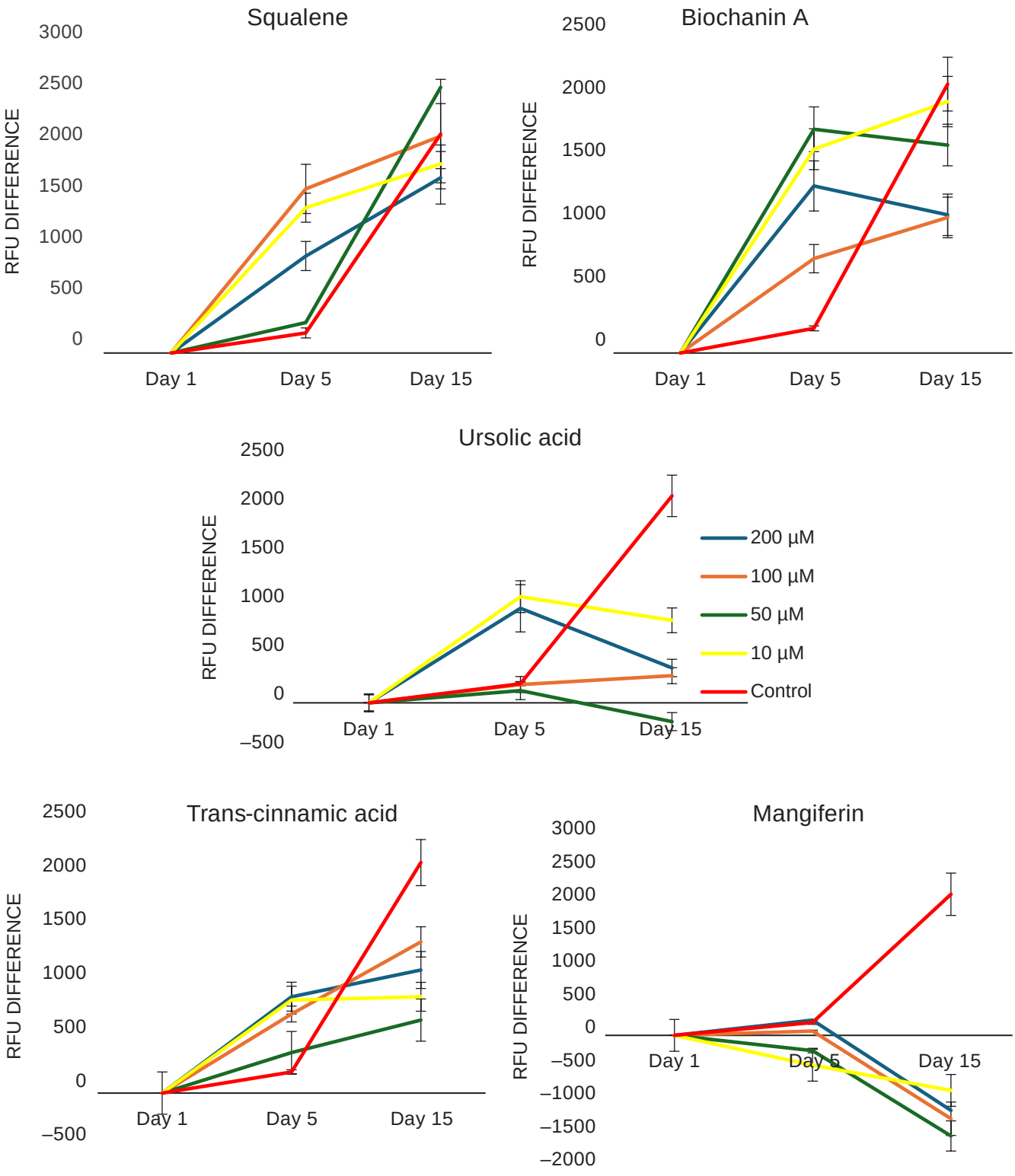


FIG. 2.

Effect of squalene, biochanin A, ursolic acid, trans-cinnamic acid, and mangiferin on IAM accumulation in C. elegans. Squalene, biochanin A, ursolic acid, trans-cinnamic acid, and mangiferin were added to C. elegans in each well of 96-well plate in concentrations 10 μM, 50 μM, 100 μM, and 200 μM. The IAM were measured on days 1, 5, and 15 after treatment with BASs. The IAM accumulation results were presented as a difference value between the mean RFU of 6 replicates on days 5 and 15 of measurement, compared to day 1 value.

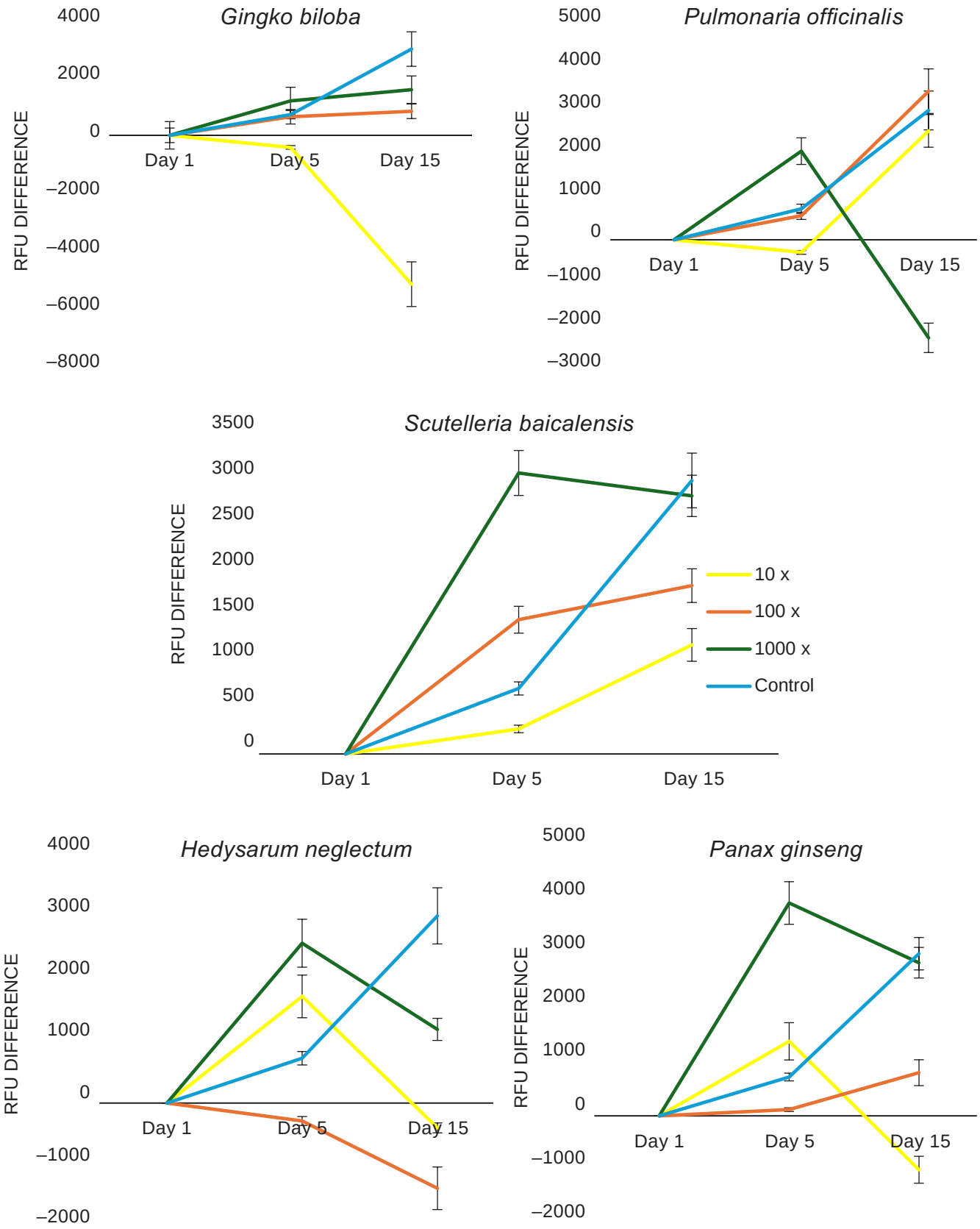


FIG. 3.

Effect of the crude extracts on IAM accumulation in C. elegans. The result of IAM accumulation was presented as a difference between day 1 and days 5 or 15 after treatment of nematodes with 10-, 100- and 1000-fold dilution concentrations of extracts isolated from G. biloba, P. officinalis, S. baicalensis, H. neglectum, and P. ginseng plants. The data represents the mean ± standard error of means for six replicates and are considered to be statistically significant at $p < 0.05$.

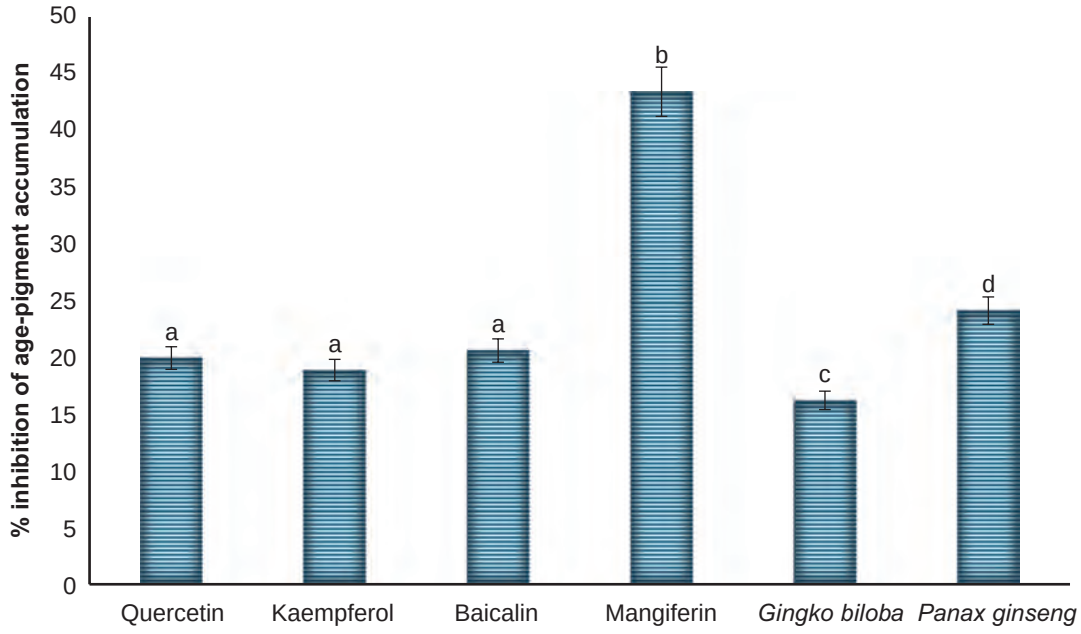


FIG. 4.

Comparison of the percentage inhibitory effect of the most efficacious BASs and extracts on age-pigment accumulation in C. elegans body on day 15 of treatment. The percentage inhibition of IAM accumulation by BASs or extracts from medicinal plants were computed relative to the control group of nematodes at the same conditions on day 15 of treatment.

DISCUSSION

Several research have shown that plant-derived nutraceuticals can increase the average lifespan of *C. elegans* [11, 12]. Also, experimental data suggests that the accretion of IAM which is inversely proportional to longevity can be modulated [13]. A cell culture experiment revealed that IAM formation was hampered by exposure to iron chelators, antioxidants and 8 % oxygen medium. In contrast, the production rate of IAM was accelerated by oxidative stressors (such as UV lights, free radicals and heat), as well as the exposure to extremely low-molecular-weight iron compounds and 40 % oxygen. A steady increase in the intracellular build-up of IAM has been reported to proliferate oxidative injury in cells via the disruption of lysosomal activity, lysosomal hemochromatosis, causing a decline in the antioxidant defense system, dysfunctional mitochondria and cell death [2]. Consequently, any substance that can slow down the rate of accretion of the IAM would make a good therapeutic option for healthy aging.

The BASs and plant extracts adopted in this study are potential geroprotectors with their influence on longevity, antioxidant, and other age-related ailments already established in open scientific literature. For instance, quercetin was reported to exhibit a significant extension of lifespan, stimulate motility in heat-stressed and aged nematodes *via* the modulation of *hsf-1* activity, p38-MAPK and IIS pathways [14]. Baicalein has been shown to influence longevity and stress tolerance in *C. elegans* via *skn-1*, whereas it does not affect *daf-16* [15]. Chlorogenic acid and its isomers (4-caffeoylquinic acid and 5-caffeoylquinic acid) acted on the IIS pathway's upstream of *akt*, and then its life-extending and anti-aging properties were primarily mediated through *daf-16* and its downstream stress factors, *hif-1*, *skn-1*, and *hsf-1* [16]. The life extension and oxidative stress tolerance effect of trans-cinnamic acid was also reported by A.M. Fedorova et al. [17]. *G. biloba* has been reported to prevent mitochondrial dysfunction through the suppression of caspase-9 activation, mitochondrial ROS generation as well as the expression of toll-like receptors thereby mitigating cell necrosis [18]. Similarly, various extracts of ginseng have been reported to sustain healthy aging and lifespan in *C. elegans* [19].

The aggregation of the aging marker IAM increases with time which can be aggressive in a number of age-related debilitating diseases, thus leading to cellular and organofunctional deterioration [2]. Hence, our research was designed to investigate the influence of our BASs and crude extracts on the dynamics of IAM accumulation.

The results of our study suggests that the BASs – quercetin, kaempferol, baicalin and mangiferin as well as the crude extracts of *G. biloba* and *P. officinalis* exhibited the most profound effect in the lowering of IAM accumulation albeit at varying concentrations. In contrast, our study could not find a substantial amount of evidence to support the effectiveness of rutin and squalene as they stimulated the process of IAM production while biochanin A was rather inconclusive.

Furthermore, during aging, there is an unwanted decline in the rate of auto-phagocytosis, proteolysis, lysosomal degradation, mitochondrial function, exocytosis, and lipid metabolism all of which partly or in combination promotes the intracellular aggregation of the IAM [20]. Quercetin, a prominent food antioxidant, was able to mitigate the accretion of IAM by 2.1-folds which was consistent with the findings by A. Kampkötter et al. [21]. The amelio-

rative effect of quercetin on mitochondrial function and lipid metabolism has been well established as it can restore mitochondrial membrane potential, scavenge reactive oxygen species, and stimulate AMP-activated protein kinase (AMPK) activity [22]. Also, quercetin has been attributed with the restoration of lysosomal function and autophagy flux in pancreatic β-cells through the modulation of lysosomal membrane permeability [23]. Thus, the reversal of lysosomal dysfunction, improvement of lipid metabolism, stimulation of mitochondrial function and autophagocytosis could be some of the plausible mechanisms responsible for the effective reduction in IAM accumulation exhibited by quercetin as early as day 5. The steady decline up to day 15 suggests that the rate of elimination exceeds the rate of accumulation, resulting in a net offset of the IAM. Both *in vivo* and *in vitro* studies suggests that the activation of AMPK facilitates lipolysis and suppresses lipid biosynthesis. *Scutellaria baicalensis* and its active constituent baicalin play integral role in the prevention and management of metabolic syndrome through the upregulation of the AMPK-facilitated modulation of glucose and lipid metabolism [24]. Similarly, kaempferol in combination with cinnamaldehyde ameliorated lipid metabolism disorders via the activation of AMPK. Thus, kaempferol and baicalin might have acted to subjugate the accretion of IAM via the regulation of lipid metabolism. Also, baicalin exhibits iron-chelating property thus, precluding iron overloading which promotes IAM production [25]. The IAM accumulation mitigatory effect exhibited by kaempferol in our study corroborates the findings by A. Kampkötter et al. [21] where treatment with fisetin and kaempferol led to a reduction in IAM accumulation.

The tremendous health benefit of mangiferin has been reported, ranging from antioxidative, antiaging, antidiabetic, immunomodulatory, antiviral amongst others [26]. Mangiferin shields the cell from oxidative stress through the expression of antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and mitigates lipid peroxidation [26]. Also, mangiferin stimulates the production of proteins such as cytochrome C oxidase subunit 1, important for mitochondrial biogenesis and suppresses the production of proteins such as acetyl-coA carboxylase 1, integral for lipogenesis [27]. Hence, the protective effect of mangiferin towards the aggregation of IAM particularly at the lowest concentration (10 μM) implies that it must have acted through multiple mechanisms. Also, it can be adduced from our findings that a trace amount is enough to stimulate the myriads of molecular interventions critical for the inhibition of IAM biogenesis including the restoration of AMPK-mediated autophaghy, oxidative balance, lysosomal and mitochondrial function, modulation of lipid and carbohydrate metabolism [22]. The incapability of rutin (a glycosylated variant of quercetin – quercetin-3-O-rutinoside) to delay the accumulation of IAM has also been reported by A. Kampkötter et al. [21]. This could be attributed to the absence of more reactive centers in rutin, thus reducing its antioxidant potential, when compared to its aglycone variant quercetin. However, this is in contrast to our findings where the 100 μM of rutin significantly reduced the rate of IAM accumulation.

Also, the ineffectiveness of squalene (a long chain fatty acid-$C_{30}H_{50}$ and precursor for cholesterol synthesis) could be due to the absence of the cholesterol-synthesis branch of the mevalonate pathway in *C. elegans* [28]. This could lead to bioaccumulation and probably serve as lipid source for IAM production, hence the increased production reported in this study. Unlike rutin and squalene, the geroprotective effect of biochanin A is still unclear. However, the solubility and bioavailability of biochanin A has been reported and its ineffectiveness in the mitigation of IAM accumulation could simply be attributed to its poor absorption by the nematodes to elicit its biological activity.

Ursolic acid and trans-cinnamic acid were able to slow down the rate of IAM accumulation at all doses investigated. However, their effects were not in folds which might imply poor pharmacokinetics between the drug(s) and organism, or the dose range adopted in this study is outside the optimal dosage required to stimulate pharmacological response comparable with quercetin and mangiferin.

The 10-fold dilution concentration of *G. biloba* and 1000-fold dilution concentration of *P. ginseng* exhibited the most profound reduction in IAM accumulation, whereas *P. officinalis*, *S. baicalensis* and *H. neglectum* exhibited a moderate reduction which can be attributed to their constituent BASs. Quercetin and kaempferol were isolated from *G. biloba* while mangiferin was isolated from *H. neglectum*. Furthermore, age-related deterioration involves multiple pathologies that act in synchronization to facilitate aging. As such, the multitudes of BASs present in the crude extract could exert antiaging effect via pharmacodynamic synergy with various compounds acting on different receptor targets of the aging pathways [29]. Thus, the swift and profound effect of the crude extracts of *G. biloba* reported in this study can be attributed to the abundance and potential synergistic effect of these BASs towards the repression of IAM production. A similar effect was not observed in *H. neglectum* treatment group, probably due to the presence of other impurities that might have acted as antagonist for the bioactive function of mangiferin. Our findings on the effect of *P. ginseng* on IAM accumulation are consistent with current available literature [19]. Ginsenoside, a bioactive component of *P. ginseng* has been reported to extend lifespan and reduce IAM accumulation via the modulation of lipid metabolism and activation of the stress response biomolecules [30]. The rate of IAM clearance was also facilitated in *C. elegans* treated with the 1000-fold dilution concentration of *P. officinalis*. This can be attributed to the mitigation of oxidative stress via the removal of mitochondrial ROS which culminates in enhanced mitochondrial function.

CONCLUSION

The intestinal autofluorescence material is not only a hallmark of aging but also a facilitator of age-related deterioration; thus, any substance capable of clearance and/or slow down the rate of accretion of IAM will constitute an important supplement towards healthy aging. Our finding has identified baicalin, quercetin, kaempferol, and mangi-

ferin as potential geroprotectors that could be subjected to further studies towards the realization of the UN decade goal of healthy aging. Their probable mechanism of clearance includes the enhancement of intra-lysosomal degradation, autophagocytosis, mitochondrial function and lipid metabolism. In addition, *G. biloba* and *P. officinalis* can be considered as an important source for potential geroprotector development in future research.

Funding

This research was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (State Task) 075-03-2024-117, Project No. FSMG-2023-0015.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors are grateful to Dr. Dyshlyuk, Laboratory of Bioassay of Natural Nutraceuticals, Kemerovo State University (Kemerovo, Russia) for providing us with the stock of BASs solutions and crude extracts used in this study.

Ethical Clearance Statement

According to the Caenorhabditis Genetics Centre, concerns about ethics are absent from *C. elegans* experiments. However, all the methods adopted during this study, which received approval on December 23, 2021, conformed to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, published by the United States National Institutes of Health (Publication No. 85-23, revised 1996) and approved by the Moscow Institute of Physics and Technology Life Science Center Provisional Animal Care and Research Procedures Committees, Protocol No. A2-2012-09-02.

REFERENCES

1. UN. *World Population Prospects 2019 Highlights. 2021*. URL: https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf (accessed: 18.03.2023).

2. Kushwaha SS, Patro N, Patro IK. A sequential study of age-related lipofuscin accumulation in hippocampus and striate cortex of rats. *Ann Neurosci.* 2018; 25(4): 223-233. doi: 10.1159/000490908

3. Secci R, Hartmann A, Walter M, Grabe HJ, van der Auwera-Palitschka S, Kowald A, et al. Biomarkers of geroprotection and cardiovascular health: An overview of omics studies and established clinical biomarkers in the context of diet. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2023; 63(15): 2426-2446. doi: 10.1080/10408398.2021.1975638

4. Urits I, Borchart M, Hasegawa M, Kochanski J, Orhurhu V, Viswanath O. An update of current cannabis-based pharmaceuticals in pain medicine. *Pain Ther.* 2019; 8: 41-51. doi: 10.1007/s40122-019-0114-4

5. Faskhutdinova ER, Sukhikh AS, Le VM, Minina VI, Khelef MEA, Loseva AI. Effects of bioactive substances isolated from Siberian medicinal plants on the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Foods Raw Mater.* 2022; 10(2): 340-352.

6. Komura T, Yamanaka M, Nishimura K, Hara K, Nishikawa Y. Autofluorescence as a noninvasive biomarker of senescence and advanced glycation end products in *Caenorhabditis elegans*. npj. *Aging Mech Dis.* 2021; 7(1): 12. doi: 10.1038/s41514-021-00061-y

7. Höhn A, Grune T. Lipofuscin: Formation, effects and role of macroautophagy. *Redox Biol.* 2013; 1(1): 140-144. doi: 10.1016/j.redox.2013.01.006

8. Pincus Z, Mazer TC, Slack FJ. Autofluorescence as a measure of senescence in *C. elegans*: Look to red, not blue or green. *Aging (Albany NY).* 2016; 8(5): 889. doi: 10.18632/aging.100936

9. Holtze S, Gorshkova E, Braude S, Cellerino A, Dammann P, Hildebrandt TB, et al. Alternative animal models of aging research. *Front M Biosci.* 2021; 8: 660959. doi: 10.3389/fmolb.2021.660959

10. Teuscher AC, Ewald CY. Overcoming autofluorescence to assess GFP expression during normal physiology and aging in *Caenorhabditis elegans*. *Bio Protoc.* 2018; 8(14): e2940-e2940. doi: 10.21769/BioProtoc.2940

11. Jiang S, Deng N, Zheng B, Li T, Liu RH. Rhodiola extract promotes longevity and stress resistance of *Caenorhabditis elegans* via DAF-16 and SKN-1. *Food Funct*. 2021; 12(10): 4471-4483. doi: 10.1039/d0fo02974b

12. Liu Y, Zhou Z, Yin L, Zhu M, Wang F, Zhang L, et al. Tangeretin promotes lifespan associated with insulin/insulin-like growth factor-1 signaling pathway and heat resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Bio Factors.* 2022; 48(2): 442-453. doi: 10.1002/biof.1788

13. Nixon RA. The aging lysosome: An essential catalyst for late-onset neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta (BBA) Proteins Proteomics*. 2020; 1868(9): 140443. doi: 10.1016/j.bbapap.2020.140443

14. Sugawara T, Sakamoto K. Quercetin enhances motility in aged and heat-stressed *Caenorhabditis elegans* nematodes by modulating both HSF-1 activity, and insulin-like and p38-MAPK signalling. *PLoS One*. 2020; 15(9): e0238528. doi: 10.1371/journal.pone.0238528

15. Havermann S, Humpf H-U, Wätjen W. Baicalein modulates stress-resistance and life span in *C. elegans* via SKN-1 but not DAF-16. *Fitoterapia*. 2016; 113: 123-127. doi: 10.1016/j.fitote.2016.06.018

16. Zheng SQ, Huang XB, Xing TK, Ding AJ, Wu GS, Luo HR. Chlorogenic acid extends the lifespan of *Caenorhabditis elegans* via insulin/IGF-1 signaling pathway. *J Gerontol Ser A.* 2017; 72(4): 464-472. doi: 10.1093/gerona/glw105

17. Fedorova AM, Dyshlyuk LS, Milentyeva IS, Loseva AI, Neverova OA, Khelef MEA. Geroprotective activity of trans-cinnamic acid isolated from the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*). *Food Processing: Techniques and Technology*. 2022; 52(3): 582-591. (In Russ.).

18. Wang J, Chen X, Bai W, Wang Z, Xiao W, Zhu J. Study on mechanism of *Ginkgo biloba* L. leaves for the treatment of neurodegenerative diseases based on network pharmacology. *Neurochem Res.* 2021; 46(7): 1881-1894. doi: 10.1007/s11064-021-03315-z

19. Sun J, Zhong X, Sun D, Xu L, Shi L, Sui J, et al. Anti-aging effects of polysaccharides from ginseng extract residues in *Caenorhabditis elegans*. *Int J Biol Macro M*. 2023; 225: 1072-1084. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.11.168

20. Moreno-García A, Kun A, Calero O, Medina M, Calero M. An overview of the role of lipofuscin in age-related neurodegeneration. *Front Neurosci.* 2018; 12: 464. doi: 10.3389/fnins.2018.00464

21. Kampkötter A, Nkwonkam CG, Zurawski RF, Timpel C, Chovolou Y, Wätjen W, et al. Investigations of protective effects of the flavonoids quercetin and rutin on stress resistance

in the model organism *Caenorhabditis elegans*. *Toxicology*. 2007; 234(1-2): 113-123. doi: 10.1016/j.tox.2007.02.006

22. Jiang X, Yu J, Wang X, Ge J, Li N. Quercetin improves lipid metabolism via SCAP-SREBP2-LDLr signaling pathway in early stage diabetic nephropathy. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2019; 12: 827-839. doi: 10.2147/DMSO.S195456

23. Liu H, Zhou W, Guo L, Zhang H, Guan L, Yan X, et al. Quercetin protects against palmitate-induced pancreatic β-cell apoptosis by restoring lysosomal function and autophagic flux. *J Nutr Biochem*. 2022; 107: 109060. doi: 10.1016/j.jnutbio.2022.109060

24. Chen Q, Liu M, Yu H, Li J, Wang S, Zhang Y, et al. *Scutellaria baicalensis* regulates FFA metabolism to ameliorate NAFLD through the AMPK-mediated SREBP signaling pathway. *J Nat Med.* 2018; 72: 655-666. doi: 10.1007/s11418-018-1199-5

25. Perez CA, Wei Y, Guo M. Iron-binding and anti-Fenton properties of baicalein and baicalin. *J Inorg Biochem.* 2009; 103(3): 326-332. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2008.11.003

26. Imran M, Arshad MS, Butt MS, Kwon JH, Arshad MU, Sultan MT. Mangiferin: A natural miracle bioactive compound against lifestyle related disorders. *Lipids Health Dis*. 2017; 16(1): 1-17. doi: 10.1186/s12944-017-0449-y

27. Zhou C, Li G, Li Y, Gong L, Huang Y, Shi Z, et al. A high-throughput metabolomic approach to explore the regulatory effect of mangiferin on metabolic network disturbances of hyperlipidemia rats. *M Biosyst.* 2015; 11(2): 418-433. doi: 10.1039/c4mb00421c

28. Rauthan M, Pilon M. The mevalonate pathway in *C. elegans*. *Lipids Health Dis.* 2011; 10: 243. doi: 10.1186/1476-511X-10-243

29. Houghton PJ, Mukherjee PK. *Evaluation of herbal medicinal products: Perspectives on quality, safety and efficacy.* London: Pharmaceutical Press; 2009.

30. Yu X, Li H, Lin D, Guo W, Xu Z, Wang L, et al. Ginsenoside prolongs the lifespan of *C. elegans* via lipid metabolism and activating the stress response signaling pathway. *Int J M Sci*. 2021; 22(18): 9668. doi: 10.3390/ijms22189668

Information about the authors

Saoban S. Salimon – Laboratory Assistant at the Laboratory for Personalized Chemo-Radiotherapy, Student, Institute of Future Biophysics, Moscow Institute of Physics and Technology, e-mail: salimon.s@phystech.edu, https://orcid.org/0000-0002-3569-7560

Elena I. Marusich – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory for Personalized Chemo-Radiotherapy, Institute of Future Biophysics, Moscow Institute of Physics and Technology, e-mail: marusich.ei@mipt.ru, https://orcid.org/0000-0003-1943-6245

Sergey V. Leonov – Cand. Sc. (Biol.), Deputy Head of the Laboratory for Personalized Chemo-Radiotherapy, Institute of Future Biophysics, Moscow Institute of Physics and Technology; Senior Research Officer, Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, e-mail: Leonov.sv@mipt.ru, https://orcid.org/0000-0002-3425-723X

Margarita V. Pustovalova – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory for Personalized Chemo-Radiotherapy, Institute of Future Biophysics, Moscow Institute of Physics and Technology, e-mail: pustovalova.mv@mipt.ru, https://orcid.org/0000-0002-5580-0553

Author's contribution

Saoban S. Salimon – performing the experiments; data collecting and analysis; writing the original draft.

Elena I. Marusich – design of the study and methodology; reviewing and editing the manuscript.

Sergey V. Leonov – administration of the project, finance and supplies support; editing the manuscript.

Margarita V. Pustovalova – procuring funding; editing the manuscript.

MODIFIED XANTHAN GUM-BASED GEL OF CURCUMIN AND COPPER NANOPARTICLES PREPARED FROM *TINOSPORA CORDIFOLIA* FOR WOUND THERAPY

Patil M.V. [1],
Singla N. [2]

[1] Shivraj College of Pharmacy (Vadarge Rd, Gadhinglaj, Maharashtra 416502, India)
[2] Suresh Gyan Vihar University (Mahal Rd, Jagatpura, Jaipur, Rajasthan 302017, India)

Corresponding author:
Manisha Vyankatrao Patil,
e-mail: mmanishapatil123@gmail.com

ABSTRACT

The aim. *The synthesis of nanoparticles through green methods is a biologically safe, cost-effective and environmentally friendly approach. This study focuses on the green synthesis of copper nanoparticles using aqueous stem extract of Tinospora cordifolia. Additionally, this research explores the formulation of an acetyl amine-modified xanthan gum-based gel incorporating curcumin and a solution of Cu^{++} nanoparticles, and investigates its wound healing activity.*

Materials and methods. *The shade-dried stem of Tinospora cordifolia was extracted with distilled water, which serves as a bio-reducing agent for the synthesis of Cu^{++} nanoparticles. Copper sulphate was added to the extract at room temperature using a magnetic stirrer. The visual color change during the addition indicates the formation of nanoparticles, which was further confirmed by UV spectroscopy and particle size analysis. The modified xanthan gum-based gel formulation was prepared using curcumin and a solution of Cu^{++} nanoparticles, and its wound healing activity was evaluated using the excision method, along with antimicrobial activity assessed by the cup and plate method.*

Results and discussion. *UV absorption was observed at 261 nm, and the particle size was measured at 188 nm, confirming the formation of nanoparticles. The gel containing curcumin and Cu^{++} nanoparticles was prepared using modified xanthan gum. The nanocomposite exhibited significant antimicrobial activity against gram-positive bacteria compared to gram-negative bacteria. The group treated with the modified xanthan gum-based curcumin and nano copper composite demonstrated significant wound closure by day 16±2.*

Conclusion. *The synthesis of Cu^{++} nanoparticles using Tinospora cordifolia and the formulation of a gel with modified xanthan gum and curcumin as a drug were successfully achieved. The gel formulation demonstrated significant antibacterial and wound healing activities, attributed to synergistic effect of Tinospora cordifolia, curcumin, and Cu^{++} nanoparticles.*

Key words: *Tinospora cordifolia, copper nanoparticles, modified xanthan gum, nanogel and antimicrobial agents, wound healing activity*

Received: 13.04.2024
Accepted: 06.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Patil M.V., Singla N. Modified xanthan gum-based gel of curcumin and copper nanoparticles prepared from *Tinospora cordifolia* for wound therapy. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 195-203. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.20

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННОЙ КСАНТАНОВОЙ КАМЕДИ С КУРКУМИНОМ И НАНОЧАСТИЦАМИ МЕДИ, ПОЛУЧЕННЫМИ ИЗ *TINOSPORA CORDIFOLIA*, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН

Патил М.В. [1],
Сингла Н. [2]

[1] Фармакологический колледж Шивраджа (ул. Вадардж Роуд, Гадхингладж, Махараштра 416502, Индия)
[2] Университет Суреш Гьян Вихар (ул. Махал Роуд, Джагатпура, Джайпур, Раджастан 302017, Индия)

Автор, ответственный за переписку:
Маниша Вьянкатрао Патил,
e-mail: mmanishapatil123@gmail.com

Статья получена: 13.04.2024
Статья принята: 06.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

РЕЗЮМЕ

Цель. *Синтез наночастиц с использованием зелёных методов является биологически безопасным, экономически эффективным и экологически чистым подходом. Данное исследование сосредоточено на зелёном синтезе медных наночастиц с использованием водного экстракта стебля Tinospora cordifolia. Кроме того, в рамках исследования была разработана формула геля на основе ксантановой камеди, модифицированной ацетиламином, которая включает куркумин и раствор наночастиц Cu^{++}, а также исследуется его ранозаживляющая активность.*

Материалы и методы. *Высушенный в тени стебель Tinospora cordifolia был экстрагирован дистиллированной водой, которая служит биовосстановителем для синтеза наночастиц Cu^{++}. К экстракту при комнатной температуре с помощью магнитной мешалки добавляли медный купорос. Визуальное изменение цвета во время добавления указывает на образование наночастиц, что было дополнительно подтверждено данными УФ-спектроскопии и анализом размера частиц. Модифицированная формула геля на основе ксантановой камеди была приготовлена с использованием куркумина и раствора наночастиц Cu^{++}, её ранозаживляющая активность была оценена с помощью метода иссечения, а антимикробная активность – методом диффузии в агаре.*

Результаты и обсуждение. *Поглощение УФ-излучения было зафиксировано при 261 нм, а размер частиц измерялся при 188 нм, что подтверждает образование наночастиц. Гель, содержащий куркумин и наночастицы Cu^{++}, был приготовлен с использованием модифицированной ксантановой камеди. Нанокомпозит проявил значительную антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий по сравнению с грамотрицательными. Группа, получавшая лечение модифицированным композитом на основе куркумина, ксантановой камеди и наномедных частиц, продемонстрировала значительное закрытие ран к 16 ± 2 дню.*

Заключение. *Успешно осуществлён синтез наночастиц Cu^{++} с использованием Tinospora cordifolia и разработан гель с модифицированной ксантановой камедью и куркумином с возможностью его применения в качестве лекарственного средства. Гель продемонстрировал значительную антибактериальную и ранозаживляющую активность, обусловленную синергетическим эффектом компонентов: Tinospora cordifolia, куркумина и наночастиц Cu^{++}.*

Ключевые слова: *Tinospora cordifolia, наночастицы меди, модифицированная ксантановая камедь, наногель и антимикробные агенты, ранозаживляющая активность*

Для цитирования: Патил М.В., Сингла Н. Использование геля на основе модифицированной ксантановой камеди с куркумином и наночастицами меди, полученного из *Tinospora cordifolia*, для лечения ран. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 195-203. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.20

INTRODUCTION

Overuse or non-selective use of antibiotics has resulted in a global rise in multidrug resistance among various microorganisms. Currently, more than 2 million people are suffering from infections caused by resistant strains of microorganisms, and experts predict that by 2050 there will be approximately 10 million deaths annually worldwide [1]. Therefore, new, broad-spectrum and selective antimicrobial alternatives are needed to combat multidrug-resistant strains [2]. The emergence of resistance in different bacterial strains to various antimicrobial agents is attracting a lot of attention for the development of new drug treatments.

Nanotechnology is a field of science with vast applications in various areas, including chemical industries, the biochemical field, cosmetics industries, electronic and energy sciences, food industries, and space industries. It also plays a significant role in healthcare and pharmaceutical industries [3]. Metal nanoparticles are considered as one of the most promising approaches in all these areas [4]. Nanoparticles can be synthesized using both physical and chemical methods, but they suffer from drawbacks such as hazardous reaction conditions, excessive reagents, longer times and tedious isolation processes. Therefore, it is necessary to develop new methods for synthesising nanoparticles (NPs) that require milder conditions, inexpensive reagents and an environmentally friendly approach [5]. The development of metal nanoparticles using biological materials has attracted significant attention due to their safety, biocompatibility, cost-effectiveness, and environmental friendliness. It has been reported that metal nanoparticles (Ag^{++}, Cu^{++}, Au^{++}, and Zn^{++}) exhibit a wide spectrum of antimicrobial activity against different species of microorganisms [6].

Among the nanoparticles, copper nanoparticles (Cu-NPs) have gained much attention due to their low cost of preparation, wide availability, excellent physical and chemical properties, and antibacterial activity against a variety of bacteria and fungi [7]. Cu-NPs were synthesized by various methods, including vapor deposition, electrochemical reduction, thermal deposition, radiolytic reduction, chemical reduction, and green synthesis [8]. Green synthesis can also be achieved using microorganisms or plant extracts [9]. It has been found that, plant extracts prepared using green synthesis methods can stabilize nanoparticles. Various plant extracts have been used for synthesizing Cu-NPs, including citrus lemon fruit [10], *Ocimum sanctum*, *Rhus coriaria L.* fruits [11], *Ageratum houstonianum* [12] Madhunashini [13], tea [14], *Avrevalanta* [15], *Eclipta prostrata* [16], *Tinospora cordifolia* [17], *Arachis hypogaea* [18], *Mentha spicata* [19], coriander [20], etc. Due to their high surface-to-volume ratio, Cu-NPs are highly reactive and can easily interact with other particles, increasing their antimicrobial efficacy. The mechanism of Cu-NP killing microorganisms is multifaceted and is not fully understood. However, literature suggests that nanocopper interacts with phosphorus- and sulphur-containing biomolecules such as DNA and proteins, distorting their structures and disrupting biochemical processes [21]. Nanocopper also interacts with microorganisms on different cellular levels, leading to cell death [22, 23].

The mechanisms of wound healing are still not fully understood, making it one of the most challenging areas of medicine. Wound healing refers to the process of repairing damaged skin or tissue. An essential component of wound management is the use of antimicrobial agents to control microbial growth in the wound area. Copper nanoparticles possess several beneficial properties for promoting wound healing, such as antibacterial, antifungal, antiviral, and anti-inflammatory effects. Curcumin, a traditional herbal remedy, has shown promising potential as a novel therapeutic option for wound healing due to its multiple activities, including antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant properties [24].

This study is focused on developing a safe and effective treatment for antimicrobial and wound healing based on the combination of curcumin and copper nanoparticles. To achieve this, the effect of a curcumin-nano-copper composite was compared to a standard formulation. Acetylamine-modified xanthan gum (MXG) was used to enhance the gelation properties of xanthan, which was then used in the preparation of a gel formulation. This gel formulation included the preparation of copper nanoparticles (Cu^{++}-NPs) using a green method with a bio-reducing agent such as the aqueous extract of *Tinospora cordifolia*. The prepared Cu^{++}-NP was analysed using UV spectroscopy and particle size analysis to determine its properties. The antimicrobial properties of the MXG-based Cu^{++}-NP gel containing ciprofloxacin were also determined. This study observed the potential of combining these two substances to create a synergistic effect that could lead to a more effective treatment than using them individually. The results obtained through practical research can contribute to expanding the range of available medications for the treatment of skin conditions caused by various pathogens.

MATERIALS AND METHODS

All synthetic chemicals and the ciprofloxacin drug were purchased from local distributors. Modified xanthan gum was produced in the laboratory. All other chemicals used were of analytical reagent quality. Curcumin was obtained as a gift sample from Satara Arkshala (Satara, India).

Preparation of the extract

From the collected plant *Tinospora cordifolia*, the stems were separated, washed with distilled water and kept in the shade for 10–15 days to dry. After drying, 10 g of chopped stems were boiled in 100 mL of distilled water at 80°C for 1 hour. The resulting filtrate was used to prepare copper nanoparticles.

Green synthesis of copper nanoparticles using the *Tinospora cordifolia* stem extract

A stem extract (10 mL) was added to a 0.01 M copper sulphate solution (100 mL), and a mixture was stirred continuously for 30 minutes. During this time, the light sky-blue colour of the solution changed to a yellowish-green colour, indicating the formation of copper nanoparticles. After this

process, the solution was placed in an incubator for 24 hours, and then filtered through Whatman filter paper [25].

Characterization of Cu^{++} nanoparticles

UV-visible absorption spectra of copper nanoparticle solutions were taken over the wavelength range of 200 to 800 nm using a UV-Visible spectrophotometer (Shimadzu Corp., Japan).

The particle size and zeta potential of a solution containing Cu^{++} nanoparticles were analyzed by HORIBA SZ-100 particle size analyzer (Horiba Ltd., Japan).

Preparation of the modified xanthan gum-based gel

Acetylamine modification was prepared by reacting xanthan gum with chloroacetyl chloride and further treating it with ammonia to enhance the gelling properties of the original xanthan gum. 100 mg of MXG was dissolved in 10 mL of Cu^{++}-NPs solution, along with 0.2 mL of glycerin, and stirred to form MXG-based Cu^{++}-NPs [26].

Physiochemical evaluation of the gel

The viscosity of the gel was measured using a Brookfield viscometer with a spindle L4 at a speed of 100 rpm. To assess its spreadability, a formulated gel (1 mg) was placed between two glass slides, and a definite amount of weight was applied to the glass side. A definite force was then applied to the movable slide so that the gel spread, and the spreadability index was measured.

$$\text{Spreadability} = \text{Weight tied} \times \frac{\text{Length of silde}}{\text{Time in second}}$$

Antimicrobial evaluation

The antimicrobial activity of a modified xanthan gum-based Cu^{++} nanoparticles gel containing curcumin was assessed against *E. coli* (gram-negative) and *Bacillus subtilis* (gram-positive) bacteria using a previously reported method [27]. Bacterial strains were obtained from the Department of Microbiology (GIPER, India). In this study, Ciprofloxacin (5 µg/mL) was used as positive control. Antimicrobial activity of the gel was measured using the agar diffusion assay.

In a sterile environment, gram-positive and gram-negative bacteria were cultivated on agar plates. All solutions (0.1 mL) were placed in the cups of agar plates, and the plates were incubated at 37 °C for 24 hours. After incubation, the plates were observed for microbial growth. All measurements were done in triplicate for each organism, and an average diameter was noted in the form of a zone of inhibition.

Wound healing activity

The wound healing activity was evaluated using the previously described method, by excising a wound model in adult albino rats weighing 150–160 g [28]. The animals were numbered and then divided into three groups with six animals each. Group 1 was the control group and received no treatment. Group 2 was treated with the standard drug formulation. Group 3 was treated with modified xanthan gum-based nanogel.

Using an electric clipper, the dorsal fur of anaesthetized animals was shaved. A wound was created on the back of animals in the inter scapular region, 5 mm away from the ear. The demarcated area was excised to create a wound with a diameter of 2 cm. Wound area was measured on days 0, 2, 4, 8, 12, 16, 18, 20, 22, and 24 by counting the number of squares on graph paper that covered the retraced wound. The degree of wound closure was calculated using a formula as a percentage of the original wound area:

$$\% \text{ Closure} = 1 - \frac{\text{Wound area on corresponding days}}{\text{Wound area on day zero}} \times 100$$

RESULTS AND DISCUSSION

The formation of copper nanoparticles has been confirmed by changes in colour and UV spectroscopy. When copper nanoparticles form, the colour of the solution changes from light sky-blue to yellowish green.

UV visible spectroscopy

UV-Vis spectral analysis of Cu^{++} NPs was conducted in the wavelength range of 200–800 nm. The peak at 261 nm confirmed the formation of Cu^{++} NPs. Figure 1 shows the UV spectra, which demonstrates absorption at 261 nm.

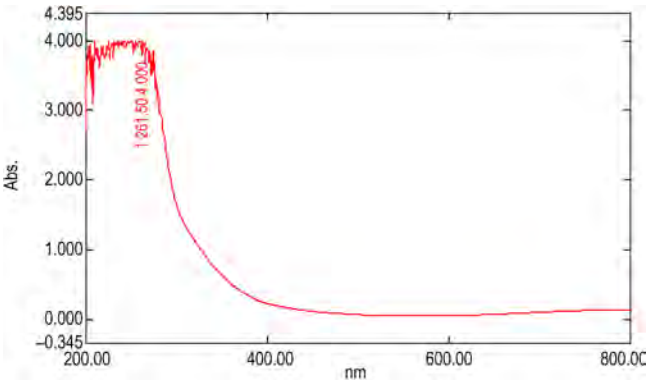


FIG. 1.

UV spectra of copper nanoparticles prepared from Tinospora cordifolia stem extract

Particle size analysis (PSA)

Particle size determination is helpful for analyzing nanoscale systems. The size of Cu^{++} nanoparticles was determined using a HORIBO SZ-100 particle size analyzer. The average size was found to be 188.1 nm (Fig. 2), indicating the formation of a nano copper particle system.

The zeta potential of the prepared Cu^{++}NPs was found to be –21.9 mV. This value indicates that prepared Cu^{++}NPs have sufficient charge and mobility to inhibit aggregation.

Physiochemical evaluation of the formulated gel

The nanogel formulation had a yellowish-green colour and good consistency. It was transparent in appearance. Viscosity measurements were conducted using a Brookfield viscometer, and the range was 600–650 cps at 100 rpm, using the L4 spindle. The viscosity of the nanogel was 615.6 ± 9.704 cps. These viscosity values met the requirements for a gel, compared to a standard gel. The spreadability values indicate that the gel can be easily spread. The spreading diameter of the prepared gel ranged from 23 to 35 mm.

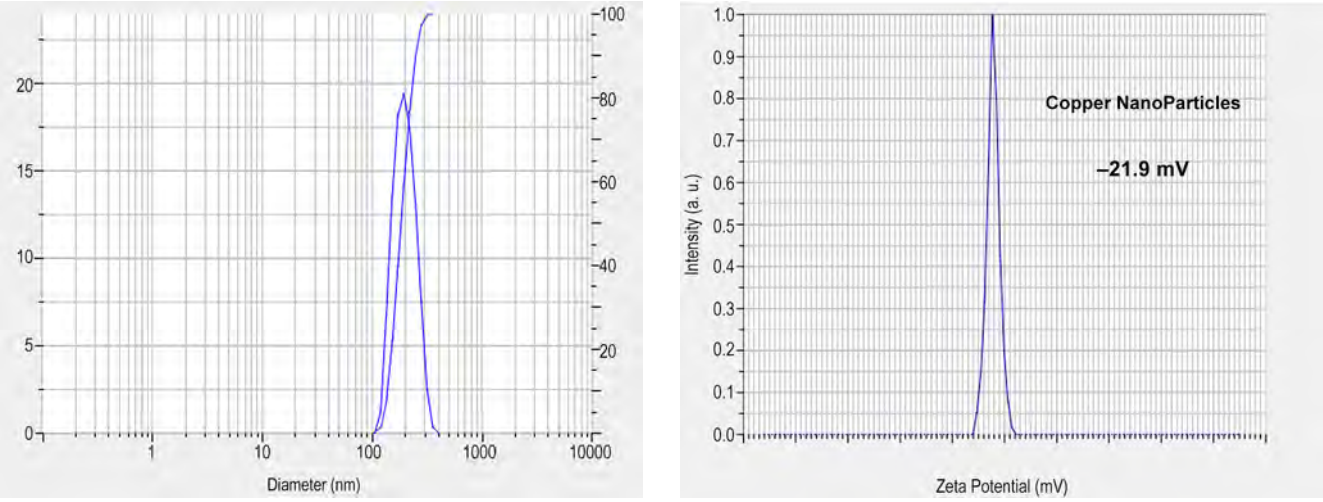


FIG. 2.
Particle size analysis and zeta potential of copper nanoparticles

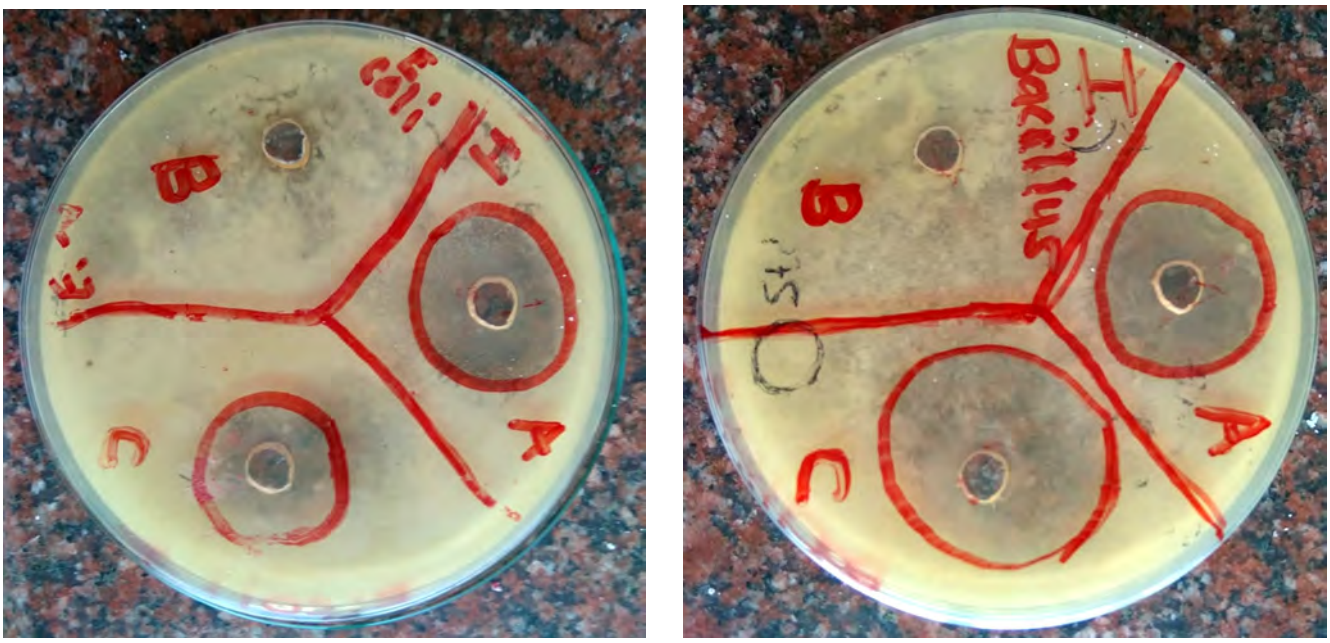


FIG. 3.
Zone of inhibition of ciprofloxacin standard (A), blank (B) and curcumin-Cu^{++}NPs hydrogel (C)

Antimicrobial activity of MXG gel containing curcumin-Cu^{++} nanoparticles

The curcumin nanoparticles were tested for their antibacterial properties against gram-positive strains (*Bacillus subtilis*) and gram-negative strains (*E. coli*). The results are shown in Figures 3 and 4.

The antibacterial effect of curcumin-Cu^{++}NPs has been found to be more pronounced against gram-positive bacteria as compared to the standard. Several studies have shown that curcumin is more effective against various *Bacillus subtilis* strains [29]. Significant antibacterial activity against *B. subtilis* can be attributed to the presence of both curcumin and copper nanoparticles in the formulation, which are well-known and effective antibacterial agents.

It has been predicted that Cu^{++}NPs can join the microbial cell surface and enter the cell, where they can disturb intracellular targets, including respiratory catalysts [20]. Curcumin-Cu^{++}NPs have also shown equivalent antibacterial activity against gram-negative *E. coli* strains compared to the standard.

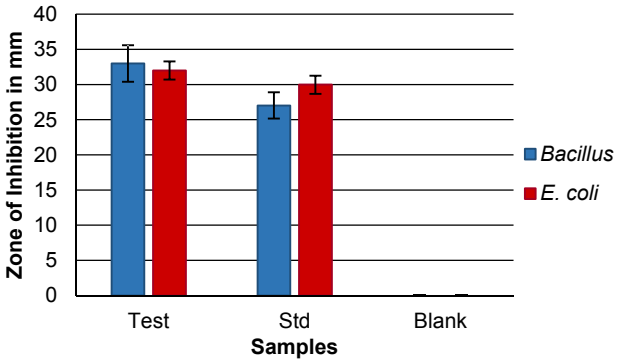


FIG. 4.
Antibacterial activity of nanogel against Bacillus subtilis and E. coli strains (n = 3)

Wound healing activity

The wound healing effect of curcumin-Cu^{++}NPs was investigated in a 2×2 cm excisional skin wound model. Standard iodine-povidone cream and MXG-based curcumin-Cu^{++}NP gel were applied every 24 hours. The rate of wound healing based on the appearance and diameter of the wound was evaluated in comparison to positive and negative controls. After day 6, the wound closure rate was significantly faster in Groups 2 (standard treatment) and 3 (curcumin-Cu^{++}NPs gel) animals. After days 15–16, the curcumin-Cu^{++}NPs showed complete wound closure, while standard treated animals took 18–19 days to achieve complete wound closure.

Curcumin is well known for its antimicrobial and wound-healing properties. Due to its antioxidant activity, curcumin has the ability to neutralize reactive oxygen species and prevent lipid peroxidation at the wound site [30]. In addition, it promotes cellular proliferation, collagen synthesis and maturation, as well as extracellular matrix biosynthesis in the wound area. However, curcumin has a low bioavailability, and it is unstable in neutral and alkaline aqueous solutions. These drawbacks can be overcome by using a nanoparticle formulation, which allows for the gradual release of the compound, and shows significant activity compared to the standard formulation. The combination of curcumin with Cu^{++}NPs enhances wound healing activity even more than the standard iodine povidone gel or negative control. Figures 5 and 6 show the wound healing results compared to standard treatment and controls.

The significant wound healing activity may be due to the additive or synergistic effects of curcumin and copper nanoparticles.

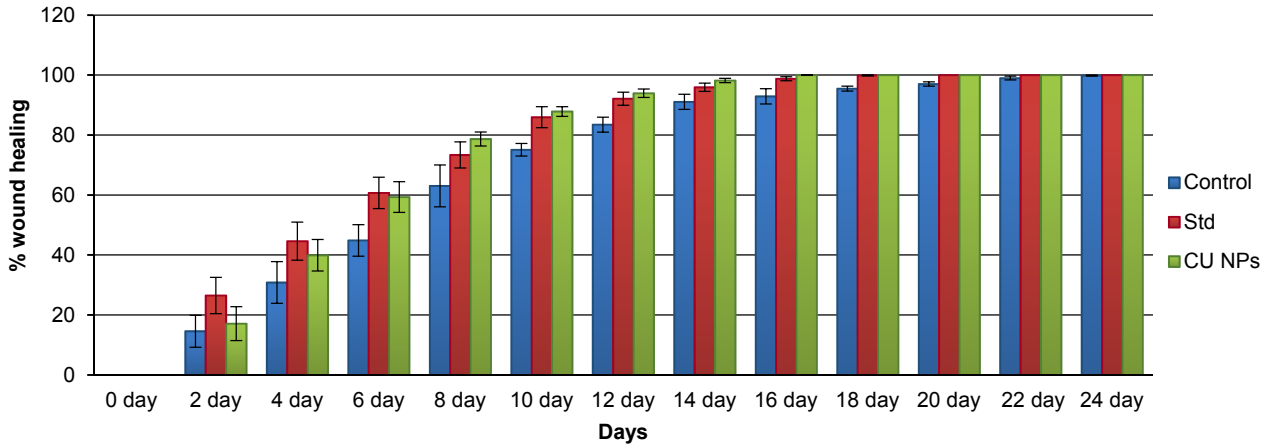


FIG. 5.

Wound healing activity of Cu^{++}-NPs gel as compared to standard and control form (n = 6, Me ± SD)

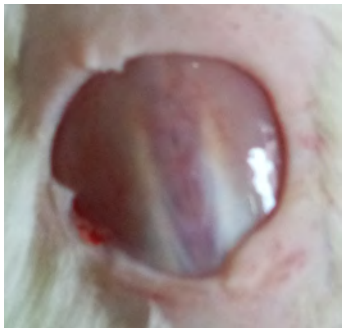
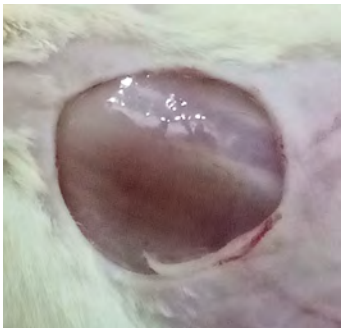
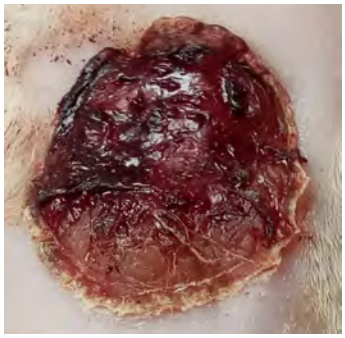
Groups	Control	Standart	MXG based gel of Cu^{++}NPs
Day 0			
Day 5			

FIG. 6.

Photographs of wound healing activity of curcumin-Cu^{++}NPs gel as compared to standard and controls. The images show the wound surface healing over time in each group (n = 6)



FIG. 6. *(continued)*
Photographs of wound healing activity of curcumin-Cu^{++}NPs gel as compared to standard and controls. The images show the wound surface healing over time in each group (n = 6)

CONCLUSION

Thus, it can be concluded that a gel formulation using modified xanthan gum as a gelling agent and Cu^{++} nanoparticles prepared from *Tinospora cordifolia* has been successfully developed. This gel shows significant antibacterial and wound-healing activities. It exhibits stronger antibacterial activity against *Bacillus subtilis* than against *E. coli*. The gel with bio-synthesized Cu^{++} nanoparticles and curcumin could be used as an effective therapeutic agent for wound treatment with increased wound-healing efficacy. The formulation exhibits strong antibacterial and wound-healing effects due to the synergistic or additive actions of *Tinospora cordifolia*, curcumin, and Cu^{++} nanoparticles.

Acknowledgement

Authors are thankful to Shivraj College of Pharmacy, Gadhinglaj, Kolhapur, Maharashtra and Gourishankar Institute of Pharmaceutical Education and Research, Limb Satara, Maharashtra, India for providing the Laboratory facilities. The authors are also thankful to the Annasaheb Dange College of B Pharmacy, Ashta (India) for providing spectral data.

Conflict of interest

Authors have declared no conflict of interests.

Ethical clearance

The protocol operated in this study regarding the use of albino rats as an animal model for acute oral and dermal toxicity was approved by the Institutional Animal Ethics Committee, GIPER (Limb, Satara, Maharashtra, India; protocol No. GIPER/IEC/2020-21/03 dated 27/01/2021). The animal study conducted in this work complies with NC3Rs guidelines.

REFERENCES

1. De Kraker ME, Stewardson AJ, Harbarth S. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? *PLoS Med*. 2016; 13(11): e1002184. doi: 10.1371/journal.pmed.1002184

2. Nair A, Mallya R, Suvarna V, Khan TA, Momin M, Omri A. Nanoparticles-attractive carriers of antimicrobial essential oils. *Antibiotics (Basel)*. 2022; 11(1): 108. doi: 10.3390/antibiotics11010108

3. Singh P, Kim YJ, Zhang D, Yang DC. Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends Biotechnol*. 2016; 34(7): 588-599. doi: 10.1016/j.tibtech.2016.02.006

4. Zhang D, Ma XL, Gu Y, Huang H, Zhang GW. Green synthesis of metallic nanoparticles and their potential applications to treat cancer. *Front Chem*. 2020; 8: 799. doi: 10.3389/fchem.2020.00799

5. Jamkhande PG, Ghule NW, Bamer AH, Kalaskar MG. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2019; 53: 101174. DOI: 10.1016/J.JDDST.2019.101174

6. Qamar H, Rehman S, Chauhan DK, Tiwari AK, Upmanyu V. Green synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanomaterial derived from momordica charantia. *Int J Nanomedicine*. 2020; 15: 2541-2553. doi: 10.2147/IJN.S240232

7. Thakore SI, Nagar PS, Jadeja RN, Thounaojam M, Devkar RV, Rathore PS. Sapota fruit latex mediated synthesis of Ag, Cu mono and bimetallic nanoparticles and their *in vitro* toxicity studies. *Arab J Chem*. 2019; 12(5): 694-700. doi: 10.1016/j.arabjc.2014.12.042

8. Gawande MB, Goswami A, Felpin FX, Asefa T, Huang X, Silva R, et al. Cu and Cu-based nanoparticles: Synthesis and applications in catalysis. *Chem Rev*. 2016; 116(6): 3722-3811. doi: 10.1021/acs.chemrev.5b00482

9. Sunday AA, Abel KO, Seyifunmi CO, Dayo FL. Green chemistry approach towards the synthesis of copper nanoparticles and its potential applications as therapeutic agents and environmental control. *Curr Res Green Sustain Chem*. 2021; 4: 100176. doi: 10.1016/j.crgsc.2021.100176

10. Amer MW, Awwad AM. Green synthesis of copper nanoparticles by *Citrus limon* fruits extract, characterization and antibacterial activity. *Chem Int*. 2021; 7(1): 1-8.

11. Ismail MIM. Green synthesis and characterizations of copper nanoparticles. *Mater Chem Phys*. 2020; 240: 122283. doi: 10.1016/j.matchemphys.2019.122283

12. Chandraker SK, Lal M, Ghosh MK, Tiwari V, Ghorai TK, Shukla R. Green synthesis of copper nanoparticles using leaf extract of *Ageratum houstonianum* Mill. and study of their photocatalytic and antibacterial activities. *Nano Ex*. 2020; 1(1): 010033. doi: 10.1088/2632-959X/ab8e99

13. Singh S. Green synthesis and characterization of copper nanoparticles using Madhunashini leaf extract and evaluation of its antibacterial property. *Int J Innov Res Technol*. 2018; 4(8): 307-312.

14. Mohindru JJ, Garg UK. Green synthesis of copper nanoparticles using tea leaf extract. *Int J Eng Sci Res Technol*. 2017; 6(7): 307-311. doi: 10.5281/zenodo.827502

15. Hariprasad S, Bai SG, Santhoshkumar J, Madhu CH, Sravani D. Green synthesis of copper nanoparticles by Arevalanata leaves extract and their antimicrobial activity. *Int J Chem Tech Res*. 2016; 9: 98-105.

16. Chung IM, Abdul Rahuman A, Marimuthu S, Kirthi AV, Anbarasan K, Padmini P, et al. Green synthesis of copper nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities. *Exp Ther Med*. 2017; 14(1): 18-24. doi: 10.3892/etm.2017.4466

17. Sharma P, Pant S, Poonia P, Kumari S., Dave V., Sharma S. Green synthesis of colloidal copper nanoparticles capped with *Tinospora cordifolia* and its application in catalytic degradation in textile dye: An ecologically sound approach. *J Inorg Organomet Polym.* 2018; 28: 2463-2472. doi: 10.1007/s10904-018-0933-5

18. Lakshmi Tulasi S, Swamy A, Peddi P, Usha Rani N. Plant based biosynthesis of copper nanoparticles and its efficacy on seed viability and seedling growth in peanut (*Arachis hypogaea* Linn.) *Asian J Chem.* 2022; 34(2), 415-422. doi: 10.14233/ajchem.2022.23553

19. Kshirsagar PS, Mote DS. Green synthesis of copper nanoparticles using *Mentha spicata* leaves extract. *Eur J Pharm Med Res.* 2021; 8(8): 398-404.

20. Keerthika E, Ishwarya K, Jayashree L, Maripandian S, Nivetha, Irivichetty Sai Chandana. Potential antibacterial activity of green synthesized copper nanoparticles and its characterization. *Int J Curr Res Rev*. 2021; 13(19): 27-32. doi: 10.31782/IJCRR.2021.131929

21. Vincent M, Duval RE, Hartemann P, Engels-Deutsch M. Contact killing and antimicrobial properties of copper. *J Appl Microbiol*. 2018; 124(5): 1032-1046. doi: 10.1111/jam.13681

22. Ma X, Zhou S, Xu X, Du Q. Copper-containing nanoparticles: Mechanism of antimicrobial effect and application in dentistry – a narrative review. *Front Surg*. 2022; 9: 905892. doi: 10.3389/fsurg.2022.905892

23. Arendsen LP, Thakar R, Sultan AH. The use of copper as an antimicrobial agent in health care, including obstetrics and gynecology. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32(4): e00125-18. doi: 10.1128/CMR.00125-18

24. Alqahtani MS, Alqahtani A, Kazi M, Ahmad MZ., Alahmari A, Alsenaidy MA, et al. Wound-healing potential of curcumin loaded lignin nanoparticles. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020; 60: 102020. doi: 10.1016/j.jddst.2020.102020

25. Prakash MVD, Sampath S, Amudha K, Nadeem A, Lopes BS, Durga B., et al. Eco-friendly green synthesis of copper nanoparticles from *Tinospora cordifolia* leaves: Optical properties with biological evaluation of anti-microbial, anti-inflammatory and anti-oxidant applications. *Mater Technol*. 2023; 38(1). doi: 10.1080/10667857.2023.2247908

26. Jadhav RL, Patil MV, Shaikh SN. Synthesis, characterization and *in vivo* evaluation of poly sulfoxy amine grafted xanthan gum. *Int J Lifesci Pharm Res*. 2020; 10(3): 20-28. doi: 10.22376/ijpbs/lpr.2020.10.3.P20-28

27. Jadhav RL, Beloshe P, Yadav AV, Patil MV, Shaikh SN. Design, development and characterization of modified xanthan gum based novel in-situ gel of ciprofloxacin hydrochloride for ophthalmic drug delivery. *Asian J Pharmaceut*. 2020; 14(2): 236-246. doi: 10.22377/ajp.v14i2.3619

28. Jadhav RL, Yadav AV, Patil MV. Poly sulfoxy amine grafted chitosan as bactericidal dressing for wound healing. *Asian J Chem*. 2019; 31(12): 127-132. doi: 10.14233/ajchem.2020.22300

29. Salehi B, Rodrigues CF, Peron G, Dall'Acqua S, Sharifi-Rad J, Azmi L, et al. Curcumin nanoformulations for antimicrobial and wound healing purposes. *Phytother Res*. 2021; 35(5): 2487-2499. doi: 10.1002/ptr.6976

30. Shefa AA, Sultana T, Park MK, Lee SY, Gwon JG, Lee BT. Curcumin incorporation into an oxidized cellulose nanofiber-polyvinyl alcohol hydrogel system promotes wound healing. *Mater Des*. 2020; 186: 108313. doi: 10.1016/j.matdes.2019.108313

Information about the authors

Manisha Vyankatrao Patil – Assistant Professor, Head of Department of Pharmaceutics, Shivraj College of Pharmacy, e-mail: mmanishapatil123@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1784-001X

Neelam S. Singla – Professor, Department of Pharmacy, Suresh Gyan Vihar University, e-mail: neelams.singla@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3583-7025

ХИРУРГИЯ
SURGERY

ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА ПО ПРИМЕНЕНИЮ ВАКУУМ-АССИСТИРОВАННОЙ ЛАПАРОСТОМИИ И ПРОГРАММИРОВАННОЙ РЕЛАПАРОТОМИИ У БОЛЬНЫХ С РАСПРОСТРАНЁННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В РЕЗУЛЬТАТЕ УРГЕНТНОЙ ПАТОЛОГИИ И ТРАВМЫ ЖИВОТА

Маскин С.С. [1],
Дербенцева Т.В. [1],
Александров В.В. [1],
Матюхин В.В. [1],
Карсанов А.М. [2],
Гольбрайх В.А. [1],
Климович И.Н. [1],
Фетисов Н.И. [1],
Пароваткин М.И. [1],
Надельнюк Я.В. [1],
Пономарев К.Э. [1],
Павлов А.В. [1],
Рашид А. [1],
Сигаев С.М. [1],
Бирюлев Д.С. [1],
Овсянникова М.П. [1],
Шмырев К.А. [1],
Подуруева-Милоевич В.Ю. [1]

[1] ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1, Россия)
[2] ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России (362025, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Александров Василий Владимирович,
e-mail: 79178304989@yandex.ru

Статья поступила: 01.08.2024
Статья принята: 06.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Проблема лечения распространённого гнойного перитонита и абдоминального сепсиса остаётся одной из наиболее актуальных в хирургии. Применение вакуум-ассистированной лапаростомии создаёт предпосылки для улучшения результатов лечения данной тяжёлой когорты пациентов. Проведение исследований в этом направлении является актуальным и обоснованным.*

Цель исследования. *Провести первоначальный сравнительный анализ эффективности применения вакуумной лапаростомии и программированной релапаротомии при распространённом гнойном перитоните и абдоминальном сепсисе.*

Материалы и методы. *Исследование состояло из ретроспективной (17 пациентов с программированной релапаротомией) и проспективной (7 пациентов с вакуум-ассистированной лапаростомией) частей, в которых произведено сравнение двух вариантов этапного лечения пациентов с распространённым гнойным перитонитом, осложняющим течение ургентной абдоминальной патологии и травмы живота.*

Результаты. *При применении вакуумной лапаростомии в сравнении с программированной релапаротомией увеличивается продолжительность лечения как в реанимационном отделении (14,0 [12,0; 15,0] против 4,0 [2,0; 4,0] суток соответственно; $p < 0,01$), так и в стационаре (36,0 [20,5; 39,5] против 11,0 [7,0; 17,0] суток соответственно; $p < 0,01$), требуется большее количество повторных вмешательств ($p < 0,01$), при этом снижается, хоть и статистически не значимо, уровень летальности (14,3 против 35,3 %; $p = 0,625$).*

Заключение. *Проведение систематических обзоров и метаанализов на основе рандомизированных клинических исследований позволит получить данные более высокого уровня достоверности доказательств и убедительности рекомендаций.*

Ключевые слова: *распространённый гнойный перитонит, абдоминальный сепсис, вакуум-ассистированная лапаростомия, программированная релапаротомия*

Для цитирования: Маскин С.С., Дербенцева Т.В., Александров В.В., Матюхин В.В., Карсанов А.М., Гольбрайх В.А., Климович И.Н., Фетисов Н.И., Пароваткин М.И., Надельнюк Я.В., Пономарев К.Э., Павлов А.В., Рашид А., Сигаев С.М., Бирюлев Д.С., Овсянникова М.П., Шмырев К.А., Подуруева-Милоевич В.Ю. Первые результаты сравнительного анализа по применению вакуум-ассистированной лапаростомии и программированной релапаротомии у больных с распространённым гнойным перитонитом в результате ургентной патологии и травмы живота. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 204-217. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.21

THE FIRST RESULTS OF A COMPARATIVE ANALYSIS OF THE USE OF VACUUM-ASSISTED LAPAROSTOMY AND PLANNED RELAPAROTOMY IN PATIENTS WITH WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS AS A RESULT OF URGENT PATHOLOGY AND ABDOMINAL TRAUMA

Maskin S.S. [1],
Derbentseva T.V. [1],
Aleksandrov V.V. [1],
Matyukhin V.V. [1],
Karsanov A.M. [2],
Golbraikh V.A. [1],
Klimovich I.N. [1],
Fetisov N.I. [1],
Parovatkin M.I. [1],
Nadelnyuk Ya.V. [1],
Ponomarev K.E. [1],
Pavlov A.V. [1],
Rachid A. [1],
Sigaev S.M. [1],
Biriulev D.S. [1],
Ovsyannikova M.P. [1],
Shmyrev K.A. [1],
Podurueva-Miloevich V.Yu. [1]

[1] Volgograd State Medical University (Pavshikh Bortsov square 1, Volgograd 400131, Russian Federation)
[2] North Ossetian State Medical Academy (Pushkinskaya str. 40, Vladikavkaz 362025, Russian Federation)

Corresponding author:
Vasiliy V. Aleksandrov,
e-mail: 79178304989@yandex.ru

Received: 01.08.2024
Accepted: 06.11.2024
Published: 28.12.2024

ABSTRACT

Background. *The problem of treating widespread purulent peritonitis and abdominal sepsis remains one of the most urgent in surgery. The use of vacuum-assisted laparostomy creates prerequisites for improving the treatment results of this group of patients. Conducting research in this direction is relevant and justified.*
The aim. *To conduct an initial comparative analysis of the effectiveness of vacuum laparostomy and planned relaparotomy in widespread purulent peritonitis and abdominal sepsis.*
Materials and methods. *The study consisted of retrospective (17 patients with planned relaparotomy) and prospective (7 patients with vacuum-assisted laparostomy) parts, in which two options for stage-by-stage treatment of patients with widespread purulent peritonitis complicating the course of urgent abdominal pathology and abdominal trauma were compared.*
Results. *When using vacuum laparostomy in comparison with planned relaparotomy, the duration of treatment increases both in the intensive care unit (14.0 days [12.0; 15.0] vs. 4.0 days [2.0; 4.0]; $p < 0.01$) and in the hospital (36.0 days [20.5; 39.5] vs. 11.0 days [7.0; 17.0]; $p < 0.01$), more relaparotomies are required ($p < 0.01$), while the mortality rate decreases, albeit statistically insignificantly (14.3 % vs. 35.3 %; $p = 0.625$).*
Conclusion. *Conducting systematic reviews and meta-analyses based on randomized clinical trials will provide data of a higher level of evidence and grade of recommendations.*

Key words: *widespread purulent peritonitis, abdominal sepsis, vacuum-assisted laparostomy, planned relaparotomy*

For citation: Maskin S.S., Derbentseva T.V., Aleksandrov V.V., Matyukhin V.V., Karsanov A.M., Golbraikh V.A., Klimovich I.N., Fetisov N.I., Parovatkin M.I., Nadelnyuk Ya.V., Ponomarev K.E., Pavlov A.V., Rachid A., Sigaev S.M., Biriulev D.S., Ovsyannikova M.P., Shmyrev K.A., Podurueva-Miloevich V.Yu. The first results of a comparative analysis of the use of vacuum-assisted laparostomy and planned relaparotomy in patients with widespread purulent peritonitis as a result of urgent pathology and abdominal trauma. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 204-217. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.21

ВВЕДЕНИЕ

Настанет время, когда наши потомки будут удивляться, что мы не знали таких очевидных вещей.
Сенека

Распространённый гнойный перитонит (РГП) и абдоминальный сепсис (АС) являются глобальной проблемой здравоохранения [1]. РГП соответствует принципам эгалитаризма, поскольку он остаётся потенциальной угрозой здоровью всех людей независимо от расы и социально-экономического положения [2]. Крупномасштабные эпидемиологические исследования показывают, что вторичный перитонит составляет 1 % всех госпитализаций и является второй по значимости причиной сепсиса во всём мире [1–3]. Кандидозная инфекция, органная дисфункция, тяжёлые сопутствующие заболевания, неадекватный контроль источника инфекции и нерациональное применение антибиотиков отягощают прогноз [2, 4]. Если у пациентов развивается септический шок (СШ), уровень летальности в развивающихся странах может превышать 80 % [1, 5, 6].

Основные цели оперативного вмешательства при РГП остаются неизменными: контроль контаминации, устранение повреждений, реконструкция утечек [5–8]. Потенциальным вариантом уменьшения попадания биомедиаторов из брюшной полости в системный кровоток является вакуум-ассистированная (VAC) лапаростомия [8–10], при которой достигается контроль источника инфекции, профилактика абдоминального компартмент-синдрома (АКС) [5, 11]. Согласованные рекомендации признанных сообществ – Всемирного общества абдоминального компартмент-синдрома (The World Society for the Abdominal Compartment Syndrome), Международного общества неотложной хирургии (World Society of Emergency Surgery), Международного регистра по методике «открытого живота» (International Register of Open Abdomen) и Российского общества хирургов сходятся на том, что использование лапаростомии является неотъемлемой частью лечения тяжёлого РГП и АС [12–15].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести первоначальный сравнительный анализ эффективности применения вакуум-ассистированной лапаростомии и программированной релапаротомии при распространённом гнойном перитоните и абдоминальном сепсисе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн и условия проведения исследования

Исследование состояло из двух этапов. На первом (ретроспективном) этапе произведён анализ первичной медицинской документации пациентов, проходивших лечение на клинических базах кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России – ГУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 25» и ГУЗ «Клиническая больница № 12» – в период с 01.01.2022 по 31.05.2023 методом программных релапаротомий; определены критерии для идентификации локальной и генерализованной формы интраабдоминальной инфекции (ИАИ). На втором этапе (проспективном, с 01.06.2023 по 12.12.2023) полученные ретроспективно критерии использовались для выбора способа контроля источника осложнённой ИАИ, в том числе для апробации VAC-лапаростомии.

Критерии включения и исключения пациентов из исследования, группы сравнения

За данный период было идентифицировано 36 пациентов с РГП. Из исследования были исключены 6 пациентов, которым была применена тактика релапаротомии «по требованию», и 6 пациентов с однократными вмешательствами для сравнения результатов использования программированной релапаротомии (ПРЛТ) с VAC-лапаростомией. Таким образом, из всей генеральной совокупности пациентов непосредственно для структурного анализа были выделены 24 пациента с РГП и применением активной хирургической тактики, что составило 66,7 %. Эти пациенты были разделены на две группы: 1-я группа – основная, с применением VAC-лапаростомии – 7 (29,2 %) пациентов; 2-я группа – контрольная, с применением ПРЛТ – 17 (70,8 %) пациентов.

Для определения вида ИАИ использовали модифицированные критерии диагностики АС: под отсутствием АС при РГП считали наличие внутрибрюшного источника инфекции + 1 или 2 критерия синдрома системной воспалительной реакции (ССВР), при этом возможно наличие одной органной недостаточности, а также кишечной недостаточности I стадии [1, 2].

Диагностика АС основывалась на наличии интраабдоминального очага инфекции + 3 или 4 критериев ССВР + множественной органной дисфункции и кишечной недостаточности II–III стадии [1, 2].

СШ диагностировали при сочетании артериальной гипотонии, не устраняемой полноценной инфузионной терапией и требующей применения вазопрессоров для поддержания среднего артериального давления выше 65 мм рт. ст., с повышением концентрации лактата в артериальной крови более 2 ммоль/л [1, 2].

Статистический анализ данных проводили с использованием MS Excel 2019 (Microsoft Corp., США).

Нулевая гипотеза основана на предположении об отсутствии различий в исходах лечения после VAC-лапаростомии и ПРЛТ у пациентов с РГП при ургентной абдоминальной патологии и повреждении живота.

Для количественного представления влияния различных бинарных параметров на исход изучаемого события в нашем исследовании, учитывая сравнение ретроспективной и проспективной когорт пациентов, определяли отношение шансов (ОШ) и относительный

риск (ОР). Для парных межгрупповых сравнений количественных непрерывных переменных был использован непараметрический критерий U Манна – Уитни. Для множественных сравнений (при анализе многопольных таблиц) использовали дополнительно тест Chi-квадрат (χ^2) Пирсона с поправкой Бенджамини – Хохберга. Статистически значимыми считались результаты в группах сравнения при пороговом уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Техника выполнения вакуум-ассистированной лапаростомии

Показаниями для VAC-лапаростомии считали наличие запущенных форм РГП или подтверждённый диагноз АС, развитие АКС, некротические изменения париетальной брюшины/флегмона передней брюшной стенки.

Для создания локального отрицательного давления использовали аппарат RENASYS EZ MAX (Smith&Nephew Medical Ltd., Великобритания) с принадлежностями: одноразовыми контейнерами объёмом 800,0 мл со встроенными одноразовыми бактериальными фильтрами и оригинальными абдоминальными комплектами с мягкой порт-системой RENASYS AB (рис. 1, 2).

Создавали диапазон отрицательного давления на уровне 70–80 мм рт. ст. Этапные санации с заменой системы проводили с периодичностью 24–48 ч. Внутрибрюшное давление контролировали через уретральный катетер. Брюшную полость закрывали, когда риск АКС был купирован, источник АС контролировался, и повторная релапаротомия (РЛТ) больше не требовалась. По возможности использовали раннее фасциальное закрытие – в первые 4–7 дней после операции.

Соблюдение этических норм

Исследование выполнено в соответствии с этическими стандартами, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (World Medical Association Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Resarch Involving Human Subjects, 2013), Федеральной политикой по защите прав субъектов («Общая практика») (US Federal Policy for the Protection of Human Subjects), Руководством Европейского медицинского агентства по надлежащей клинической практике (European Medicines Agency Guidelines for Good Clinical Practice) и Приказом Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 № 200н «Об утверждении правил клинической практики», одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (выписка из протокола № 129 от 22.05.2023). Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в проспективной части исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение пациентов с РГП представлено в таблице 1; при межгрупповом и внутригрупповом анализе статистически значимых отличий не получено.

По полу группы были сопоставимы, пациентов мужского пола было 58,3 % (14 человек). Возраст пациентов варьировал от 40 до 82 лет; 10 (41,7 %) пациентов были молодого и среднего возраста, 14 (58,3 %) – пожилого и старческого.



РИС. 1.
Аппарат RENASYS EZ MAX
FIG. 1.
RENASYS EZ MAX device

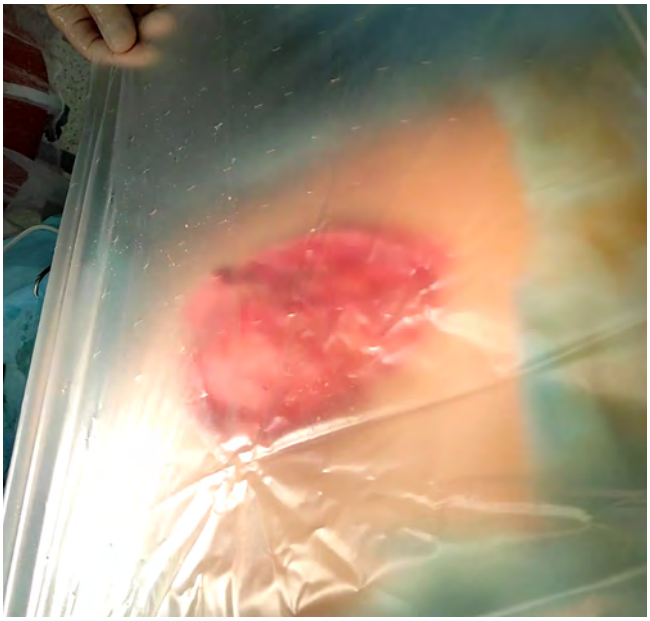


РИС. 2.
Абдоминальный комплект для вакуум-ассистированной лапаростомии
FIG. 2.
Abdominal kit for vacuum-assisted laparostomy

Для скрининга пациентов с высокой вероятностью развития органных расстройств, возможно, связанных с формированием очага инфекции и, соответственно, с возможностью развития сепсиса, а также для рассмотрения вопроса о целесообразности ранней госпитализации в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) использовали критерии упрощённой шкалы органной недостаточности qSOFA (quick Sepsis (Sequential) Organ Failure Assessment), позволяющие предполагать наличие сепсиса по клиническим признакам без лабораторных исследований: изменение сознания по шкале комы Глазго менее 15; снижение систолического артериального давления менее 100 мм рт. ст.; частота дыхания 22 и более. Каждому из признаков придаётся по 1 баллу. В нашем исследовании у одного пациента из группы ПРЛТ вероятность развития сепсиса составила около 80 % (табл. 2). У всех остальных пациентов баллы по шкале qSOFA были меньше 2, что обусловлено достаточно стабильным состоянием на момент поступления.

Причины развития РГП представлены в таблице 3: чаще встречались перфорации полых органов (45,9 %) и осложнённый рак толстой кишки (16,7 %).

Объём первичной операции у больных с РГП представлен в таблице 4.

Для оценки исходной степени тяжести состояния пациентов с РГП, построения клинического прогноза и оп-

ТАБЛИЦА 1

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ В СООТВЕТСТВИИ С КРИТЕРИЯМИ АБДОМИНАЛЬНОГО СЕПСИСА

TABLE 1

DISTRIBUTION OF PATIENTS ACCORDING TO ABDOMINAL SEPSIS CRITERIA

Степень тяжести перитонита	Количество больных				
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	ОШ, ОР, ДИ, *p*	Всего	
				абс.	%
РГП без сепсиса	2	7	ОШ = 0,571 (95% ДИ: 0,085–3,833); ОР = 0,694 (95% ДИ: 0,106–2,464); *p* = 0,669	9	37,5
РГП с абдоминальным сепсисом	3	8	ОШ = 0,844 (95% ДИ: 0,143–4,974); ОР = 0,911 (95% ДИ: 0,218–2,335); *p* = 1,000	11	45,8
РГП с септическим шоком	2	2	ОШ = 3,000 (95% ДИ: 0,330–27,234); ОР = 2,429 (95% ДИ: 0,259–22,074); *p* = 0,552	4	16,7
p	$p_{без\ с/АС} = 1,000$ $p_{без\ с/СШ} = 1,000$ $p_{АС/СШ} = 1,000$	$p_{без\ с/АС} = 1,000$ $p_{без\ с/СШ} = 0,118$ $p_{АС/СШ} = 0,057$	$\chi^2 = 1,0695187$; df = 2; *p* = 0,585810 Нулевая гипотеза (H_0) не опровергнута	–	
Итого	**7**	**17**		**24**	**100**

ТАБЛИЦА 2

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ ПО ШКАЛЕ QSOFA ПРИ ПОСТУПЛЕНИИ

TABLE 2

DISTRIBUTION OF PATIENTS ACCORDING TO THE QSOFA SCORE AT THE ADMISSION

Баллы по шкале qSOFA при поступлении	Количество больных				
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	ОР, ДИ, p	Всего	
				абс.	%
< 2	7	16	ОР = 1,063 (95% ДИ: 0,868–1,063); *p* = 1,000	23	95,8
≥ 2	–	1	ОР = 0,000 (95% ДИ: 0,000–41,601); *p* = 1,000	1	4,2
p	*p* = 0,001	*p* = 0,000	$\chi^2 = 0,42966753$; df = 1; p = 0,512152 Скорректированный анализ: $\chi^2 = 0,21921812$; df = 1; *p* = 0,639636 Нулевая гипотеза (H_0) при межгрупповом анализе не опровергнута	–	
Итого	**7**	**17**		**24**	**100**

тимизации хирургического контроля источника воспаления, а также для прогнозирования исхода был использован Мангеймский перитонеальный индекс (MPI, Mannheim Peritonitis Index). Наибольшее количество пациентов с РГП имели состояние второй (50,0 %) и третьей (41,7 %) степени тяжести по баллам MPI; прогнозируемая летальность при этом составляла 22,3 % и 59,1 % соответственно (табл. 5).

ТАБЛИЦА 3

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ ПО ЭТИОЛОГИИ ПЕРИТОНИТА

TABLE 3

DISTRIBUTION OF PATIENTS ACCORDING TO THE ETIOLOGY OF PERITONITIS

Причина перитонита	Количество больных			
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	Всего	
			абс.	%
Перфорация полого органа	1 (пролежень сигмовидной кишки каловым камнем)	10 (3 – перфоративные гастродуоденальные язвы; 2 – перфорации острых язв тонкой кишки; 2 – пролежень сигмовидной кишки каловым камнем; 1 – ятрогенная перфорация во время колоноскопии; 1 – перфорация острой язвы толстой кишки на фоне туберкулёза и ВИЧ; 1 – перфорация острой язвы толстой кишки при сочетанной травме)	11	45,9
Рак толстой кишки	1	3	4	16,7
Дивертикулярная болезнь толстой кишки	–	2	2	8,3
Острый аппендицит	–	2	2	8,3
Ущемлённая грыжа	2	–	2	8,3
Острая кишечная непроходимость	2 (1 – спаечная ОКН с интраабдоминальными абсцессами, некрозом тонкой кишки; 1 – странгуляционная ОКН (заворот) с некрозом тонкой кишки)	–	2	8,3
Проникающее ранение живота	1	–	1	4,2
Итого	**7**	**17**	**24**	**100**

Примечание. ОКН – острая кишечная непроходимость.

ТАБЛИЦА 4

ХАРАКТЕР ПЕРВИЧНОЙ ОПЕРАЦИИ У БОЛЬНЫХ С РАСПРОСТРАНЁННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ

TABLE 4

THE TYPE OF THE PRIMARY SURGERY IN PATIENTS WITH WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS

Первичная операция	Количество больных			
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	Всего	
			абс.	%
Операция Гартмана	-	9	9	37,5
Ушивание полого органа	1	4	5	20,9
Резекция тонкой кишки	2	2	4	16,7
Кишечная стома	2	-	2	8,3
Грыжесечение	2	-	2	8,3
Аппендэктомия	-	2	2	8,3
Итого	**7**	**17**	**24**	**100**

При межгрупповом анализе распределения пациентов по степени тяжести РГП в баллах MPI статистически значимых отличий не выявлено; при внутригрупповом анализе статистически значимые отличия получены только в контрольной группе – статистически значимо большее число пациентов имели состояние второй и третьей степени тяжести по баллам MPI.

Для оценки тяжести состояния больных и прогноза при АС использовали шкалу SOFA, которая позволяет определять в количественном выражении тяжесть органно-системных нарушений. Нулевое значение по шкале SOFA указывает на отсутствие органной дисфункции.

Мы оценивали показатели по шкале SOFA при поступлении в ОРИТ на 0-е, 1-е, 3-и, 5-е и 8-е сутки и рассчитывали показатели по максимальной оценке баллов в динамике, для того чтобы не пропустить начало развития АС или СШ, так как не все пациенты при поступлении имели органную дисфункцию. У многих пациентов АС диагностирован только в раннем послеоперационном периоде или при развитии осложнений. Увеличение на 2 балла и более по шкале SOFA от исходного уров-

ТАБЛИЦА 5

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ С РАСПРОСТРАНЁННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ ПО ЗНАЧЕНИЮ MPI (ПОСЛЕ ЛАПАРОТОМИИ)

TABLE 5

DISTRIBUTION OF PATIENTS WITH WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS IN COMPARISON GROUPS BY MPI SCORE (AFTER LAPAROTOMY)

Баллы MPI	Количество больных				
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	ОШ, ОР, ДИ, *p*	Всего	
				абс.	%
< 21	1	1	ОШ = 2,667 (95% ДИ: 0,143–49,756); ОР = 2,429 (95% ДИ: 0,067–87,608); *p* = 0,507	2	8,3
21–29	5	7	ОШ = 3,571 (95% ДИ: 0,532–23,953); ОР = 1,735 (95% ДИ: 0,608–2,989); *p* = 0,371	12	50
> 29	1	9	ОШ = 0,148 (95% ДИ: 0,015–1,510); ОР = 0,270 (95% ДИ: 0,013–1,401); *p* = 0,172	10	41,7
p	$p_{<21/21–29} = 0,103$ $p_{<21/>29} = 1,000$ $p_{21–29/>29} = 0,103$	$p_{<21/21–29} = 0,039$ $p_{<21/>29} = 0,007$ $p_{21–29/>29} = 0,732$	$\chi^2 = 3,1058824$; df = 2; *p* = 0,211625 Нулевая гипотеза (H_0) не опровергнута	–	
Итого	**7**	**17**		**24**	**100**

ТАБЛИЦА 6

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ С РАСПРОСТРАНЁННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В СООТВЕТСТВИИ С КРИТЕРИЯМИ СЕПСИСА ПО ШКАЛЕ SOFA

TABLE 6

DISTRIBUTION OF PATIENTS WITH WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS ACCORDING TO THE SEPSIS CRITERIA ON THE SOFA SCALE

Рост в динамике баллов по шкале SOFA	Количество больных				
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	ОШ, ОР, ДИ, *p*	Всего	
				абс.	%
< 2	2	7	ОШ = 0,571 (95% ДИ: 0,085–3,833); ОР = 0,694 (95% ДИ: 0,106–2,464); *p* = 0,669	9	37,5
≥ 2	5	10	ОШ = 1,750 (95% ДИ: 0,261–11,737); ОР = 1,214 (95% ДИ: 0,478–1,920); *p* = 0,669	15	62,5
p	*p* = 0,286	*p* = 0,669	$\chi^2 = 0,33613446$; df = 1; *p* = 0,562069 Скорректированный анализ: $\chi^2 = 0,013445378$; df = 1; *p* = 0,907689 Нулевая гипотеза (H_0) не опровергнута	–	
Итого	**7**	**17**		**24**	**100**

ня выявлено у 15 (62,5 %) пациентов, при этом в группе VAC-лапаростомии АС был подтверждён в 71,4 % случаев (p = 0,286; табл. 6); при межгрупповом и внутригрупповом анализе статистически значимых отличий не выявлено.

Максимальное число РЛТ составило 7 (табл. 7). Однократную РЛТ для купирования перитонита было достаточно выполнить у 14 (58,3 %) пациентов.

Среднее количество РЛТ в группе ПРЛТ на одного пациента составило 1,2, в группе VAC-лапаростомии – 4,1 (p < 0,01); при этом количество пациентов с АС и СШ в группах было сравнимо (71,4 % против 58,8 % соответственно; p = 0,669). Средняя продолжительность использования VAC-терапии составила 2,6 суток.

В процессе лечения у больных с РГП и АС были выявлены различные осложнения, которые нередко имели множественный характер (табл. 8). В группе ПРЛТ наиболее часто встречались экстраабдоминальные осложнения (50 %), в группе VAC-лапаростомии – интраабдоминальные (67,9 %). Стоит отметить, что такого грозного осложнения, как кишечные свищи, описанного в литературе, в наших наблюдениях зарегистрировано не было.

Также следует отметить статистически значимо большую частоту развития интраабдоминальных осложнений (p = 0,012), но меньшую – экстраабдоминальных (p = 0,012) в основной группе по сравнению с контрольной; по развитию осложнений в области хирургического вмешательства статистически значимых отличий не получено.

По стратификации открытого живота по М. Бьёрку (M. Björck) в группе ПРЛТ преобладала 1-я степень осложнений, т. е. не было фиксации между петлями кишечника и брюшной стенкой во всех 17 случаях (табл. 9). В группе VAC-лапаростомии также преобладали осложнения 1-й степени, но встречались и осложнения 2-й и 3-й степени (развивающаяся фиксация и «замороженный» живот).

Средняя продолжительность нахождения пациентов в ОРИТ и в стационаре была меньше в контрольной группе, чем в основной (табл. 10). Такие показатели можно объяснить большей тяжестью состояния пациентов в группе VAC-лапаростомии, требующей многократных повторных хирургических вмешательств, и небольшим количеством наблюдений.

Общая летальность у больных с РГП составила 29,2 % – умерли 7 из 24 пациентов. Летальность была ниже в группе VAC-лапаростомии, чем в группе ПРЛТ: 14,3 % против 35,3 %, но статистически значимых отличий получено не было (табл. 11).

Причиной смерти в группе ПРЛТ в половине случаев были экстраабдоминальные осложнения и в трети случаев – продолжающийся перитонит (табл. 12). В основной группе умер 1 пациент от септического шока.

ТАБЛИЦА 7

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С РАСПРОСТРАНЁННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ ПО КОЛИЧЕСТВУ РЕЛАПАРОТОМИЙ

TABLE 7

DISTRIBUTION OF PATIENTS WITH WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS BY THE NUMBER OF RELAPAROTOMIES

Количество РЛТ	Количество больных			
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	Всего	
			абс.	%
1	–	14	14	58,3
2	1	2	3	12,5
3	2	1	3	12,5
4	2	–	2	8,3
5	–	–	–	–
6	1	–	1	4,2
7	1	–	1	4,2
U-критерий Манна – Уитни	Среднее = 4,142857 SEM = 0,6700594 SD(n) = 1,6413037 Медиана = 4,0	Среднее = 1,2352941 SEM = 0,13637674 SD(n) = 0,54550695 Медиана = 1,0	Сумма рангов: R_1 = 156,0; R_2 = 144,0; U = 116,0; U' = 3,0 > U_o = 3,0; U(0,05) = 28; U(0,01) = 19; $U_o \leq U$(0,01); p < 0,01	
Итого	**7**	**17**	**24**	**100**

Примечание. SEM – стандартная ошибка среднего значения (standard error of the mean); SD – стандартное отклонение (standard deviation).

ТАБЛИЦА 8
СТРУКТУРА ОСЛОЖНЕНИЙ В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ

TABLE 8
THE STRUCTURE OF COMPLICATIONS IN COMPARISON GROUPS

	Осложнения	Количество больных			
		1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	Всего	
				абс.	%
Интраабдоминальные	Несостоятельность анастомоза	5	2	7	13,5
	Несостоятельность кишечной стомы	3	1	4	7,7
	Перфорация полого органа	3	1	4	7,7
	Несостоятельность кишечной культи	1	2	3	5,8
	Абсцессы брюшной полости	3	-	3	5,8
	ОКН	2	-	2	3,8
	Некроз тонкой кишки	2	-	2	3,8
	Острые язвы, ЖКК	–	1	1	1,9
	p	ОШ = 5,127 (95% ДИ: 1,568–16,765); ОР = 2,327 (95% ДИ: 1,167–4,997)		p = 0,012	
	Итого	**19**	**7**	**26**	**50**
Экстраабдоминальные	Анемия	1	3	4	7,7
	Пневмония	1	3	4	7,7
	Гидроторакс	–	2	2	3,8
	Пневмоторакс	–	1	1	1,9
	Белково-энергетическая недостаточность	–	1	1	1,9
	ОНМК	1	-	1	1,9
	ОИМ	–	1	1	1,9
	ТЭВЛА	1	-	1	1,9
	Пролежень	–	1	1	1,9
	p	ОШ = 0,167 (95% ДИ: 0,044–0,628); ОР = 0,286 (95% ДИ: 0,085–0,806)		p = 0,007	
	Итого	**4**	**12**	**16**	**30,8**
Осложнения области хирургического вмешательства	Серома	–	4	4	7,7
	Открытый живот: чистый, «замороженный» живот (3А степень по M. Björck)	2	-	2	3,8
	Открытый живот: чистый, есть фиксация (2А степень по M. Björck)	2	-	2	3,8
	Эвентрация	–	1	1	1,9
	Флегмона послеоперационной раны	1	-	1	1,9
	p	ОШ = 0,826 (95% ДИ: 0,208–3,285); ОР = 0,857 (95% ДИ: 0,234–3,148)		p = 1,000	
	Итого	**5**	**5**	**10**	**19,2**
Всего		**28**	**24**	**52**	**100**

Примечание. ОКН – острая кишечная непроходимость; ЖКК – желудочно-кишечное кровотечение; ОНМК – острые нарушения мозгового кровообращения; ОИМ – острый инфаркт миокарда; ТЭВЛА – тромбоэмболия ветвей лёгочной артерии

ТАБЛИЦА 9

СТРАТИФИКАЦИЯ ОТКРЫТОГО ЖИВОТА ПО М. БЬЁРКУ (2016)

TABLE 9

STRATIFICATION OF THE OPEN ABDOMEN BY M. BJÖRCK (2016)

Степень открытого живота по Бьёрку	Количество больных			
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	Всего	
			абс.	%
1-я степень	3	17	20	83,33
1A: чистый, нет фиксации между петлями кишечника и брюшной стенкой	2	16	18	75
1B: контаминированный (по результатам посева), нет фиксации между петлями кишечника и брюшной стенкой	1	–	1	4,165
1C: дефект полого органа, нет фиксации между петлями кишечника и брюшной стенкой	–	1	1	4,165
2-я степень	2	–	2	8,335
2A: чистый, есть фиксация между петлями кишечника и брюшной стенкой	2	–	2	8,335
2B: контаминированный (по результатам посева), есть фиксация между петлями кишечника и брюшной стенкой	–	–	–	–
2C: дефект полого органа, есть фиксация между петлями кишечника и брюшной стенкой	–	–	–	–
3-я степень	2	–	2	8,335
3A: чистый, «замороженный» живот	2	–	2	8,335
3B: контаминированный, «замороженный» живот, формирование центрального висцерального блока из плотно спаянных петель и органов	–	–	–	–
4-я степень: энтероатмосферный свищ, «замороженный» живот)	–	–	–	–

ТАБЛИЦА 10

СРЕДНЯЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ НАХОЖДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ В ОТДЕЛЕНИИ РЕАНИМАЦИИ И ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ И В СТАЦИОНАРЕ (ME [Q1; Q3]) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 10

THE AVERAGE LENGTH OF STAY OF PATIENTS IN THE ICU AND AT HOSPITAL (ME [Q1; Q3]) DEPENDING ON THE TREATMENT TACTICS

Отделения	Средний койко-день		Уровень статистической значимости (*p*), U-критерий Манна – Уитни
	ПРЛТ	VAC-лапаростомия	
ОРИТ	4,0 [2,0; 4,0]	14,0 [12,0; 15,0]	$p < 0,01$
Стационар	11,0 [7,0; 17,0]	36,0 [20,5; 39,5]	$p < 0,01$

ТАБЛИЦА 11

ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕТАЛЬНОСТИ ПРИ РАСПРОСТРАНЁННОМ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ

TABLE 11

MORTALITY RATES IN PATIENTS WITH WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS IN COMPARISON GROUPS

Группы пациентов	Количество пациентов	Умерло	Летальность (%)
ПРЛТ	17	6	35,3
VAC-лапаростомия	7	1	14,3
Итого	**24**	**7**	**29,17**
p	ОШ = 3,273 (95% ДИ: 0,316–33,943); ОР = 2,471 (95% ДИ: 0,405–53,903); $p = 0,625$		

ТАБЛИЦА 12

СТРУКТУРА ОСЛОЖНЕНИЙ В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ, ПРИВЕДШИХ К ЛЕТАЛЬНОМУ ИСХОДУ

TABLE 12

THE STRUCTURE OF COMPLICATIONS IN COMPARISON GROUPS THAT LED TO A FATAL OUTCOME

Причины летального исхода		Количество больных		
		1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	Всего
Интраабдоминальные	Продолжающийся перитонит	–	2	2
	Итого	–	2	2
Экстраабдоминальные	ОИМ1	–	1	1
	ТЭВЛА	–	1	1
	Острая сердечно-сосудистая недостаточность	–	1	1
	Итого	–	3	3
Генерализованные	Септический шок	1	1	2
	Итого	1	1	2
Всего		**1**	**6**	**7**

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённый анализ показателей летальности показал её рост в соответствии с тяжестью распространённого гнойного перитонита и наличием АС (табл. 13). В группе ПРЛТ умерли 4 из 8 пациентов с АС и оба пациента с СШ. В группе VAC-лапаростомии умер один из двух пациентов с СШ, а трое пациентов с АС выжили. Хотя статистически значимых отличий по уровню летальности в группах с различной степенью тяжести перитонита в зависимости от способа хирургического лечения выявлено не было, следует понимать, что, скорее всего, это обусловлено небольшим числом наблюдений, и метод VAC-лапаростомии, несомненно, заслуживает дальнейшего изучения при лечении данной тяжёлой когорты пациентов.

С целью верификации АС и СШ применимы наиболее простые и доступные критерии.

А.В. Шабунин и соавт. (2024) [16], сравнив результаты лечения похожих когорт пациентов (76 пациентов с ПРЛТ и 51 пациент с VAC-лапаростомией) с РГП, получили во второй группе меньшее число осложнений, реопераций, меньшую продолжительность стационарного лечения и летальность. Вышедший в печать в 2023 г. наш систематический обзор и метаанализ [9] (анализ нерандомизированных исследований из электронных баз eLibrary, PubMed, Cochrane Library, Science Direct, Google Scholar Search, Mendeley), посвящённый сравнению VAC-

ТАБЛИЦА 13

ПОКАЗАТЕЛИ ЛЕТАЛЬНОСТИ СРЕДИ БОЛЬНЫХ С РАСПРОСТРАНЁННЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИТОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ПЕРИТОНИТА И СПОСОБА ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 13

MORTALITY RATES IN PATIENTS WITH WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS, DEPENDING ON THE SEVERITY OF PERITONITIS AND THE METHOD OF SURGICAL TREATMENT

Степень тяжести перитонита	Количество больных			Различия между группами (ОШ, ДИ, *p*)
	1-я группа: VAC-лапаростомия	2-я группа: ПРЛТ	Всего, абс.	
РГП без сепсиса	0/2	0/7	0/9	–
РГП с абдоминальным сепсисом	0/3	4/8	4/11	ОШ = 0,500 (95% ДИ: 0,031–7,994); *p* = 1,000
РГП с септическим шоком	1/2	2/2	3/4	ОШ = 0,500 (95% ДИ: 0,013–19,564); *p* = 1,000
Итого	1/7	6/17	7/24	ОШ = 3,273 (95% ДИ: 0,316–33,943); *p* = 0,625

лапаростомии с другими вариантами этапного лечения распространённого перитонита при травме живота и неотложной абдоминальной патологии, показал, что программированные реоперации сопровождаются меньшим количеством повторных операций (всего 2 исследования – 38 пациентов), что согласуется с результатами нашего исследования; по послеоперационной летальности статистически значимых различий нами получено не было (2 исследования – 38 пациентов), по другим показателям данных для сравнения было недостаточно.

Открытый живот с применением VAC-лапаростомии эффективен в борьбе с нарушенной физиологией критических заболеваний, когда не существует других предполагаемых вариантов. Его использование остаётся очень спорным, поскольку это неанатомическая ситуация с потенциальными серьёзными побочными эффектами и повышенным использованием ресурсов. Более того, отсутствие точных данных требует тщательной адаптации его использования к каждому отдельному пациенту, стараясь не злоупотреблять им. Попытка ушивания брюшной полости должна быть предпринята, как только пациент сможет физиологически её переносить. Следует предпринять все возможные меры предосторожности, чтобы свести к минимуму осложнения. Своевременное управление рисками послужит залогом безопасного лечения пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, модифицированные критерии АС могут быть применены с целью определения оптимальной тактики хирургического лечения пациентов с распространённым гнойным перитонитом и абдоминальным сепсисом. При применении вакуум-ассистированной лапаростомии увеличивается продолжительность лечения как в реанимационном отделении, так и в стационаре, требуется большее количество повторных вмешательств, но при этом снижается уровень летальности, хотя и статистически не значимо. Учитывая несогласованность выводов различных исследований, необходимы дальнейшие рандомизированные клинические исследования для повышения силы доказательности и убедительности рекомендаций.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи декларируют отсутствие конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт средств государственного научного гранта Волгоградской области «Эффективность и безопасность технологии NPWT при лечении пациентов с абдоминальным сепсисом» на основании постановления Администрации Волгоградской области от 26.07.2019 № 365-п «О порядке предоставления государственных научных грантов Волгоградской области» и приказа Комитета экономической политики и развития Волгоградской области от 30.11.2022 № 135.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Маскин С.С., Карсанов А.М., Дербенцева Т.В., Александров В.В., Пароваткин М.И. Распространенный гнойный перитонит: поиски точек опоры для повышения безопасности лечения. *Клиническая больница.* 2022; 2(34): 35-41. [Maskin SS, Karsanov AM, Derbentseva TV, Aleksandrov VV, Parovatkin MI. Diffuse purulent peritonitis: Searching for focus to improve the safety of treatment. *The Hospital*. 2022; 2(34): 35-41. (In Russ.)]. doi: 10.56547/22263071_2022_2_35

2. Карсанов А.М., Сажин В.П., Маскин С.С., Ремизов О.В., Коровин А.Я. *Сепсис (четверть века поисков).* Владикавказ; 2017. [Karsanov AM, Sazhin VP, Maskin SS, Remizov OV, Korovin AYa. *Sepsis (a quarter of a century of searches)*. Vladikavkaz; 2017. (In Russ.)].

3. Brakenridge SC, Efron PA, Cox MC, Stortz JA, Hawkins RB, Ghita G, et al. Current epidemiology of surgical sepsis: Discordance between inpatient mortality and 1-year outcomes. *Ann Surg*. 2019; 270(3): 502-510. doi: 10.1097/SLA.0000000000003458

4. Cox MC, Brakenridge SC, Stortz JA, Hawkins RB, Darden DB, Ghita GL, et al. Abdominal sepsis patients have a high incidence of chronic critical illness with dismal long-term outcomes. *Am J Surg*. 2020; 220(6): 1467-1474. doi: 10.1016/j.amjsurg.2020.07.016

5. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Crit Care Med*. 2021; 49(11): e1063-e1143. doi: 10.1097/CCM.0000000000005337

6. Багненко С.Ф., Байбарина Е.Н., Белобородов В.Б. *Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение; 4-е изд., доп. и перераб.* М.: МИА-МЕД, 2017. [Bagnenko SF, Baibarina EN, Beloborodov VB. *Sepsis: Classification, clinical and diagnostic concept and treatment; 4th ed., enlarged and revised.* Moscow: MIA-MED; 2017. (In Russ.)].

7. Гельфанд Б.Р. (ред.). *Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Практическое руководство.* М.: МИА, 2017. [Gelfand BR (ed.). *Sepsis: Classification, clinical and diagnostic concept and treatment. A practical guide.* Moscow: MIA; 2017. (In Russ.)].

8. Hecker A, Reichert M, Reuß CJ, Schmoch T, Riedel JG, Schneck E, et al. Intra-abdominal sepsis: New definitions and current clinical standards. *Langenbecks Arch Surg*. 2019; 404(3): 257-271. doi: 10.1007/s00423-019-01752-7

9. Маскин С.С., Александров В.В., Матюхин В.В., Дербенцева Т.В., Рашид А., Сигаев С.М., и др. Вакуум-ассистированная лапаростомия при тяжёлой травме живота и ургентной абдоминальной патологии с компартмент-синдромом, перитонитом и сепсисом: сравнительные аспекты с другими вариантами многоэтапного хирургического лечения (систематический обзор и метаанализ). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 170-203. [Maskin SS, Aleksandrov VV, Matyukhin VV, Derbentseva TV, Rachid A, Sigaev SM, et al. Vacuum-assisted laparostomy in severe abdominal trauma and urgent abdominal pathology with compartment syndrome, peritonitis and sepsis: Comparison with other options for multistage surgical treatment (systematic review and meta-analysis). *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 170-203. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.19

10. Cristaudo A, Jennings S, Gunnarsson R, DeCosta A. Complications and mortality associated with temporary abdominal

closure techniques: A systematic review and meta-analysis. *Am Surg*. 2017; 83(2): 191-216.

11. Kirkpatrick AW, Coccolini F, Ansaloni L, Roberts DJ, Tolonen M, McKee JL, et al. Closed or open after source control laparotomy for severe complicated intra-abdominal sepsis (the COOL trial): Study protocol for a randomized controlled trial. *World J Emerg Surg*. 2018; 13: 26. doi: 10.1186/s13017-018-0183-4

12. Sartelli M, Abu-Zidan FM, Ansaloni L, Bala M, Beltrán MA, Biffl WL, et al. The role of the open abdomen procedure in managing severe abdominal sepsis: WSES position paper. *World J Emerg Surg*. 2015; 10: 35. doi: 10.1186/s13017-015-0032-7

13. Sartelli M, Chichom-Mefire A, Labricciosa FM, Hardcastle T, Abu-Zidan FM, Adesunkanmi AK, et al. The management of intra-abdominal infections from a global perspective: 2017 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg*. 2017; 12: 29. doi: 10.1186/s13017-017-0141-6

14. Гельфанд Б.Р., Кириенко А.И., Хачатрян Н.Н. (ред.). *Абдоминальная хирургическая инфекция. Российские национальные рекомендации*. М.: МИА; 2018. [Gelfand BR, Kiriyenko AI, Khachatryan NN (eds). *Abdominal surgical infection. Russian national recommendations*. Moscow: MIA; 2018. (In Russ.)].

15. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315(8): 801-810. doi: 10.1001/jama.2016.0287

16. Шабунин А.В., Бедин В.В., Долидзе Д.Д., Эминов М.З., Бочарников Д.С. Роль вакуум-ассистированной лапаростомы в лечении распространенного перитонита. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2024; (5): 7-13. [Shabunin AV, Bedin VV, Dolidze DD, Eminov MZ, Bocharnikov DS. Vacuum-assisted laparostomy for advanced peritonitisis. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2024; (5): 7-13. (In Russ.)]. doi: 10.17116/hirurgia20240517

Сведения об авторах

Маскин Сергей Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: maskins@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-5275-4213

Дербенцева Татьяна Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tatyana-derbenceva@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5735-9557

Александров Василий Владимирович – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: 79178304989@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8364-8934

Матюхин Виктор Викторович – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: victor.matyukhin@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-8195-6172

Карсанов Алан Мухарбекович – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры хирургических болезней № 3, ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: karsan@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0001-8977-6179

Гольбрайх Вячеслав Аркадьевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: golbrah@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-2589-4322

Климович Игорь Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: klimovichigor1122@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7933-2635

Фетисов Николай Иванович – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: koir60@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-0920-3395

Михаил Иванович Пароваткин – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: strelec1953@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7595-670X

Надельнюк Яна Валентиновна – ассистент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: nadelnuk@mail.ru, https://orcid.org/0009-0001-7720-7371

Пономарев Константин Эдуардович – соискатель кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ponomarevke@mail.ru, https://orcid.org/0009-0004-7492-5177

Павлов Александр Владимирович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: necronimus@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1497-4231

Рашид Азад – соискатель кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: azad92rasheed@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-8294-3795

Сигаев Сергей Михайлович – соискатель кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: sersigaeff@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-2481-6608

Бирюлев Дмитрий Сергеевич – соискатель кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: Kotovo111083@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-0631-1008

Овсянникова Милена Павловна – студентка лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: milenaovsyannikova025@mail.ru, https://orcid.org/0009-0005-0613-2896

Шмырев Константин Анатольевич – соискатель кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: drkash@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0007-4545-4689

Подуруева-Милоевич Виктория Юрьевна – старший преподаватель кафедры иностранных и латинского языков, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: viktorija-milojevic@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-1555-6362

Information about the authors

Sergey S. Maskin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: maskins@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-5275-4213

Tatyana V. Derbentseva – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: tatyana-derbenceva@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5735-9557
Vasiliy V. Aleksandrov – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: 79178304989@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8364-8934
Viktor V. Matyukhin – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: victor.matyukhin@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-8195-6172
Alan M. Karsanov – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Surgical Diseases No. 3, North Ossetian State Medical Academy, e-mail: karsan@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0001-8977-6179
Vyacheslav A. Golbraikh – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: golbrah@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-2589-4322
Igor N. Klimovich – Dr. Sc. (Med.), Professor, Professor at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: klimovichigor1122@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7933-2635
Nikolay I. Fetisov – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: koir60@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-0920-3395
Mikhail I. Parovatkin – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: strelec1953@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7595-670X
Yana V. Nadelnyuk –Teaching Assistant at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: nadelnuk@mail.ru, https://orcid.org/0009-0001-7720-7371
Konstantin E. Ponomarev – Applicant at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: ponomarevke@mail.ru, https://orcid.org/0009-0004-7492-5177
Alexandr V. Pavlov – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: necronimus@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1497-4231
Azad Rachid – Applicant at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: azad92rasheed@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-8294-3795
Sergey M. Sigaev – Applicant at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: sersigaeff@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-2481-6608
Dmitriy S. Biriulev – Applicant at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: Kotovo111083@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-0631-1008
Milena P. Ovsyannikova – Student at the Faculty of Medicine, Volgograd State Medical University, e-mail: milenaovsyannikova025@mail.ru, https://orcid.org/0009-0005-0613-2896
Konstantin A. Shmyrev – Applicant at the Department of Hospital Surgery, Volgograd State Medical University, e-mail: drkash@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0007-4545-4689
Victoria Yu. Podurueva-Miloevich – Senior Lecturer at the Department of Modern and Latin Languages, Volgograd State Medical University, e-mail: viktorija-milojevic@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-1555-6362

Вклад авторов

Маскин С.С. – 10 %: концепция и дизайн исследования, редактирование.
Дербенцева Т.В. – 10 %: сбор и обработка материала, написание текста.
Александров В.В. – 5 %: сбор и обработка материала.
Матюхин В.В. – 5 %: сбор и обработка материала.
Карсанов А.М. – 5 %: сбор и обработка материала.
Гольбрайх В.А. – 5 %: сбор и обработка материала.
Климович И.Н. – 5 %: сбор и обработка материала.
Фетисов Н.И. – 5 %: сбор и обработка материала.
Пароваткин М.И. – 5 %: сбор и обработка материала.
Надельнюк Я.В. – 5 %: сбор и обработка материала.
Пономарев К.Э. – 5 %: сбор и обработка материала.
Павлов А.В. – 5 %: сбор и обработка материала.
Рашид А. – 5 %: сбор и обработка материала.
Сигаев С.М. – 5 %: сбор и обработка материала.
Бирюлев Д.С. – 5 %: сбор и обработка материала.
Овсянникова М.П. – 5 %: сбор и обработка материала.
Шмырев К.А. – 5 %: сбор и обработка материала.
Подуруева-Милоевич В.Ю. – 5 %: сбор и обработка материала.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
EXPERIMENTAL RESEARCHES

БОЛЕЗНЬ ЛЕГГА – КАЛЬВЕ – ПЕРТЕСА: МОДИФИКАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ И ЕЁ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ

Сертакова А.В. [1],
Ульянов В.Ю. [1],
Садчиков Д.Д. [2]

[1] Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России (410002, г. Саратов, ул. Чернышевского, 148, Россия)

[2] ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России (410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сертакова Анастасия Владимировна,
e-mail: anastasiya-sertakova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Болезнь Легга – Кальве – Пертеса (БЛКП) – распространённая форма остеонекроза головки бедра у детей. До настоящего времени знания в отношении этиологии, патогенеза и клинических проявлений частичны и не создают целостной картины заболевания. Несмотря на современные успехи в понимании БЛКП, стандартными методами лечения остаются хирургические вмешательства и ликвидация нагрузки. В настоящее время необходимо разрабатывать новые стратегии как изучения патогенеза болезни, так и выбора методов лечения.

Цель исследования. *Воспроизведение и разработка морфологических критериев ранней стадии болезни Легга – Кальве – Пертеса (1–2-я стадия по Waldenström).*

Материалы и методы. *Для воспроизведения эксперимента отобрано 6 особей молодняка кролика в возрасте 3–4 месяца породы Серый великан (фландр). Для моделирования ранних стадий БЛКП была использована патофизиологическая модель И.И. Кужеливского и соавт. (2016) с применением параартикулярных инъекций адреналина в сочетании с физической нагрузкой. Мы модифицировали физические нагрузки модели путём ежедневного свободного вольерного выгула животных в течение 1,5–3 часов.*

Результаты. *В ходе эксперимента доказана состоятельность модифицированной модели и предложены её морфологические критерии. Гистологически был подтверждён процесс остеохондропатии, где обнаружили классические признаки повреждения субхондральной кости, гиалинового хряща, а также явления аномальной васкуляризации участков хряща и патологический неоангиогенез.*

Заключение. *Методика нетравматичной модели остеонекроза с использованием молодняка кролика продемонстрировала первичные результаты по воспроизведению патологических звеньев процесса при остеонекрозе. Со стороны хрящевой ткани фиксировали утрату изогенности строения хондроцитов и расположения их в виде «столбиков»; её расслоение и замещение фиброзной тканью, включающей фибробластоподобные клетки и коллагеновые волокна; неоваскуляризацию хряща и стойкую смешанную гиперемию. В костном мозге отметили активацию только красного ростка крови. В костной ткани выявили нарушение остеонного строения с мозаичным расположением костных балок, наличие лакунарной резорбции, дегенерацию остеобластов.*

Ключевые слова: *болезнь Легга – Кальве – Пертеса, экспериментальная модель, остеонекроз, головка бедра, кролик, детский возраст*

Статья поступила: 22.05.2024
Статья принята: 16.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Сертакова А.В., Ульянов В.Ю., Садчиков Д.Д. Болезнь Легга – Кальве – Пертеса: модификация экспериментальной модели и её морфологические критерии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 218-227. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.22

LEGG – CALVE – PERTHES DISEASE: MODIFICATION OF THE EXPERIMENTAL DESIGN AND ITS MORPHOLOGICAL CRITERIA

Sertakova A.V. [1],
Ulyanov V.Yu.[1],
Sadchikov D.D. [2]

[1] Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University (Chernyshevskogo str. 148, Saratov 410002, Russian Federation)
[2] V.I. Razumovsky Saratov State Medical University (Bolshaya Kazachya str. 112, Saratov 410002, Russian Federation)

Corresponding author:
Anastasia V. Sertakova,
e-mail: anastasiya-sertakova@yandex.ru

ABSTRACT

Legg – Calve – Perthes disease (LCPD) is the most common femoral head osteonecrosis in children. Until now, the knowledge of etiology, pathogenesis and clinical signs is partial and does not provide a coherent view of the disease. Despite modern advances in understanding and diagnosing of the disease, surgical interventions and stress release remain the standard treatment methods. Now there is a need to develop both new strategies for studying the pathogenesis of the disease and choosing methods of its treatment.

The aim. *Reproduction and development of morphological criteria for the early stage of Legg – Calve – Perthes disease (stages 1–2 by the modified Waldenström classification system).*

Materials and methods. *The research involved 6 young gray giant rabbits (Flandres) aged 3–4 months. The early stages of LCPD were simulated by the pathophysiological model of Kuzhelivsky I.I. et al. (2016) with paraarticular adrenaline injections along with physical activity. We modified the physical activity regime for the subjects by daily free range for 1.5–3 hours.*

Results. *The experiment confirmed the validity of the modified simulation and designed its morphological criteria. The osteochondropathy process was verified histologically, we also revealed the classic signs of damage to subchondral bone and hyaline cartilage as well as abnormal vascularization of cartilage sites and pathological neoangiogenesis.*

Conclusion. *The technique of non-traumatic osteonecrosis simulation in young rabbits featured initial results in reproducing the pathological links of osteonecrosis process. The cartilage tissue featured the loss of isogeneity in chondrocytes structure and their column-like arrangement; its delamination and replacement with fibrous tissue, including fibroblast-like cells and collagen fibers; cartilage neovascularization and persistent mixed hyperemia. In the bone marrow, only the activation of the red blood cell line was noted. The bone tissue featured the abnormality of osteon structure with a mosaic arrangement of trabeculae as well as lacunar resorption, and osteoblast degeneration.*

Key words: *Legg – Calve – Perthes disease, experimental model, osteonecrosis, femoral head, rabbit, childhood*

Received: 22.05.2024
Accepted: 16.12.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Sertakova A.V., Ulyanov V.Yu., Sadchikov D.D. Legg – Calve – Perthes disease: Modification of the experimental design and its morphological criteria. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 218-227. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.22

ОБОСНОВАНИЕ

Болезнь Легга – Кальве – Пертеса (БЛКП) остаётся самой распространённой формой остеонекроза головки бедра у детей. Это заболевание длительно является спутником человечества: известны археологические находки скелетов подростков с характерными признаками, датируемые 3–6 в. до н. э. (этрусский некрополь Италии), а также 2–4 в. до н. э. (провинция Шэньси, Китай) [1, 2]. Несмотря на длительную историю, основные аспекты этиологии, патогенеза и лечения этого заболевания остаются неясными и дискуссионными. БЛКП возникает у детей в возрасте 5–12 лет (иногда дебют приходится на 3–4 года), составляя 25–30 % всей патологии тазобедренного сустава [3–5]. Ввиду высокой медицинской и социальной значимости в молодом возрасте (запоздалая диагностика, поздняя разгрузка сустава, длительное лечение и реабилитация, инвалидность) БЛКП постоянно изучается как научными, так и клиническими медицинскими сообществами [5]. В настоящее время диагностика БЛКП возможна на ранних стадиях благодаря распространению магнитно-резонансной томографии, молекулярной медицины [6, 7]. Некоторыми авторами предложена диагностика самых ранних стадий БЛКП с помощью иммунных предикторов – цитокинов: интерлейкина 6, интерферона γ, фактора некроза опухоли α и других [8].

Несмотря на успехи в понимании сути и в диагностике заболевания, стандартными методами лечения по-прежнему остаются хирургические вмешательства (остеотомии таза и/или бедра) и ликвидация нагрузки [5, 7]. В настоящее время необходимо разрабатывать новые стратегии лечения, поскольку появились ортобиологические методы использования ауто- и аллотрансплантатов, обогащённой тромбоцитарной плазмы (PRP, platelet-rich plasma), костномозговых дериватов (BMCs, bone marrow concentrates) [9–11]. Всё это возможно реализовать на стадии лабораторного эксперимента с использованием биологической модели, на которой можно воспроизвести стадийность патологического процесса, тестировать лечебные мероприятия [12].

Остеонекрозы (ОН) у детей выделены в группу «остеохондропатий», т. е. ОН с потенциальными возможностями частичной регенерации на фоне стадийности процесса [13–15]. БЛКП в этой группе занимает ведущее место в связи с поражением биомеханически значимого крупного сустава нижней конечности и медико-социальных последствий для человека [1–3]. Апробация методов лечения БЛКП в обязательном порядке должна включать доклинический этап, в частности моделирование ОН на биологической модели. В настоящее время существует достаточное количество моделей с индуцированным различными способами остеонекрозом [13, 16].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Воспроизведение морфологических признаков ранней стадии болезни Легга – Кальве – Пертеса (1–2-я стадия по Waldenström).

МЕТОДЫ

Дизайн исследования соответствовал этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных и был одобрен протоколом локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России (протокол № 7 от 01.02.2022).

Выбор модели был продиктован следующими параметрами: отражение совокупности этиологических факторов возникновения патологического процесса с учётом естественных условий возникновения; начальные стадии заболевания для возможности использования новых методов лечения патологии.

Для воспроизведения эксперимента отобрано 6 особей молодняка кролика породы Серый великан (фландр) в возрасте 3–4 мес. Экспериментальному воздействию подвергался один тазобедренный сустав животного, контрлатеральный сустав этой же особи являлся интактным образцом в исследовании. Данная порода обладает устойчивостью к заболеваниям, относится к мясо-шкурковому направлению селекции с высокой физической активностью. Среди особей было 3 самки со средней массой тела 2,5 кг, которым были присвоены номера I–III, и 3 самца со средней массой 2,7 кг, которым были присвоены номера IV–VI. При внешнем осмотре все кролики были активны, без признаков заболеваний (чистые склеры, нормальный цвет дёсен, языка и состояние зубов, без дефектов шкурки и анатомии). Самец IV отличался беспокойным поведением и небольшим тахипноэ, что обращало на себя внимание до начала эксперимента, однако не вызывало серьёзного беспокойства.

Для воспроизведения ранних стадий БЛКП была использована патофизиологическая модель И.И. Кужеливского и соавт. [17] с применением параартикулярных инъекций адреналина в течение 30 дней в сочетании с физической нагрузкой.

Данная модель выбрана нами не случайно, поскольку включает три важных звена формирования остеонекроза при БЛКП: сосудистое и нагрузочное (патогенетические аспекты), естественность процесса (ятрогенный аспект). Введение адреналина реализует концепцию идиопатической ишемии сосудов микроциркуляции головки бедренной кости с исходом в инфаркт и некроз, развитие фазных нарушений со стороны микроциркуляторного русла, падение внутрисосудистого давления с исходом в ишемический стаз, сладж эритроцитов и метаболический ацидоз [18, 19]. Локальное введение адреналина стимулировало возникновение периферического стресса и активацию альфа-адренорецепторов микроциркуляторных сосудов, активацию местных тучных клеток с исходом в длительную ишемию, стаз и нарушение кровоснабжения, но без фатального исхода.

Нагрузка позволяет реализовать фактор физической перегрузки повреждённого сустава, когда длительный латентный период заболевания отягчает последствия.

Кроме того, модель Кужеливского малоинвазивна и не требует хирургических манипуляций, что подтверждает её естественность.

В качестве модификации мы выполняли расчёт дозы адреналина для периартикулярного введения (авторы вводили взрослым особям массой 2,9–3,5 кг адреналин в дозе 0,17 мг на 1 кг; мы использовали динамическое варьирование дозы – от 0,12 до 0,14 мг на 1 кг массы). Это было связано с возрастом кроликов (молодняк) и отсутствием данных по смертности экспериментальных особей. Также модифицировали физические нагрузки путём свободного вольерного выгула кроликов в течение 1,5–3 ч (где 30 мин отводилось повышенным нагрузкам в виде бега и прыжков) ежедневно как на стадии введения препарата, так и после окончания, поскольку исходная нагрузка в виде 30 сгибаний/разгибаний в сутки у животного нам показалась недостаточной. Кролики относятся к беспокойному типу норных животных, двигательная активность которых в виде прыжков/перебежек/копания нор занимает не менее 8–12 ч в сутки. В связи с этим в исходной модели физическая нагрузка была недостаточной, однонаправленной и способствовала увеличению стресса животного от тесной клетки. Вольерный выгул позволял особям полноценно нагрузить все мышцы и нормализовать настроение.

Все кролики располагались в удобных клетках, получали полноценные корм (специальный комбикорм, овощи, травянистые растения, ветки деревьев и лозы винограда) и родниковую воду. Таким образом, мы старались воспроизвести максимально естественные и экологичные условия для содержания молодняка.

Всех животных обследовали следующим образом: до начала эксперимента (контрольная точка 1 – 1-е сутки эксперимента) всем кроликам было проведено рентгенологическое исследование тазобедренных суставов в прямой проекции и компьютерная томография (КТ). Заготовлены образцы тканей головки бедра (хрящ и субхондральная кость) по мере выведения кроликов из эксперимента. Через 30 дней экспериментальной фазы (контрольная точка 2 – 30-е сутки эксперимента) всем кроликам выполнено обследование, 4 особи были выведены из эксперимента (получен материал головки бедра как экспериментального, так и интактного сустава). Выполнено морфогистологическое исследование, окраска гематоксилином и эозином, увеличение: окуляр ×10, объектив ×20 (×200), ×40 (×400). Заготовленные препараты головки бедра (комплекс хрящ и субхондральная кость) фиксировали в 10%-м нейтральном растворе формалина, затем подвергали декальцинации в 15%-м растворе азотной кислоты. В дальнейшем осуществлялись проводка или обезвоживание по спиртам восходящей плотности (5 спиртов с выдержкой в каждом 24 ч), выдержка в касторовом масле в течение 72 ч. Финальным этапом служила проводка по хлороформу (хлороформ + парафин, 1:1), фиксация в парафине при 60 °С на 24 ч и окончательная заливка в парафин, микротомия полуавтоматическим ротационным микротомом RMD 3000 (MtPoint, Россия). Выполнено обзорное окрашивание гематоксилином и эозином. Оставшиеся особи (2 кролика) жили ещё 45 дней, когда было произведено повторное полное исследование для оценки отдалённых последствий (контрольная точка 3 – 75-е сутки эксперимента). Контрольный период в 45 дней не был случайностью, поскольку, по данным некоторых авторов, у четвероногих биологических моделей в течение 30–45 дней после моделирования остеонекроза головки бедра отмечали обратный процесс ремоделирования [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пять кроликов все фазы эксперимента перенесли хорошо. Всем были выполнены параартикулярные инъекции 0,4 мл адреналина 0,1 % в область правого тазобедренного сустава. Самец IV выбыл из эксперимента на 17-й день без внешних видимых проявлений какого-либо заболевания (смерть в ночное время). При вскрытии трупа была обнаружена дилатация правого предсердия, что с учётом тахипноэ, беспокойного темперамента, жаркой температуры окружающей среды (летний период) и молодого возраста расценено как врождённая патология сердца, усугубившаяся на фоне введения адреналина.

Диагностика проводилась на рентгеновском диагностическом комплексе «РИМ АМ» (РенИннМед, Россия) с цифровым детектором. В связи с умеренными морфологическими изменениями, воспроизводимыми в эксперименте, рентгенологические изменения отмечали в трёх случаях (рис. 1); все остальные изменения невозможно было оценить из-за низкой чувствительности метода выявления ранних гистоморфологических изменений структур сустава.

По результатам рентгенографии (рис. 1) у всех кроликов отмечено нормальное развитие структур тазобедренных суставов (крыши вертлужной впадины, головок бёдер) с присущей шарообразной формой головки, зоны роста – открытые. Также эти данные были подтверждены и результатами компьютерной томографии.

На 15-й день после начала эксперимента у всех животных фиксировали хромоту на правую тазовую конечность, заваливание на правый бок при активном прыжке, а также неестественное вытягивание правой тазовой конечности (по типу тракции) в положении сидя. По данным рентгенографии, на контрольной точке 2 было отмечено небольшое затемнение головки правого бедра в виде локальных зон остеопороза; отмечали и умеренное уплощение головки, но без признаков классического импрессионного перелома (рис. 2). Также фиксировали явления остеолизиса в зоне метаэпифизарного хряща головки бедра.

Отчётливые признаки изменений головки бедра нам удалось увидеть макроскопически при заготовке материала (рис. 3). Отмечали уплощённость головки бедра в верхнем и центральном полюсах (рис. 3а, б), истончение гиалинового хряща, признаки усиленной васкуляризации в зоне повреждения. Данные изменения особенно чётко прослеживались на опытных препаратах особей спустя 45 дней после окончания эксперимента (контрольная точка 3) (рис. 3в–д).

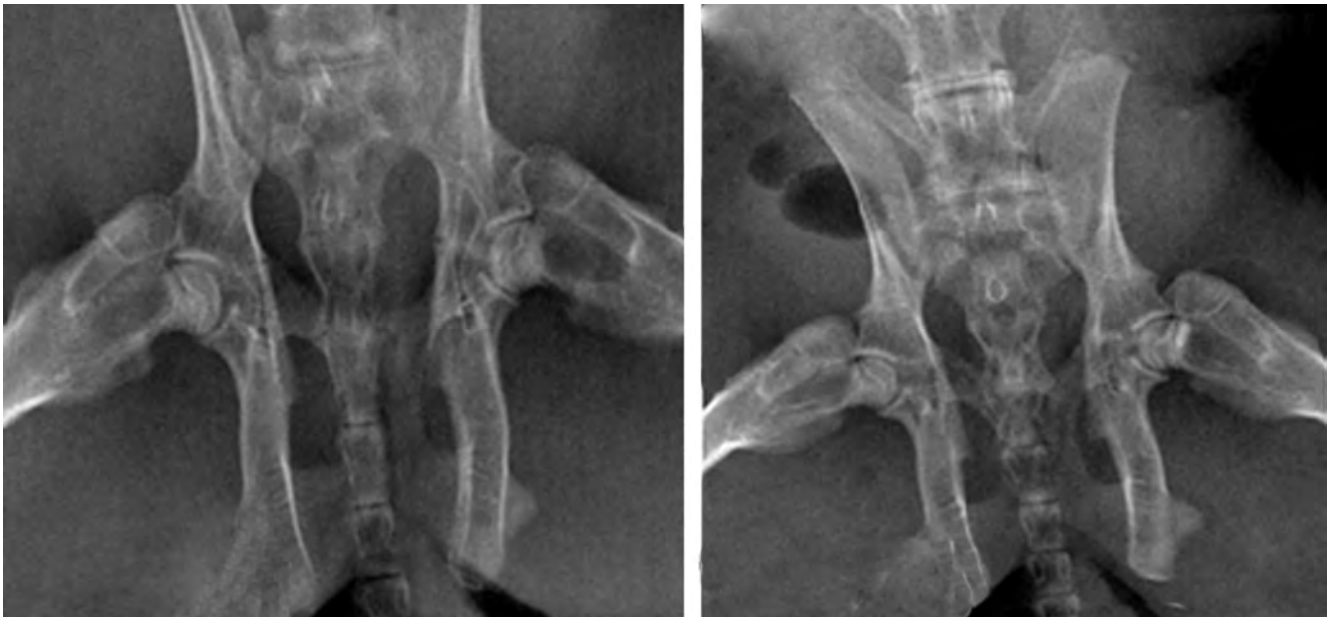


РИС. 1.
Рентгенологическое исследование, контрольная точка 1: картина нормального развития тазобедренных суставов с шарообразной формой головки и полноценным её покрытием вертлужной впадины; зоны роста головки и шейки бедра открытые, поскольку особи относятся к молодняку

FIG. 1.
X-ray examination, checkpoint 1: normal development of the hip joints with a spherical femoral head and its full acetabulum coverage; the growth zones of the femoral head and neck are open, since the animals are young

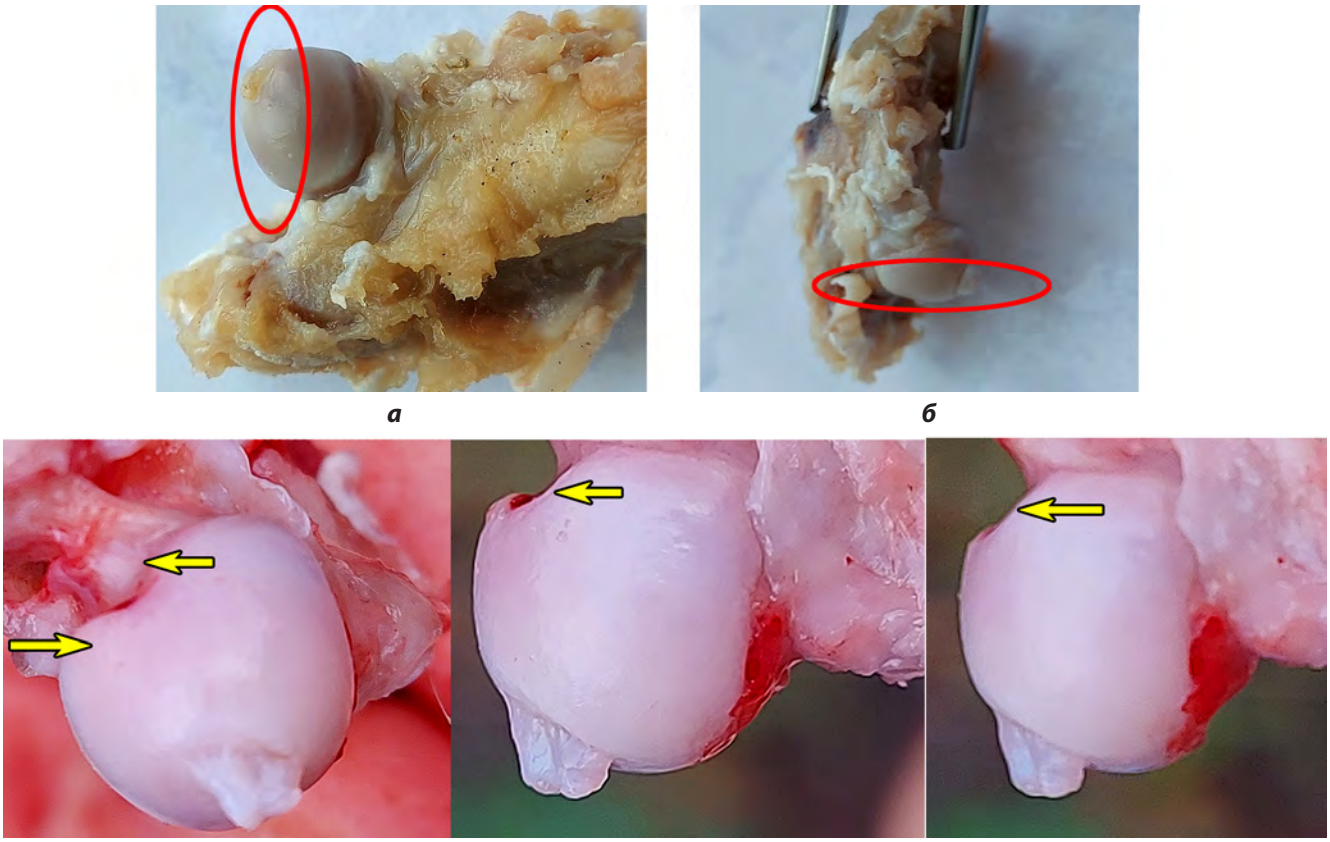


а ***б***

в

РИС. 2.
*Рентгенограммы (**а**, **б**) и срез компьютерной томограммы (**в**) кролика I, контрольная точка 2: **а**, **б** – без признаков классического импрессионного перелома; **в** – явления остеолизиса в зоне метаэпифизарного хряща головки бедра*

FIG. 2.
*X-ray images (**а**, **б**) and computed tomogram scan (**в**) of rabbit I, checkpoint 2: **а**, **б** – no signs of a classic depressed fracture; **в** – osteolysis in the area of the metaepiphyseal cartilage of femoral head*



а *б* *в* *г* *д*

РИС. 3.

*Макропрепараты кроликов: **а**, **б** – контрольная точка 2: характерное уплощение головки бедра; **в**, **г**, **д** – контрольная точка 3: признаки дефекта. Через 45 дней у экспериментальных животных не только отсутствуют признаки регресса, но и, наоборот, выявлено усугубление проявлений остеохондропатии головки бедра, т. е. признаков классического остеонекроза у молодняка*

FIG. 3.

*Macroscopic specimens of rabbits: **а**, **б** – checkpoint 2: definitive flattening of the femoral head; **в**, **г**, **д** – checkpoint 3: signs of a defect. In 45 days, no signs of regression in the experimental animals are found; worsening of osteochondropathy signs in the femoral head, i. e. classic osteonecrosis signs in young animals, is registered*

Окончательное подтверждение состоявшегося эксперимента мы получили по результатам гистологического исследования, которое позволило сформулировать морфологические критерии модели. Результаты микроскопического описания представлены в таблице 1.

В целом в ходе эксперимента гистологически был подтверждён процесс остеохондропатии, где обнаружили классические признаки повреждения субхондральной кости, гиалинового хряща, а также явления аномальной васкуляризации участков хряща и патологический неоангиогенез.

Так, основными изменениями со стороны хрящевой ткани стали потеря изогенности строения хондроцитов и расположения их в виде «столбиков»; расслоение зрелой хрящевой ткани и замещение её фиброзной тканью, включающей фибробластоподобные клетки и коллагеновые волокна; неоваскуляризация хряща и стойкая смешанная гиперемия. В костном мозге фиксировали подавление лейкоцитарного и тромбоцитарного роста с преобладанием элементов красной крови. В костной ткани к основным морфологическим изменениям отнесли потерю остеонного строения с мозаичным расположением костных балок; наличие лакунарной резорбции; дегенерацию остеобластов и превращение их в неактивные клетки с мелкими ядрами; выраженную васкуляризацию костной ткани и смешанную гиперемию.

ОБСУЖДЕНИЕ

На наш взгляд, разработанная нами модифицированная модель БЛКП с небольшими модификациями оптимальна по ряду факторов. Большинство авторов предполагают в патогенезе БЛКП сочетание обстоятельств: последовательных микроциркуляторных расстройств на уровне проксимального отдела бедра (гиперемия, отёк, спазм, ишемия, стаз с переходом в инфаркт кости) на фоне физической перегрузки, клеточной гипоксии, гормонального дисбаланса и воспалительного иммунного профиля индивида с увеличением провоспалительных цитокинов [6, 9, 21]. Выбранная нами модель успешно сочетает в себе воздействие на сосудистое и нагрузочные звенья без травмы или хирургических манипуляций. Кроме того, комплексность ОН у детей на фоне минималь-

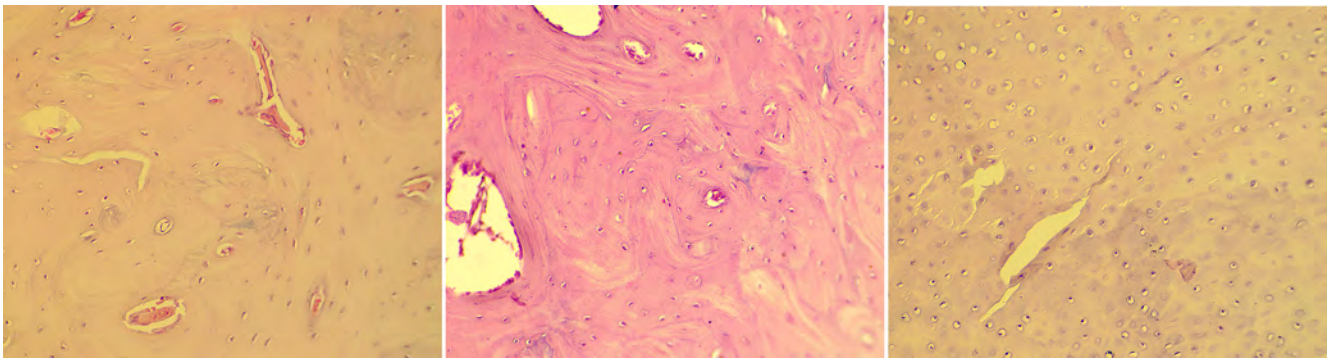
ТАБЛИЦА 1

МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ГОЛОВКИ БЕДРА КРОЛИКОВ-МОЛОДНЯКА

TABLE 1

MICROSCOPIC CHARACTERISTICS OF FEMORAL HEAD HISTOLOGICAL SPECIMENS OF YOUNG RABBITS

№	Препарат	Временной период	Описание
1	2 образца интактного (здорового) препарата головки и шейки бедра кролика от 2 особей	Контрольная точка 2, 30-е сутки эксперимента	1. Содержит фрагменты пластинчатой костной ткани и элементы красного костного мозга. По периферии препарата дифференцируются остеоны, содержащие в центре Гаверсовы каналы. Определяются промежуточные пластины, в которых чётко дифференцируются ядра остеоцитов. Васкуляризация ткани умеренная. Грубых патологических изменений нет. 2. Субхондральная кость с выраженной васкуляризацией. Снаружи костных трабекул также расположены остеобласты, внутри трабекул определяются ядра остеоцитов. Архитектоника костной ткани сохранена. 3. Костный мозг клеточный, содержит клетки-предшественники трёх ростков. Тип кроветворения нормобластный. 4. Содержит зоны молодого и зрелого хряща. Под надхрящницей определяются хондробласты и молодые хондроциты. Клетки расположены в межклеточном матриксе. В зоне зрелого хряща выявляются хондроциты, образующие изогенные группы. Клетки с характерными морфологическими свойствами.
2	2 образца интактного (здорового) препарата головки и шейки бедра кролика от 2 особей	Контрольная точка 3, 75-е сутки эксперимента	Препараты содержат все вышеописанные клеточные и тканевые изменения с аналогичными неизменёнными морфологическими свойствами нормальных структур тазобедренного сустава, как и в контрольной точке 2.
3	2 образца экспериментального препарата головки и шейки бедра кролика от 2 особей	Контрольная точка 2, 30-е сутки эксперимента	1. В строении костных балок видны утолщённые линии склеивания (похоже на «мозаичное строение»). Остеонное строение не угадывается, ядра остеоцитов дифференцированы. Поверхности костных балок покрыты неактивными остеобластами с мелкими гиперхромными ядрами (рис. 4а, б). 2. В препарате субхондральной кости бросаются в глаза расширенные костные лакуны, вероятна лакунарная резорбция. Костная ткань с неравномерным окрашиванием (изменение тинкториальных свойств). 3. Препарат содержит преимущественно клеточные элементы красного костного мозга. 4. Содержит источенную фиброзную надхрящницу, хрящ и субхондральную кость. Хондроциты хряща образуют изогенные группы, расположенные в виде «столбиков» в межуточном матриксе. Имеются зоны, в которых хрящ замещён фиброзной тканью, состоящей из клеточного и тканевого компонентов. Клеточный компонент представлен пучками фибробластоподобных клеток вытянутой формы. Ядра клеток овальные, содержат глыбчатый хроматин и 1–2 нуклеолы. Цитоплазма клеток умеренная, границы цитоплазм сливаются. В новообразованной фиброзной ткани сильно выражена васкуляризация. Кровеносные сосуды в состоянии гиперемии. В зоне зрелого хряща определяются признаки расслоения ткани с формированием крупных щелей.
4	3 образца экспериментального препарата головки и шейки бедра кролика от 2 особей	Контрольная точка 3, 75-е сутки эксперимента	1. В костной ткани дифференцируются остеоны с расширенными Гаверсовыми каналами. Поверхности костных балок покрыты неактивными остеобластами с мелкими гиперхромными ядрами. Вокруг остеонов определяются тонкие базофильные линии цементирования. 2. Субхондральная кость с признаками сильно выраженной васкуляризации, новообразованные кровеносные сосуды в состоянии выраженной гиперемии. Линии цементирования в субхондральной кости выражены. 3. Препарат содержит большое количество элементов красного костного мозга. 4. Архитектоника хрящевой ткани нарушена, хондроциты расположены хаотично в межклеточном матриксе, не образуя «столбиков» и изогенных групп (рис. 4б). Ядра хондроцитов с неровной ядерной мембраной, расположены центрально или эксцентрично. Размер ядер полиморфен. В одном участке надхрящница утолщена и «разволокнена», клеточный компонент надхрящницы в данном участке не дифференцируется. Хаотично расположены хондроциты в межклеточном матриксе с участками их полного отсутствия. Архитектоника хрящевой ткани грубо нарушена. Хрящевая ткань в большом объёме препарата замещена фиброзной тканью грубоволокнистого строения. Клеточный компонент фиброзной ткани незначительный, преобладает волокнистый компонент, представленный коллагеновыми волокнами. Хондроциты в межклеточном матриксе расположены хаотично, не формируют ни изогенных групп, ни «столбиков». В ткани выявляются множественные щели, свидетельствующие о расслоении хряща.



а *б* *в*

РИС. 4.

а, б *– препараты костной ткани: костная ткань с неравномерным окрашиванием (изменение тинкториальных свойств); в строении костных балок видны утолщённые линии склеивания (похоже на «мозаичное строение»); поверхности костных балок покрыты неактивными остеобластами с мелкими гиперхромными ядрами.* ***в*** *– препарат хрящевой ткани: архитектоника хрящевой ткани нарушена, хондроциты расположены хаотично в межклеточном матриксе, не образуя «столбиков» и изогенных групп; ядра хондроцитов с неровной ядерной мембраной, расположены центрально или эксцентрично*

FIG. 4.

а, б *– bone tissue specimens: bone tissue with uneven staining (change in tinctorial properties); thickened adhesion lines are visible in the structure of trabeculae (similar to mosaic structure); trabecular surfaces are covered with inactive osteoblasts containing small hyperchromatic nuclei.* ***в*** *– cartilage tissue specimen: cartilage tissue architecture is disturbed, chondrocytes in the intercellular matrix are erratic, no "columns" or isogenic groups are formed; chondrocyte nuclei have uneven nuclear membrane and located centrally or eccentrically*

ности травматического агента позволяет сделать выбор в сторону нетравматической модели с минимальным хирургическим или химическим воздействием с малой сосудистой депривацией, тогда как большинство моделей включают в себя этап обширной травматизации сосудов, иссечения структур тазобедренного сустава [15, 19].

Эксперимент воспроизведён в полном объёме, отмечена хорошая переносимость методики животными, которые были здоровыми, набирали хорошую массу тела. Среди клинических симптомов патологического процесса они получили хромоту на правую заднюю лапу, заваливание на правый бок при активном прыжке, а также неестественное вытягивание правой задней лапы (по типу тракции) в положении сидя. Местных признаков выпадения шерсти, шелушения кожи в области введения не получено. Возможно, это связано с возрастом животных, поскольку в базовой методике были отобраны кролики в возрасте 9–14 месяцев, или же они подвергались расширенным физическим нагрузкам [15].

Рентгенологически было получено небольшое затемнение головки правого бедра в виде локальных зон остеопороза, отмечали и умеренное уплощение головки, но без признаков классического импрессионного перелома. Также фиксировали явления остеолизиса в зоне метаэпифизарного хряща головки бедра, что косвенным образом указывало на развитие патологического процесса. К сожалению, диагностические возможности лучевых методов ограничены чувствительностью в отношении начальных стадий остеохондропатий, что и было нами получено.

Мы расширили объём методов изучения модели ОН и добавили морфогистологическое исследование, которое позволило сформулировать морфологические критерии. Отчётливые признаки изменений головки бедра нам удалось увидеть макроскопически при заготовке материала. Отмечали уплощённость головки бедра в верхнем и центральном полюсах, истончение гиалинового хряща, признаки усиленной васкуляризации в зоне повреждения, что характерно для классического остеонекроза [22, 23]. Гистологически мы получили изменения всех структур тазобедренного сустава, характерных для остеохондропатии. Во-первых, фиксировали выраженные изменения гиалинового хряща в препаратах при сравнении с интактными, выявляя в первых грубое нарушение архитектоники хрящевой ткани, которая в большом объёме препарата замещена фиброзной тканью грубоволокнистого строения. Клеточный компонент фиброзной ткани незначительный, преобладает волокнистый компонент, представленный коллагеновыми волокнами. Хондроциты в межклеточном матриксе расположены хаотично, не формируют ни изогенных групп, ни «столбиков». В ткани выявляются множественные щели, свидетельствующие о расслоении хряща.

Субхондральная кость имела неравномерное окрашивание (изменение тинкториальных свойств). В строении костных балок видны утолщённые линии склеивания (похоже на «мозаичное строение»). Остеонное строение не угадывается, ядра остеоцитов дифференцированы. Поверхности костных балок покрыты неактивными остеобластами с мелкими гиперхромными ядрами, имелись расширенные костные лакуны с признаками лакунарной резорбции. Важно отметить и наличие изменений со стороны микроциркуляторного русла: признаки артериальной и венозной гиперемии, стаза, локального инфаркта, в пользу чего свидетельствует обширная реакция замещения структур нормального тазобедренного сустава на грубую волокнистую соединительную ткань, а также неполноценную сосудистую сеть и формирование неоваскуляризации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на многолетнюю историю присутствия в человеческой популяции, БЛКП до настоящего момент является дискуссионной проблемой на всех уровнях: эпидемиологии, патогенеза, патологической физиологии и клинической ортопедии. В этих условиях ортопеды нуждаются в экспериментальном направлении изучения как отдельных звеньев БЛКП, так и возможностей современных методик лечения. Этого возможно добиться путём моделирования патологического процесса на биологических объектах.

Методика нетравматичной модели остеонекроза с использованием молодняка кролика продемонстрировала первичные результаты по воспроизведению патологических звеньев процесса, в частности позволила выявить и сформулировать гистоморфологические особенности патлогического состояния структур тазобедренного сустава (хрящ, субхондральная кость, костный мозг, ангиогенез) при остеонекрозе.

Со стороны хрящевой ткани фиксировали утрату изогенности строения хондроцитов и расположения их в виде «столбиков»; её расслоение и замещение фиброзной тканью, включающей фибробластоподобные клетки и коллагеновые волокна; неоваскуляризацию хряща и стойкую смешанную гиперемию. В костном мозге отметили активацию только красного ростка крови. В костной ткани выявили нарушение остеонного строения с мозаичным расположением костных балок; наличие лакунарной резорбции; дегенерацию остеобластов.

Данный метод обладает хорошим эксплуатационным, экономическим и экспериментальным потенциалом для клинической ортопедии.

Финансирование

Работа выполнена в рамках финансовой поддержки Проекта перспективного научного исследования ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России «Разработка системы оценки эффективности ортобиологических методов лечения дегенеративных заболеваний крупных суставов у детей» № SSMU-2022-010 (номер государственной регистрации НИОКР 122031400732-9).

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Manzon VS, Ferrante Z, Giganti M, Gualdi-Russo E. On the antiquity of Legg – Calvé – Perthes disease: Skeletal evidence in Iron Age Italy. *Homo*. 2017; 68(1): 10-17. doi: 10.1016/j.jchb.2016.11.002

2. Berger E, Chen L, Sun Z, Sun Z. A probable case of Legg – Calvé – Perthes disease in Warring States-era China. *Int J Paleopathol*. 2017; (16): 27-30. doi: 10.1016/j.ijpp.2016.11.001

3. Менщикова Т.И., Лунева С.Н., Матвеева Е.Л., Гасанова А.Г. Оптимизация диагностики ранних стадий болезни Легга – Кальве – Пертеса у детей. *Наука молодых (Eruditio Juvenium*). 2020; 8(4): 574-581. [Menshchikova TI, Luneva SN, Matveeva EL, Gasanova AG. Optimization of diagnosis of early stages of Legg – Calve – Perthes disease in children. *Science of the Young (Eruditio Juvenium)*. 2020; 8(4): 574-581. (In Russ.)]. doi: 10.23888/HMJ202084574-581

4. Тепленький М.П., Лунева С.Н., Матвеева Е.Л., Спиркина Е.С., Гасанова А.Г., Рахматулина А.А. Окислительный стресс и антиоксидантный статус у детей с болезнью Легга – Кальве – Пертеса. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2019; 7(2): 170-177. [Teplenkii MP, Luneva SN, Matveeva EL, Spirkina ES, Gasanova AG, Rakhmatulina AA. Oxidative stress and antioxidant status in children with Legg – Calve – Perthes disease. *Science of the Young (Eruditio Juvenium)*. 2019; 7(2): 170-176. (In Russ.)]. doi: 10.23888/hmj201972170-17

5. Rodríguez-Olivas AO, Hernández-Zamora E, Reyes-Maldonado E. Legg – Calvé – Perthes disease overview. *Orphanet J Rare Dis*. 2022; 17(1): 125. doi: 10.1186/s13023-022-02275-z

6. Шабалдин Н.А., Шабалдин А.В. Молекулярные основы этиологии и патогенеза болезни Легга – Кальве – Пертеса и перспективы таргетной терапии (обзор литературы). *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. 2022; 10(3): 295-307. [Shabalin NA, Shabalin AV. Molecular foundations of the etiology and pathogenesis of Legg – Calve – Perthes disease and prospects for targeted therapy: A literature review. *Pediatric Traumatology, Orthopaedics and Reconstructive Surgery*. 2022; 10(3): 295-307. (In Russ.)]. doi: 10.17816/PTORS101679

7. Spasovski V, Srzentić Dražilov S, Nikčević G, Baščarević Z, Stojiljković M, Pavlović S, et al. Molecular biomarkers in Perthes disease: A review. *Diagnostics (Basel)*. 2023; 13(3): 471. doi: 10.3390/diagnostics13030471

8. Шабалдин Н.А., Шабалдин А.В., Шабалдина Е.В. *Способ прогнозирования развития болезни Легга – Кальве – Пертеса на основе иммунологических предикторов:* Пат. № 2751976 Рос. Федерация. № 2021104154; заявл. 18.02.2021; опубл. 21.07.2021. Бюл. № 21. [Shabaldin NA. Shabaldin AV, Shabaldina EV. *A method for predicting the progressing of Legg – Calve – Perthes disease based on immunological predictors*: Patent No. 2751976 of the Russian Federation. 2021. (In Russ.)].

9. Murphy RF, Mooney JF 3rd. Orthobiologics in pediatric orthopedics. *Orthop Clin North Am*. 2017; 48(3): 323-331. doi: 10.1016/j.ocl.2017.03.007

10. Sezgin EA, Atik OŞ. Are orthobiologics the next chapter in clinical orthopedics? A literature review. *Eklem Hastalik Cerrahisi*. 2018; 29(2): 110-116. doi: 10.5606/ehc.2018.005

11. Mohamed-Ahmed S, Fristad I, Lie SA, Suliman S, Mustafa K, Vindenes H, et al. Adipose-derived and bone marrow mesenchymal stem cells: A donor-matched comparison. *Stem Cell Res Ther*. 2018; 9(1): 168. doi: 10.1186/s13287-018-0914-1

12. Черешнев В.А., Шилов Ю.И., Черешнева М.В., Самоделкин Е.И., Гаврилова Т.В., Гусев Е.Ю., и др. *Экспериментальные модели в патологии*. Пермь; 2011. [Chereshnev VA, Shilov YuI, Chereshneva MV, Samodelkin EI, Gavrilova TV, Gusev EYu, et al. *Experimental models in pathology*. Perm; 2011. (In Russ.)].

13. Сертакова А.В., Ульянов В.Ю., Магомедрасулова Э.А. Экспериментальные модели остеонекроза на животных. *Гений*

ортопедии. 2023; 29(1): 110-116. [Sertakova AV, Ulyanov VYu, Magomedrasulova EA. Experimental animal models of osteonecrosis. *Genij Ortopedii*. 2023; 29(1): 110-116. (In Russ.)]. doi: 10.18019/1028-4427-2023-29-1-110-11

14. Hines JT, Jo WL, Cui Q, Mont MA, Koo KH, Cheng EY, et al. Osteonecrosis of the femoral head: An updated review of ARCO on pathogenesis, staging and treatment. *J Korean Med Sci*. 2021; 36(24): e177. doi: 10.3346/jkms.2021.36.e177

15. Holtmann H, Lommen J, Kübler NR, Sproll C, Rana M, Karschuck P, et al. Pathogenesis of medication-related osteonecrosis of the jaw: A comparative study of *in vivo* and *in vitro* trials. *J Int Med Res*. 2018; 46(10): 4277-4296. doi: 10.1177/0300060518788987

16. Fan M, Peng J, Qin L, Lu S. Experimental animal models of osteonecrosis. *Rheumatol Int*. 2011; 31(8): 983-994. doi: 10.1007/s00296-011-1819-9

17. Кужеливский И.И. Слизовский Г.В., Аникина Е.Ю. *Способ моделирования асептического некроза головки бедра:* Патент № 2626567 Рос. Федерация. № 2016140100; заявл. 11.10.2016; опубл. 28.07.2017. Бюл. № 22. [Kuzhelevsky II, Slizovsky GV, Anikina EYu. *A method for modeling aseptic necrosis of the femoral head*: Patent No. 2626567 of the Russian Federation. 2016. (In Russ.)].

18. Horn A, Eastwood D. Prevention of femoral head collapse in Legg – Calvé – Perthes disease. *Bone Joint*. 2017; 6(1): 3-6. doi: 10.1302/2048-0105.61.360497

19. Hofstaetter JG, Wang J, Yan J, Glimcher MJ. The effects of alendronate in the treatment of experimental osteonecrosis of the hip in adult rabbits. *Osteoarthrit Cartilage*. 2009; 17(3): 362-370. doi: 10.1016/j.joca.2008.07.013

20. Рубашкин С.А., Сертакова А.В., Дохов М.М., Тимаев М.Х. Дегенеративные заболевания тазобедренных суставов у детей. *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. 2018; 6(3): 78-86. [Rubashkin SA, Sertakova AV, Dokhov MM, Timaev MKh. Degenerative hip disorders in children. *Pediatric Traumatology, Orthopaedics and Reconstructive Surgery*. 2018; 6(3): 78-86. (In Russ.)]. doi: 10.17816/ptors6378-86

21. Афанасьев Ю.И., Омельяненко Н.П. Соединительные ткани. В: Данилов Р.К., Быков В.Л. (ред.). *Руководство по гистологии*. СПб.: Изд-во специальной литературы; 2001: 249-284. [Afanasiev YuI, Omelyanenko NP. Connective tissues. In: Danilov RK, Bykov VL (eds). *Histology guide*. Saint Petersburg; 2001: 249-284. (In Russ.)].

22. Денисов-Никольский Ю.И., Миронов С.П., Омельяненко Н.П., Матвейчук И.В. *Актуальные проблемы теоретической и клинической остеоартрологии*. М.: ОАО «Типография «Новости»; 2005. [Denisov-Nikolsky YuI, Mironov SP, Omelyanenko NP, Matveychuk IV. *Current problems of theoretical and clinical osteoarthrology*. Moscow: Novosti; 2005. (In Russ.)].

23. Crim J, Layfield LJ, Stensby JD, Schmidt RL. Comparison of radiographic and pathologic diagnosis of osteonecrosis of the femoral head. *Am J Roentgenol*. 2021; 216(4): 1014-1021. doi: 10.2214/ajr.20.2293

Сведения об авторах

Сертакова Анастасия Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела инновационных проектов в травматологии и ортопедии, Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, e-mail: anastasiya-sertakova@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4375-0405

Ульянов Владимир Юрьевич – доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной и инновационной деятельности, Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, e-mail: v.u.ulyanov@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-9466-8348

Садчиков Дмитрий Дмитриевич – аспирант кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, e-mail: disadchikov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5242-3476

Information about the authors

Anastasiya V. Sertakova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Innovations and Technologies for Traumatology and Orthopedics, Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, e-mail: anastasiya-sertakova@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4375-0405

Vladimir Yu. Ulyanov – Dr. Sc. (Med.), Docent, Deputy Director for Science and Innovations, Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, e-mail: v.u.ulyanov@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-9466-8348

Dmitry D. Sadchikov – Postgraduate at the Department of Traumatology and Orthopedics, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, e-mail: disadchikov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5242-3476

ДИНАМИКА АТФ-АЗНОЙ АКТИВНОСТИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ТКАНИ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРАТА «СЕРОГАРД»

Чепурных Е.Е.,
Богородская С.Л.,
Шурыгина И.А.,
Родионова Л.В.,
Самойлова Л.Г.,
Шурыгин М.Г.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Чепурных Елена Евгеньевна,
e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Важную роль в развитии перитонита играет окислительный стресс, который приводит к снижению уровня антиоксидантов и увеличению выработки оксидантов. Изучение АТФ-азной активности и перекисного окисления липидов при использовании новых способов лечения экспериментального перитонита представляет интерес для клинической практики.*

Цель исследования. *Изучить динамику АТФ-азной активности и показателей перекисного окисления в ткани печени при экспериментальном перитоните при использовании препарата «Серогард».*

Методы. *Исследование проводилось на крысах-самцах линии Wistar в возрасте 6 месяцев. Всем животным моделировали экспериментальный перитонит по разработанной нами методике. Животным контрольной группы (n = 20) через сутки после моделирования перитонита внутрибрюшинно вводили 3 мл физиологического раствора, опытной группе (n = 19) – «Серогард»® (АО «Фармасинтез», Россия). У здоровых крыс (n = 7) определяли исходные значения показателей. В ткани печени животных исследовали суммарную и митохондриальную АТФ-азную активность, а также содержание малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК).*

Результаты. *Установлено подавление суммарной и митохондриальной активности АТФ-аз к 3-м суткам экспериментального перитонита. Ни в одной из групп за 14 суток эксперимента АТФ-азная активность не достигла нормы. Однако в опытной группе наблюдалась динамика более уверенного статистически значимого прироста суммарной АТФ-азной активности и активности митохондриальной АТФ-азы (АТФ-синтазы) со статистически значимо более высоким уровнем, чем в контрольной группе. МДА и ДК в опытной группе повышались к 7–14-м суткам, что свидетельствовало об активности свободнорадикальных процессов, а также являлось показателем динамики восстановления метаболических, энергетических процессов.*

Заключение. *Применение при экспериментальном перитоните препарата «Серогард» способствовало более эффективному восстановлению суммарной АТФ-азной активности и митохондриальной АТФ-азы (АТФ-синтазы) и на 7–14-е сутки исследования приводило к повышению уровня активности свободнорадикальных процессов, сопровождающих и свидетельствующих о процессе восстановления аэробной энергетики.*

Ключевые слова: *экспериментальный перитонит, АТФ-азы, митохондриальная АТФ-аза, окислительный стресс, ингибитор МАРК*

Для цитирования: Чепурных Е.Е., Богородская С.Л., Шурыгина И.А., Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Шурыгин М.Г. Динамика АТФ-азной активности и показателей перекисного окисления липидов в ткани печени при экспериментальном перитоните при использовании препарата «Серогард». *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 228-238. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.23

Статья поступила: 09.07.2024
Статья принята: 05.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

DYNAMICS OF ATPASE ACTIVITY AND LIPID PEROXIDATION INDICATORS IN LIVER TISSUE IN EXPERIMENTAL PERITONITIS USING THE DRUG "SEROGUARD"

Chepurnykh E.E.,
Bogorodskaya S.L.,
Shurygina I.A.,
Rodionova L.V.,
Samoilova L.G.,
Shurygin M.G.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
(Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Elena E. Chepurnykh,
e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru

ABSTRACT

Background. *Oxidative stress plays an important role in the development of peritonitis, which leads to a decrease in antioxidant level and an increase in oxidant production. Studying ATPase activity and lipid peroxidation when using new methods of treating experimental peritonitis is of interest for clinical practice.*
The aim. *To study the dynamics of ATPase activity and lipid peroxidation indicators in liver tissue in experimental peritonitis when using Serogard.*
Methods. *The study was conducted on male Wistar rats aged 6 months. All animals were subjected to experimental peritonitis using the method we developed. Animals in the control group (n = 20) were intraperitoneally injected with 3 ml of physiological solution one day after modeling peritonitis; animals in the experimental group (n = 19) were injected Serogard® (AO Pharmasintez, Russia). We determined the initial values of the indicators in healthy rats (n = 7). In animal liver tissue, total and mitochondrial ATPase activity was studied, as well as the content of malondialdehyde (MDA) and diene conjugates (DC).*
Results. *It was found that the total and mitochondrial activity of ATPases was suppressed by the day 3 of experimental peritonitis. During 14 days of the experiment, ATPase activity did not reach normal levels in any of the groups. However, animals in the experimental group had dynamics of a more steady, significant increase in the total ATPase and the mitochondrial ATPase (ATP synthase) activity with a significantly higher level than in the control group. MDA and DC in the experimental group increased by days 7–14, which indicated the activity of free radical processes and was also an indicator of the dynamics of restoration of metabolic and energy processes.*
Conclusion. *Using Serogard in experimental peritonitis contributed to a more effective restoration of total ATPase activity and mitochondrial ATPase (ATP synthase) and on days 7–14 of the study led to an increase in the level of free radical processes activity that accompany and indicate the process of aerobic energy restoration.*

Key words: *experimental peritonitis, ATPases, mitochondrial ATPases, oxidative stress, MAPK inhibitor*

Received: 09.07.2024
Accepted: 05.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Chepurnykh E.E., Bogorodskaya S.L., Shurygina I.A., Rodionova L.V., Samoilova L.G., Shurygin M.G. Dynamics of ATPase activity and lipid peroxidation indicators in liver tissue in experimental peritonitis using the drug "Seroguard". *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 228-238. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.23

ВВЕДЕНИЕ

АТФ-синтазы являются ключевыми факторами энергетического метаболизма и необходимы повсеместно. Главная функция АТФ-синтазы – это синтез аденозинтрифосфата (АТФ) из аденозиндифосфата (АДФ) и неорганического фосфата (Pi). АТФ и трансмембранная электрохимическая разность протонных потенциалов являются основными «энергетическими валютами» любой клетки. Посчитано, что средний ежедневный оборот АТФ в организме человека превышает 50 кг, и около 95 % этого АТФ производится именно АТФ-синтазами [1].

Для нормальной работы любой клетки организма необходима эффективная работа мембранных транспортных белков: каналов, переносчиков, насосов, расположенных в плазматических мембранах и мембранах внутриклеточных органелл. Транспортные АТФ-азы, белки с ферментативной активностью, относят к так называемым насосам – активному транспорту, использующему энергию АТФ. Большая часть энергии клетки используется на создание АТФ-азами градиента концентрации ионов по обе стороны плазматической мембраны или мембраны органелл: например, Na^+/K^+-АТФ-аза плазматических мембран, Ca^{2+}-АТФ-аза мембран эндоплазматического ретикулума и плазматических мембран создают градиенты ионов – соответственно Na^+, K^+ и Ca^{2+}. Градиенты концентрации ионов используются при работе других трансмембранных транспортных каналов, для генерации электрических зарядов, для контроля объёма клетки. АТФ-азы участвуют во внутренних сигнальных процессах [2].

Существуют различные типы АТФ-аз, отличающиеся по функции (синтез и/или гидролиз АТФ), структуре и типу ионов, которые они переносят [3].

Нужно отметить, что в последнее время исследователи обращают внимание на АТФ-азы AAA^+-типа, которые связаны с управлением разнообразными метаболическими процессами в клетке: обладают функциями шаперонов, участвуют в репликации ДНК, сборке рибосом, контроле за структурой белков, в механизмах секреции через мембраны, разборке белков [4]. Широкое использование АТФ-аз подчёркивает их значение для жизнедеятельности клеток и организма в целом.

При этом АТФ-азы не только используют энергию АТФ, но и участвуют в синтезе самой АТФ. Синтез осуществляет АТФ-аза внутренних мембран митохондрий – F_1-F_0-АТФ-синтаза, использующая движущую силу градиента протонов [2, 5]. Синтез АТФ – один из самых распространённых процессов в клетках организма: так, имеются данные о том, что за 75 лет жизни с ненапряжённым трудом человек вырабатывает около 2 тысяч тонн АТФ [2].

Для дифференцированного определения активности различных типов АТФ-аз используются некоторые блокаторы. Известными блокаторами митохондриальной АТФ-азы (АТФ-синтазы), позволяющими выделить её активность, являются азид натрия и антибиотик олигомицин [6, 7].

Известно, что нарушение функции АТФ-аз приводят ко многим заболеваниям: миотонии, нарушению сердечного ритма, кистозному фиброзу, опухолям [2, 8–10], расстройству секреции инсулина [8], образованию почечных камней [2] и др. И напротив, при различных заболеваниях и критических состояниях работа АТФ-аз нарушается [2, 11–13].

В настоящее время признано, что митохондрии играют ключевые роли в огромном множестве процессов, включая клеточную сигнализацию, регуляцию экспрессии генов, модулирование уровня кальция в клетках и влияние на активацию апоптоза [14]. Более того, известно, что функциональное состояние митохондрий влияет на изменение функции клеток и органов при многих болезненных состояниях, включая сепсис, острое повреждение органов и тканей, нарушение регуляции иммунной системы, а также при любых других критических состояниях [14]. При любом серьёзном заболевании имеется митохондриальная дисфункция. В настоящее время в литературе обсуждается роль АТФ-синтаз в воспалительных процессах, аутофагии, метаболизме макрофагов, приводятся данные о способности АТФ-аз ограничивать как воспаление, так и бактериальную инфекцию [15, 16]. Кроме того, при митохондриальной дисфункции вырабатываются токсичные соединения, в первую очередь – это высвобождающаяся митохондриальная ДНК, которая может вызывать системную токсичность и повреждать множество органов и тканей [14]. Нарушение баланса между системами генерации и системами удаления активных форм кислорода в митохондриях приводит к возникновению окислительного стресса, и митохондрии могут служить значимым источником свободных радикалов, вызывающих перекисное окисление липидов (ПОЛ).

Так, при развитии перитонита важную роль в патогенезе играет неконтролируемая генерация активных форм кислорода, оказывающего повреждающее действие на клетки, как за счёт прямого токсического действия, так и вследствие инициирования свободнорадикального ПОЛ [17]. В результате динамическое равновесие между оксидазными и оксигеназными путями метаболизма нарушается и как следствие происходит угнетение процессов окислительного фосфорилирования, а также истощение потенциала антиоксидантной системы [18]. Всё это приводит к накоплению в тканях аномально высоких концентраций продуктов ПОЛ, которые могут необратимо инактивировать функцию цитоплазматических мембран вплоть до их деструкции [18].

На этом фоне существенное влияние на развитие полиорганной дисфункции при перитоните оказывает печень. Обладая многообразными функциями, она играет важную роль в детоксикации как чужеродных, так и эндогенных веществ [19], синтезирует огромное количество разнообразных белков, необходимых организму для поддержания и восстановления жизнедеятельности. Расстройство системы детоксикации приводит к развитию печёночной дисфункции, при этом основной патологический процесс связан с изменениями свойств мембранных и цитоплазматических структур гепатоцитов [19, 20]. Тяжесть их повреждения зависит от выраженности свободнорадикальных процессов окисле-

ния в печени [20]. Следовательно, влияние на процесс антиокислительной системы при перитоните позволит уменьшить токсическое влияние бактериальных токсинов и улучшить дезинтоксикационную функцию печени.

Учитывая вышесказанное, интерес представляет возможность применения при экспериментальном перитоните селективных ингибиторов протеинкиназ, активируемых митогеном p38 (p38 MAPK). Известно, что ингибиторы p38 MAPK являются ингибиторами продукции провоспалительных цитокинов за счёт снижения выработки провоспалительных факторов [21]. Для изучения выраженности процессов воспаления, ограничения его повреждающего действия на модели экспериментального перитонита нами был успешно применён лекарственный препарат «Серогард» – водный раствор конъюгата 4-[4-(4-флюорофенил)-2-(4-метилсульфилфенил)-1H-имидазол-5-пиридина с поливинилимидазолом, обладающий свойствами ингибитора p38 MAPK [22]. В экспериментальном исследовании показано, что «Серогард» уменьшает выраженность энтеральной недостаточности, не нарушает течение раневого процесса, а также ускоряет процессы восстановления в кишечной стенке [22, 23].

Исследование АТФ-азной активности и показателей перекисного окисления липидов в ткани печени при использовании нового лекарственного препарата «Серогард» – ингибитора p38 MAPK, конъюгированного с полимерной матрицей, – в качестве способа лечения экспериментального перитонита позволит оценить его влияние на состояние антиоксидантной функции печени, а также откроет новые возможности в лечении гнойно-воспалительных процессов брюшной полости в клинической практике.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить динамику АТФ-азной активности и показателей перекисного окисления в ткани печени при экспериментальном перитоните при использовании препарата «Серогард».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование проводили на 46 самцах крыс линии Wistar в возрасте 6 месяцев, с массой тела 250–300 г. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище в соответствии с нормативом ГОСТ «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ». Исследования на животных выполняли в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, регламентированными «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждёнными Приказами Минздрава СССР № 742 от 13.11.1984 «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.1985 «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных». Экспериментальное исследование одобрено комитетом по этике ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (протокол заседания № 2 от 15.02.2019).

Всем животным выполняли лапаротомию, моделирование послеоперационного разлитого перитонита по предложенной нами методике, суть которой заключалась в повреждении серозно-мышечной оболочки слепой кишки (разрез до 1,0 см в бессосудистой зоне) без вскрытия просвета кишки с последующим ушиванием слепой кишки и введением госпитальных штаммов микробных культур [24–26]. В качестве инфекта использовали госпитальные штаммы *Escherichia coli* БРЛС 10^9 и *Bacteroides fragilis* 10^9 (штамм ISCST1982, зарегистрирован в Genbank) [27], выделенные от больных острым аппендицитом, в соотношении 1:1 общим объёмом 1,0 мл на животного. Животные были разделены на контрольную (КГ) и опытную (ОГ) группы. Крысам контрольной группы (n = 20) через сутки после моделирования перитонита внутрибрюшинно вводили 3 мл физиологического раствора; крысам опытной группы (n = 19) – 3 мл препарата «Серогард»® (АО «Фармасинтез», Россия; товарный знак (знак обслуживания) № 529254 «СЕРОГАРД», дата регистрации 11.12.2014), представляющего собой стерильный водный раствор конъюгата 4-[4-(4-флюорофенил)-2-(4-метилсульфилфенил)-1H-имидазол-5-пиридина с поливинилимидазолом [22], 0,41 г/л. У здоровых крыс без моделирования перитонита (n = 7) определяли исходные (нормальные) значения исследуемых показателей (табл. 1).

Животных выводили из эксперимента на 3-и, 7-е и 14-е сутки после операции, для исследования забирали печень.

Экстракцию гомогенезированной ткани печени проводили в охлаждённом 0,177 М трис-HCl-буфере (pH = 7,2). Спектрофотометрическими методами в экстрактах исследовали уровень АТФ-азной активности: 1) суммарной АТФ-азной активности методом Н.И. Пор-

ТАБЛИЦА 1

ИССЛЕДУЕМЫЕ ГРУППЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ИХ ЧИСЛЕННОСТЬ И СРОКИ ВЫВЕДЕНИЯ

TABLE 1

STUDY GROUPS OF EXPERIMENTAL ANIMALS, GROUP SIZE AND BREEDING DATES

Группа без моделирования перитонита	n	Группы с моделированием перитонита	n			
			3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	всего
Здоровые	7	Контрольная	6	8	6	20
		Опытная	6	6	7	19

тяной и соавт. [28] с применением стандартных наборов для определения неорганического фосфора (Analyticon, Германия); 2) митохондриальной АТФ-азной активности – методом с блокированием азидом натрия. Малоновый диальдегид (МДА) исследовали с помощью наборов реактивов для определения ТБК-активных продуктов (Агат-Мед, Россия); диеновые конъюгаты (ДК) измеряли стандартным методом [29].

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Результаты представляли в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. Определение статистической значимости различий полученных данных (p) в сравниваемых выборках проведено с использованием непараметрических критериев: Вилкоксона (W), U-критерия Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерения АТФ-азной активности, показателей перекисного окисления липидов в ткани печени экспериментальных животных представлены в таблице 2.

ТАБЛИЦА 2

ДИНАМИКА АТФ-АЗНОЙ АКТИВНОСТИ, ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ТКАНИ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

TABLE 2

DYNAMICS OF ATPASE ACTIVITY, LIPID PEROXIDATION INDICATORS IN LIVER TISSUE IN EXPERIMENTAL PERITONITIS

Показатели	Сутки	КГ	ОГ
Суммарная АТФ-азная активность (мкмоль Р/г ч), %	норма	269,8 (179,2; 367,9)	
	3-и	88,2 (76,3; 100,1)••	50,1 (42,9; 59,1)*;••
	7-е	77,2 (63,9; 100,6)*;••	71,9 (65,8; 95,3)••
	14-е	96,3 (94,4; 106,8) *;••	103,9 (75,3; 136,3)**;••
Митохондриальная АТФ-азная активность, блокируемая азидом натрия (мкмоль Р/г ч), %	норма	91,5 (55,3; 131,5)	
	3-и	10,0 (9,5; 22,8)••	11,9 (6,6; 14,7)••
	7-е	10,5 (3,8; 27,6)*;••	15,3 (11,4; 20,0)*;••
	14-е	10,5 (5,7; 14,3)*;••	31,5 (17,2; 38,1)*;**;••
АТФ-азная активность, не зависимая от подавления азидом натрия (мкмоль Р/г ч), %	норма	166,8 (123,9; 234,5)	
	3-и	72,4 (63,8; 80,1)••	41,5 (30,5; 57,2)*;••
	7-е	66,7 (56,7; 80,6)••	60,0 (54,3; 83,9)••
	14-е	84,8 (80,1; 90,6)*;••	78,2 (63,9; 92,5)•
МДА (мкмоль Р/г ч), %	норма	280,8 (257,6; 299,9)	
	3-и	351,9 (330,7; 361,5)••	315,4 (269,2; 346,1)
	7-е	288,5 (255,7; 344,2)	307,7 (265,3; 311,5)••
	14-е	340,4 (261,5; 388,4)*;**	396,1 (338,5; 426,9)
ДК (мкмоль Р/г ч), %	норма	16,2 (14,4;19,2)	
	3-и	19,2 (16,2; 22,2)	19,8 (14,4; 24,6)
	7-е	11,4 (10,8; 17,4)	22,2 (16,2; 24,0)*;•
	14-е	21,0 (16,8; 27,6)	16,2 (15,6; 24,0)**
МДА/ДК, у. е.	норма	16,4 (15,6;18,8)	
	3-и	17,9 (15,9; 20,0)	15,6 (13,8; 17,3)
	7-е	23,1 (18,5; 27,3)*	14,7 (12,2; 15,9)*;••
	14-е	14,6 (12,0; 24,3)	24,5 (15,2; 24,8)

Примечание. * – статистически значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в группе на 3-и сутки ($p_W \le 0,05$); ** – статистически значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в группе на 7-е сутки ($p_W \le 0,05$); • – статистически значимые различия между КГ и ОГ по U-критерию Манна – Уитни ($p_u \le 0,05$); •• – статистически значимые различия между нормальными значениями и КГ, ОГ по U-критерию Манна – Уитни ($p_u \le 0,05$).

При исследовании образцов ткани печени животных, отобранных на 3-и, 7-е и 14-е сутки, установлено статистически значимое и значительное снижение суммарной АТФ-азной активности (табл. 2; рис. 1) в обеих группах по сравнению с нормальными показателями. На протяжении всего периода наблюдения АТФ-азная активность не достигала значений, близких к показателям здоровых животных, ни в КГ, ни в ОГ. Причём на 3-и сутки эксперимента суммарная АТФ-азная активность в ОГ была статистически значимо ниже (p_u = 0,003), чем в КГ (рис. 1). Однако введение «Серогарда» (ОГ) потенцировало тенденцию к восстановлению, что подтверждалось статистически значимым повышением суммарной АТФ-азной активности к 7-м (p_w = 0,046) и 14-м (p_w = 0,027) суткам. В КГ статистически значимое повышение суммарной АТФ-азной активности отмечено только к 14-м суткам наблюдения (p_w = 0,027) по сравнению с 7-ми сутками наблюдения.

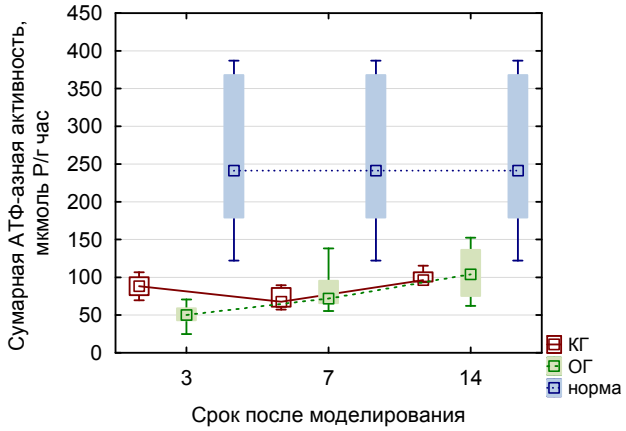


РИС. 1.

Динамика суммарной АТФ-азной активности в ткани печени экспериментальных животных

FIG. 1.

Dynamics of total ATPase activity in the liver tissue of experimental animals

Часть суммарной АТФ-азной активности блокировалась азидом натрия (табл. 2, рис. 2). Блокируемую АТФ-азную активность принимали как показатель активности митохондриальной АТФ-азы – митохондриальной F_1-F_0-АТФ-синтазы, относящейся к АТФ-азам F-типа [6, 7]. При исследовании уровня митохондриальной АТФ-азной активности отмечено значительное её снижение по сравнению с нормальными показателями в КГ и ОГ на 3-и (p_u = 0,008), 7-е (p_u = 0,001) и 14-е сутки (p_u = 0,008). Статистически значимых различий в показателе между группами не получено. Несмотря на снижение АТФ-азной активности в ткани печени обеих групп, в ОГ наблюдался статистически значимый рост митохондриальной активности на 7-е (p_w = 0,046) и 14-е (p_w = 0,046) сутки по сравнению с 3-ми сутками исследования.

В ткани печени КГ активность блокируемой азидом натрия АТФ-азы с 3-й по 14-е сутки практически не изменялась, оставаясь на одном уровне, без тенденции к восстановлению.

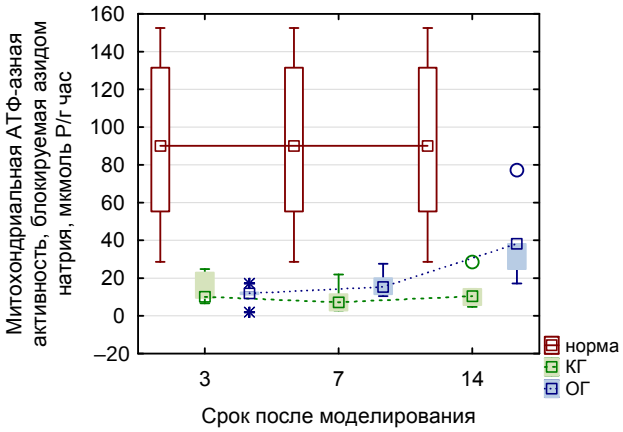


РИС. 2.

Динамика митохондриальной АТФ-азной активности, блокируемой азидом натрия в ткани печени экспериментальных животных

FIG. 2.

Dynamics of mitochondrial ATPase activity blocked by sodium azide in the liver tissue of experimental animals

Сравнительный анализ динамики активности митохондриальной АТФ-азы в ткани печени животных свидетельствуют о восстановлении активности митохондриальной АТФ-азы, а также производимого синтеза АТФ в ОГ животных.

Часть АТФ-азной активности из общей суммарной АТФ-азной активности не подавлялась азидом натрия. АТФ-азы Р-типа не угнетаются азидом натрия и в процессе работы образуют промежуточные фосфорилированные соединения [15]. К АТФ-азам Р-типа относят АТФ-азы плазматических мембран и мембран внутриклеточных органелл: Na^+/K^+-АТФ-азы, Ca^{2+}-АТФ-азы, H^+-АТФ-азы.

Динамика независимой от азида натрия АТФ-азной активности в ткани печени экспериментальных животных КГ и ОГ (рис. 3) была сходна с динамикой суммарной АТФ-азной активности: нами отмечены похожие закономерности и соотношение уровней. Так, в ткани печени активность данных АТФ-аз на 3-и сутки эксперимента в ОГ (p_u = 0,005) была статистически значимо ниже, чем у животных КГ, но к 14-м суткам наблюдалось статистически значимое нарастание активности по сравнению с 3-ми (p_w = 0,027) и 7-ми (p_w = 0,046) сутками. В КГ наблюдалось статистически значимое снижение показателя к 7-м суткам исследования (p_w = 0,046) со статистически значимым повышением на 14-е сутки (p_w = 0,027) по сравнению с 3-ми сутками. Нужно отметить, что функция данной АТФ-азной активности связана с использованием АТФ.

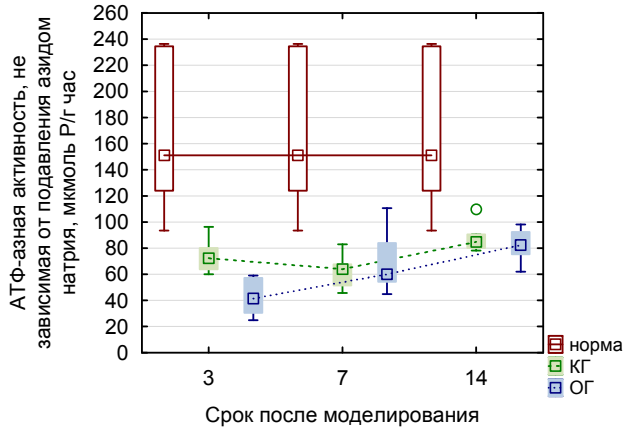


РИС. 3.

Динамика АТФ-азной активности, не зависимой от подавления азидом натрия, в ткани печени экспериментальных животных

FIG. 3.

Dynamics of ATPase activity independent of the suppression by sodium azide in the liver tissue of experimental animals

В то же время ранее отмеченное стабильное повышение митохондриальной АТФ-азной активности с тенденцией к более высокому уровню к 14-м суткам у животных ОГ свидетельствовало о более благоприятном процессе восстановления активности митохондриальной АТФ-азы и, соответственно, синтеза АТФ. Баланс между использованием и синтезом АТФ в ОГ сдвигается в сторону синтеза АТФ. При меньшем использовании АТФ (более низкой суммарной АТФ-азной активности на 3-и сутки) у животных ОГ условия для сохранения и восстановления синтезирующей способности оказывались более щадящими.

Таким образом, развитие экспериментального перитонита приводило в ранние сроки (к 3-м суткам) к подавлению АТФ-азной активности в ткани печени. При этом активность суммарной АТФ-азы и АТФ-азы, не зависящей от азида натрия, была статистически значимо выше в ткани печени животных КГ без применения препарата «Серогард», чем в ОГ.

На 7-е и 14-е сутки исследования только в ОГ, с использованием препарата «Серогард», митохондриальная активность нарастала, отмечалась динамика статистически значимого повышения суммарной АТФ-азной активности, свидетельствующая о более активном восстановлении энергетических процессов в клетках печени экспериментальных животных по сравнению с КГ. Без применения препарата «Серогард» (КГ) статистически значимое повышение АТФ-азной активности отмечалось лишь для АТФ-азы, не зависимой от азида натрия, и к одному сроку исследования – от 7-х к 14-м суткам, что свидетельствовало о менее эффективном восстановлении активности по сравнению с ОГ. К завершению исследования суммарная АТФ-азная активность не достигала исходного уровня ни в КГ, ни в ОГ.

Использование препарата «Серогард» способствовало процессу более раннего, стабильного восстановления митохондриальной АТФ-азной (АТФ-синтазной) активности без достижения в период эксперимента исходных величин, но с уровнем, статистически значимо более высоким, чем без применения препарата. При этом у животных, не подвергавшихся воздействию препарата в условиях перитонита, в данные сроки эксперимента не наблюдалось никакой тенденции к восстановлению митохондриальной АТФ-азной (АТФ-синтазной) активности.

При анализе динамики показателей перекисного окисления липидов (табл. 2) отмечено, что в ткани печени животных КГ к 3-м суткам происходило статистически значимое повышение уровня МДА (p_u = 0,008) по сравнению с нормальными показателями; у животных ОГ статистической значимости повышения МДА в этот срок не получено (рис. 4). К 14-м суткам уровень МДА в ткани печени животных ОГ увеличивался, статистически значимо превышая нормальные значения (p_u = 0,002). Наиболее интенсивный статистически значимый рост МДА в печени экспериментальных животных ОГ наблюдался к 14-м суткам (p_w = 0,038).

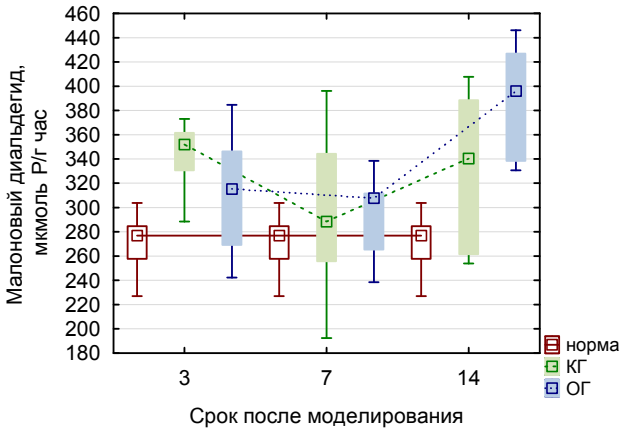


РИС. 4.

Динамика уровня малонового диальдегида в ткани печени экспериментальных животных

FIG. 4.

Dynamics of the malondialdehyde level in the liver tissue of experimental animals

В КГ отмечено статистически значимое повышение уровня МДА к 14-м суткам исследования по сравнению с 3-ми (p_w = 0,027) и 7-ми (p_w = 0,027) сутками. Статистически значимых отличий в уровне МДА между КГ и ОГ не установлено.

На протяжении всего экспериментального исследования концентрация МДА в обеих группах интенсивно растёт, что свидетельствует об интенсификации окислительных процессов. Подобные результаты получены Y. Yildirim и соавт. (2016) при изучении оксидативного стресса при экспериментальном перитоните [30].

При исследовании ДК в ткани печени экспериментальных животных (табл. 2; рис. 5) выявлено, что к 7-м суткам их уровень значительно и статистически значимо повышался в ОГ (p_u = 0,028) по сравнению с КГ. В КГ статистически значимых отличий в уровне ДК на всех сро-

ках наблюдения не отмечено, при этом в ОГ установлено статистически значимое отличие в динамике показателей на 7-е сутки (p_w = 0,027) по сравнению с 3-ми сутками и на 14-е сутки (p_w = 0,046) по сравнению с 7-ми сутками наблюдения.

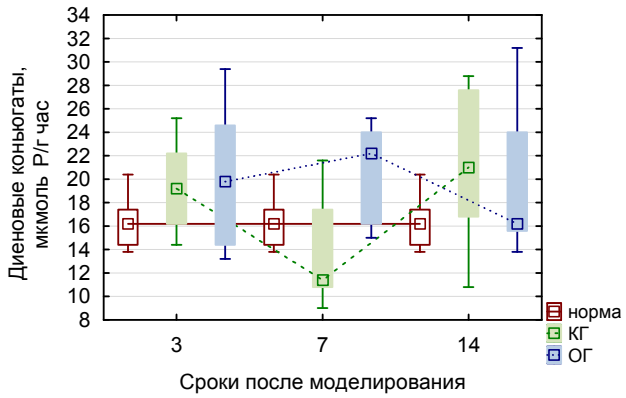


РИС. 5.

Динамика уровня диеновых конъюгатов в ткани печени экспериментальных животных

FIG. 5.

Dynamics of the diene conjugates level in the liver tissue of experimental animals

Обычно более высокий уровень показателей ПОЛ принято связывать с повреждающим действием свободнорадикальных процессов [31]. Ранее нами было показано, что динамика показателя ПОЛ, малонового диальдегида, чувствительно связана с энергетическими процессами и отражает их активность, подавление, а также гармоничность восстановления [32]. То есть чем значительнее угнетение метаболических процессов и их энергетического обеспечения, в том числе использование и синтез АТФ в клетке, тем более выраженным при восстановлении энергетических процессов будет всплеск свободнорадикальных процессов с их повреждающим действием, и, следовательно, выше пик МДА. При угнетении метаболизма и энергетики клетки также наблюдается угнетение динамики уровня МДА [33].

В проведённом исследовании нами установлено статистически значимое повышение уровня МДА на 3-и сутки исследования по сравнению с исходным значением у животных КГ. В ОГ в этот срок исследования статистически значимого отличия МДА по сравнению с исходными значениями не отмечено. То есть уже на 3-и сутки экспериментального исследования наблюдались более активные свободнорадикальные процессы в КГ. В этот же срок у животных КГ отмечалась более высокая, чем в ОГ, суммарная АТФ-азная активность и активность не зависимых от азида натрия АТФ-аз.

К 14-м суткам отмечалась тенденция к более высокому уровню МДА у животных ОГ по сравнению с КГ, что также согласуется с закономерностями динамики восстановления АТФ-азной активности и в том числе с митохондриальной АТФ-азной активностью, на 14-е сутки статистически значимо отличающейся от контроля. Увеличение уровня ДК в ткани печени животных ОГ на 7-е сутки соответствовало статистически значимому нарастанию активности суммарной АТФ-азы.

Повышение активности ПОЛ и величин её показателей, МДА и ДК, может быть истолковано не только как отрицательный, повреждающий процесс, а как показатель, свидетельствующий о процессе восстановления аэробного энергетического обеспечения клетки, восстановления митохондриального синтеза АТФ, который сопровождается свободнорадикальными процессами.

Было отмечено, что высокому содержанию МДА на 14-е сутки в ткани печени животных ОГ соответствуют относительно сниженные показатели ДК в этот же срок, что находит своё отражение в увеличении медианы коэффициента МДА/ДК до 24,5 (15,2; 24,8) у. е. по сравнению с исходным значением 16,4 (15,6; 18,8) у. е. и значением в контроле 14,6 (12,0; 24,3) у. е., однако статистически значимых отличий при сравнении получено не было (рис. 6). В КГ коэффициент МДА/ДК статистически значимо повышался к 7-м суткам (p_w = 0,027) с последующим снижением к 14-м суткам наблюдения. В ОГ отмечалась обратная картина: к 7-м суткам установлено снижение МДА/ДК с увеличением показателя на 14-е сутки. При оценке динамики изменения коэффициента МДА/ДК установлено статистически значимое его снижение на 7-е сутки экспериментального исследования в ОГ (p_u = 0,033) по сравнению с КГ (рис. 6).

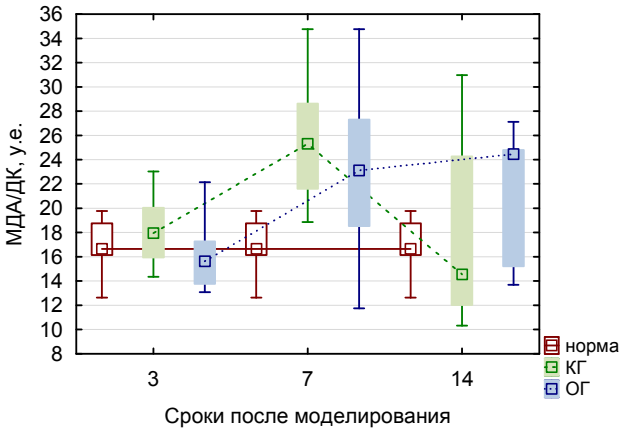


РИС. 6.

Динамика уровня МДА/ДК в ткани печени экспериментальных животных

FIG. 6.

Dynamics of malondialdehyde/diene conjugates level in the liver tissue of experimental animals

По соотношению МДА и ДК судят об общей направленности, интенсивности процессов свободнорадикального окисления. Сдвиг в сторону МДА может свидетельствовать как об активном переходе первичных продуктов в промежуточные и конечные продукты, так и об активации ПОЛ в целом [33].

Возможно, образование первичных продуктов (ДК) в ткани печени животных ОГ на 14-е сутки ослабевает по мере восстановления митохондриального синтеза АТФ, но этому предшествует преобразование накопленных первичных продуктов – ДК (как видно на 7-е сутки) во вторичный продукт – МДА (что имеет место на 14-е сутки). Это отмеченное преобразование является маркером восстановления аэробных энергетических, а также других метаболических процессов, при которых данное превращение становится возможным либо активируется. Часто связывают повышение уровня МДА и сдвиг баланса МДА/ДК в сторону вторичного продукта (МДА) с недостаточностью работы антиоксидантных систем [33]. Но в первую очередь всплеск свободнорадикальных процессов с образованием соответствующих продуктов происходит именно при сбое и восстановлении аэробного синтеза АТФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие экспериментального перитонита приводило к подавлению митохондриальной АТФ-азной (АТФ-синтазной) активности в ткани печени экспериментальных животных. Использование препарата «Серогард» в лечении экспериментального перитонита в ОГ вызывало более выраженное снижение АТФ-азной активности в ранний срок эксперимента, но в дальнейшем потенцировало тенденцию к её эффективному восстановлению. При этом восстановление активности АТФ-синтазы и, соответственно, нарушенного синтеза АТФ сопровождалось активацией свободнорадикальных процессов с повышением образования первичных продуктов ПОЛ, ДК, и вторичного продукта (МДА), что свидетельствовало о меньшем угнетении и ранней активации свободнорадикальных процессов в середине и к окончанию исследования. Динамика МДА и ДК, время минимумов и максимумов могут служить маркерами степени нарушения, моментов восстановления аэробного митохондриального синтеза АТФ.

Таким образом, использование нового лекарственного препарата «Серогард» при экспериментальном перитоните способствует ограничению развития воспалительных, повреждающих процессов и создаёт более щадящие условия для течения метаболических процессов в ткани печени на ранних сроках экспериментального перитонита с их меньшей активацией, но более эффективным восстановлением в более поздние сроки эксперимента.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Feniouk BA. *Welcome to ATP synthase.* URL: https://www.atpsynthase.info/ [date of access: 23.06.2024].

2. Кассимерис Л., Лингаппа В.П., Плоппер Д. *Клетки по Льюину.* М.: Лаборатория знаний; 2021: 234-298. [Kassimeris L, Lingappa VP, Plopper D. *Cells according to Lewin.* Moscow: Laboratoriya znaniy; 2021: 234-298. (In Russ.)].

3. Черенкевич С.Н., Мартинович Г.Г., Хмельницкий А.И. *Биологические мембраны.* Минск; 2009: 145-160. [Cherenkevich SN, Martinovich GG, Khmelnitsky AI. *Biological membranes.* Minsk; 2009: 145-160. (In Russ.)].

4. Khan YA, White KI, Brunger AT. The AAA+ superfamily: A review of the structural and mechanistic principles of these molecular machines. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2022; 57(2): 156-187. doi: 10.1080/10409238.2021.1979460

5. Узлова Е.В., Зиматкин С.М. АТФ-синтаза митохондрий. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2020; 18(6): 648-654. [Uzlova EV, Zimatkin SM. Mitochondrial ATP synthase. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2020; 18(6): 648-654. (In Russ.)]. doi: 10.25298/2221-8785-2020-18-6-648-654

6. Болдырев А.А., Кяйвяряйнен Е.И., Илюха В.А. *Биомембранология.* Петрозаводск: Издательство КарНЦ РАН; 2006: 128-143. [Boldyrev AA, Kyaivyaryainen EI, Ilyukha VA. *Biomembranology.* Petrozavodsk; 2006: 128-143. (In Russ.)].

7. Силкин Ю.А., Силкина Е.Н., Силкин М.Ю. Влияние солей азида, фторида, ортованадата и ЭДТА натрия на экто-АТФазную активность эритроцитов скорпены (*Scorpaena porcus* L.) и морской лисицы (*Raja clavata* L.). *Журнал эволюционной биохимии и физиологии.* 2021; 57(5): 380-391. [Silkin YuA, Silkina EN, Silkin MYu. The effect of azide, fluoride, orthovanadate, and EDTA sodium salts on ecto-atpase activity of red blood cells in a scorpionfish (*Scorpaena porcus* L.) and thornback ray (*Raja clavata* L.). *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology.* 2021; 57(5): 380-391. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S0044452921050077

8. Garcia-Bermudez J, Cuezva JM. The ATPase inhibitory factor 1 (IF1): A master regulator of energy metabolism and of cell survival. *Biochim Biophys Acta*. 2016; 1857(8): 1167-1182. doi: 10.1016/j.bbabio.2016.02.004

9. Kumar V, Kumar TRS, Kartha CC. Mitochondrial membrane transporters and metabolic switch in heart failure. *Heart Fail Rev.* 2019; 24(2): 255-267. doi: 10.1007/s10741-018-9756-2

10. Skogestad J, Aronsen JM. Hypokalemia-induced arrhythmias and heart failure: New insights and implications for therapy. *Front Physiol.* 2018; 9: 1500. doi: 10.3389/fphys.2018.01500

11. Magalhaes D, Cabral JM, Soares-da-Silva P, Magro F. Role of epithelial ion transports in inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2016; 310(7): 460-476. doi: 10.1152/ajpgi.00369.2015

12. Bogorodskaya SL, Klinova SN, Mikashova MB, Golubev SS, Pivovarov YuI, Kurilskaya TE, et al. Transplantation of xenogenic cardiomyocytes in experimental epinephrine-induced damage to myocardium: Enzyme activity and morphological parameters. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2008; 146(1): 120-123. doi: 10.1007/s10517-008-0218-z

13. Макаренко Е.В. АТФазная активность эритроцитов при хронических заболеваниях печени и желудка. *Лабораторное дело.* 1987; (2): 14-17. [Makarenko EV. ATPase activity of erythrocytes in chronic diseases of the liver and stomach. *Laboratornoe delo.* 1987; (2): 14-17. (In Russ.)].

14. Supinski GS, Schroder EA, Callahan LA. Mitochondria and critical illness. *Chest*. 2020; 157(2): 310-322. doi: 10.1016/j.chest.2019.08.2182

15. Xia Y, Liu N, Xie X, Bi G, Ba H, Li L, et al. The macrophage-specific V-ATPase subunit ATP6V0D2 restricts inflammasome activation and bacterial infection by facilitating autophagosome-lysosome fusion. *Autophagy*. 2019; 15(6): 960-975. doi: 10.1080/15548627.2019.1569916

16. Zhang J, Chang J, Beg MA, Huang W, Zhao Y, Dai W, et al. Na/K-ATPase suppresses LPS-induced pro-inflammatory signaling through Lyn. *iScience*. 2022; 25(9): 104963. doi: 10.1016/j.isci.2022.104963

17. Суковатых Б.С., Конопля А.И., Блинков Ю.Ю. Механизмы развития и способы коррекции иммунных и оксидантных нарушений при распространенном перитоните. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2015; (9): 91-95. [Sukovatykh BS, Konoplya AI, Blinkov YuYu. Mechanisms of development and correction of immune and oxidative disorders in case of peritonitis. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2015; (9): 91-95. (In Russ.)]. doi: 10.17116/hirurgia2015991-95

18. Петухов В.А., Сон Д.А., Миронов А.В. Эндотоксиновая агрессия и дисфункция эндотелия при синдроме кишечной недостаточности в экстренной хирургии органов брюшной полости: причинно-следственные связи. *Анналы хирургии*. 2006; 5: 27-33. [Petukhov VA, Son DA, Mironov AV. Endotoxin aggression and endothelial dysfunction in intestinal insufficiency syndrome in emergency surgery of abdominal organs: Causal relationships. *Annals of Surgery*. 2006; 5: 27-33. (In Russ.)].

19. Zhang X, Liu H, Hashimoto K, Yuan S, Zhang J. The gut-liver axis in sepsis: Interaction mechanisms and therapeutic potential. *Crit Care*. 2022; 26(1): 213. doi: 10.1186/s13054-022-04090-1

20. Яроцкая Н.Н., Косинец В.А., Королькова Н.К. Изменение функциональной активностим печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните на фоне применения энерготропной коррекции. *Вестник ВГМУ*. 2018; 17(6). 46-54. [Yarotskaya NN, Kosinets VA, Karalkova NK. Changes in the functional activity of the liver in experimental generalized purulent peritonitis with the application of energotropic correction. *Vitebsk Medical Journal*. 2018; 17(6): 46-54. (In Russ.)]. doi: 10.22263/2312-4156.2018.6.46

21. Castelo-Soccio L, Kim H, Gadina M, Schwartzberg PL, Laurence A, O'Shea JJ. Protein kinases: Drug targets for immunological disorders. *Nat Rev Immunol*. 2023; 23(12): 787-806. doi: 10.1038/s41577-023-00877-7

22. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Чепурных Е.Е. *Способ лечения энтеральной недостаточности при воспалительных и травматических повреждениях брюшины:* Пат. № 2749435 Рос. Федерация; МПК A61K 31/5025, A61K 31/4174; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». 2021; (16). [Shurygina IA, Shurygin MG, Chepurnykh EE. *Method for treating enteral insufficiency in inflammatory and traumatic injuries of the peritoneum:* Patent No. 2749435 of the Russian Federation. 2021; (16). (In Russ.)].

23. Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А., Фадеева Т.В., Дремина Н.Н., Шурыгин М.Г. Использование блокаторов p38 MAPK в лечении экспериментального перитонита. *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского*. 2024; 12(3): 32-39. [Chepurnykh EE, Shurygina IA, Fadeeva TV, Dremina NN, Shurygin MG. p38 MAPK inhibitors in the treatment of experimental peritonitis. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky Journal*. 2024; 12 (3): 32-39. (In Russ.)]. doi: 10.33029/2308-1198-2024-12-3-32-39

24. Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А., Фадеева Т.В., Григорьев Е.Г. *Способ моделирования перитонита:* Пат. № 2716482 Рос. Федерация; МПК G09 B23/28, A61 B17/00/; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». 2020; (8). [Chepurnykh EE, Shurygina IA, Fadeeva TV, Grigoriev EG. *Method for modeling peritonitis:* Pat. No. 2716482 of the Russian Federation. 2020; (8). (In Russ.)].

25. Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А., Фадеева Т.В., Григорьев Е.Г. Экспериментальное моделирование разлитого гнойного перитонита. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 117-121. [Chepurnykh EE, Shurygina IA, Fadeeva TV, Grigoryev EG. Experimental modeling of general purulent peritonitis. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 117-121. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.15

26. Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А., Шаульская Е.С., Шурыгин М.Г. Роль цитокинов в патогенезе развития распространённого гнойного перитонита. *Acta biomedica scientifica*. 2016; 1(4): 177-182. [Chepurnykh EE, Shurygina IA, Shaul'skaja ES, Shurygin MG. Role of cytokines in the pathogenesis of diffuse bacterial peritonitis. *Acta biomedica scientifica*. 2016; 1(4): 177-182. (In Russ.)]. doi: 10.12737/23029

27. Shurygina IA, Adelshin RV, Drozdova PB, Fadeeva TV, Shurygin MG. *Bacteroides fragilis strain ISCST1982, whole genome shotgun sequencing project*. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_QUBP00000000.1?report=genbank [date of access: 23.06.2024].

28. Портяная Н.И., Осипенко В.Г., Москадынова П.А., Черняк Ю.И., Новохатский Н.К., Гущина А.А., и др. *Биохимические исследования в токсикологическом эксперименте*. Иркутск; 1990. [Portyanaya NI, Osipenko VG, Moskadynova PA, Chernyak YuI, Novokhatsky NK, Gushchina AA, et al. *Biochemical studies in a toxicological experiment*. Irkutsk; 1990. (In Russ.)].

29. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. *Лабораторное дело*. 1983; (3): 35-36. [Gavrilov VB, Mishkorudnaya MI. Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxides in blood plasma. *Laboratornoe delo*. 1983; (3): 35-36. (In Russ.)].

30. Yildirim Y, Cellad EG, Kara AV, Yilmaz Z, Kadiroglu AK, Bahadir MV, et al. Effect of intraperitoneal etanercept on oxidative stress in rats with peritonitis. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 9418468. doi: 10.1155/2016/9418468

31. Dhalla NS, Elimban V, Bartekova M, Adameova A. Involvement of oxidative stress in the development of subcellular defects and heart disease. *Biomedicines*. 2022; 10(2): 393. doi: 10.3390/biomedicines10020393

32. Богородская С.Л., Рунович А.А. К механизму адреналинового повреждения сердечной ткани и механизму кардиопротекции неонатальными, ксеногенными, сердечными клетками. Динамика креатинфосфата, лактата и малонового диальдегида. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 265-270. [Bogorodskaya SL, Runovich AA. To the mechanism of adrenaline damage to the heart tissue and the mechanism of cardioprotection by neonatal, xenogenic, cardiac cells. Dynamics of creatine

phosphate, lactate and malondialdehyde. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 265-270. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.35

33. Срубилин Д.В., Еникеев Д.А., Мышкин В.А., Акбердина Г.Р., Погорелов А.М. Влияние комплексного соединения 5-окси-6-метилурацила с янтарной кислотой и низкоинтенсивного лазерного излучения на функциональное состояние гепатоцитов при хронической интоксикации карбофосом. *Вестник новых медицинских технологий.* 2016; (4): 125-133. [Srubilin DV, Enikeev DA, Myshkin VA, Akberdina GR, Pogorelov AM. The effect of the complex compound 5-oxy-6-methyluracil with succinic acid and low-intensity laser radiation on the functional state of hepatocytes in chronic carbophosome intoxication. *Vestnik of New Medical Technologies.* 2016; (4): 125-133. (In Russ.)]. doi: 10.12737/22629

Сведения об авторах

Чепурных Елена Евгеньевна – кандидат медицинских наук, учёный секретарь, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии, e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-3197-4276

Богородская Светлана Леонидовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sbogorodskaya@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2471-4230

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: irinashurygina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3980-050X

Родионова Любовь Викторовна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: greidmacho@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-5080-9225

Самойлова Лилия Григорьевна – младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: popovalg@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4482-6130

Шурыгин Михаил Геннадьевич – доктор медицинских наук, заведующий научно-лабораторным отделом, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: mshurygin@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-5921-0318

Information about the authors

Elena E. Chepurnykh – Cand. Sc. (Med), Academic Secretary, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-3197-4276

Svetlana L. Bogorodskaya – Cand. Sc. (Biol), Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sbogorodskaya@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2471-4230

Irina A. Shurygina – Dr. Sc. (Med), Professor of the RAS, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: irinashurygina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3980-050X

Lyubov V. Rodionova – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: greidmacho@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-5080-9225

Liliya G. Samoilova – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: popovalg@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4482-6130

Mikhail G. Shurygin – Dr. Sc. (Med.), Head of the Scientific Laboratory Department, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: mshurygin@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-5921-0318

ТЕСТИРОВАНИЕ ПЕРСПЕКТИВНОГО ГЕЛЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ЭПИДУРАЛЬНОГО ФИБРОЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА МОДЕЛИ ЛАМИНЭКТОМИИ

Животенко А.П.,
Шурыгина И.А.,
Шурыгин М.Г.,
Гольдберг О.А.,
Ларионов С.Н.,
Сороковиков В.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Животенко Александр Петрович,
e-mail: sivotenko1976@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Хирургическое лечение заболеваний позвоночника часто осложняется эпидуральным фиброзом, являющимся одной из главных причин синдрома неудачно оперированного позвоночника.

Цель исследования. *Оценить зону ламинэктомии и трансформацию эпидурального фиброза при использовании оригинальных гелей в эксперименте. Материалы и методы. Ламинэктомия проводилось на крысах-самцах линии Wistar. Животные были разделены на четыре группы. Проведено тестирование оригинальных гелей. Группа интактных (без операции) крыс служила группой сравнения для контрольной и групп с тестируемыми гелями, несущими и не несущими блокатор p38 MAP-киназы. На 28-е сутки оценивалась деформация дурального мешка с измерением поперечного и продольного сечения позвоночного канала и определялась адгезия спинномозговых корешков к внутреннему листку твёрдой мозговой оболочки при эпидуральном фиброзе и покрытие её соединительной тканью по периметру ламинэктомического окна.*

Результаты. *В контрольной группе наблюдалась выраженная деформация дурального мешка. Использование всех исследованных гелей уменьшало деформацию, приближая форму дурального мешка к норме. Однако гель с блокатором p38 MAP-киназы статистически значимо снижал адгезию спинномозговых корешков к твёрдой мозговой оболочке.*

Заключение. *Впервые на модели ламинэктомии для профилактики эпидурального фиброза использована и изучена фармацевтическая композиция, содержащая блокатор p38 MAP-киназы и представлены взаимоотношения трансформации и изменения формы дурального мешка с оценкой вовлечённости твёрдой мозговой оболочки в формирование эпидурального фиброза. Полученные результаты показывают, что гель с блокатором p38 MAP-киназы более эффективен для профилактики эпидурального фиброза, чем гель без блокатора.*

Ключевые слова: *ламинэктомия, эпидуральный фиброз, твёрдая мозговая оболочка, гелевая композиция, блокатор p38 MAP-киназы, профилактика, эксперимент*

Статья поступила: 08.08.2024
Статья принята: 21.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Животенко А.П., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Гольдберг О.А., Ларионов С.Н., Сороковиков В.А. Тестирование перспективного геля для профилактики эпидурального фиброза в эксперименте на модели ламинэктомии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 239-248. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.24

TESTING OF A PROMISING GEL FOR THE PREVENTION OF EPIDURAL FIBROSIS IN AN EXPERIMENT ON A LAMINECTOMY MODEL

Zhivotenko A.P.,
Shurygina I.A.,
Shurygin M.G.,
Goldberg O.A.,
Larionov S.N.,
Sorokovikov V.A.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Aleksandr P. Zhivotenko,
e-mail: sivotenko1976@mail.ru

ABSTRACT

Surgical treatment of spinal diseases is often complicated by epidural fibrosis, which is one of the main causes of failed back surgery syndrome.

The aim. *To evaluate the laminectomy zone and transformation of epidural fibrosis using original gels in an experiment.*

Materials and methods. *Laminectomy was performed on male Wistar rats. The animals were divided into four groups. The original gels were tested. The group of intact (unoperated) rats served as a comparison group for the control and groups with the tested gels, carrying and not carrying the p38 MAP kinase blocker. On day 28, the deformation of the dural sac was assessed by measuring the transverse and longitudinal sections of the spinal canal, also the adhesion of the spinal roots to the inner layer of the dura mater in epidural fibrosis and its coverage with connective tissue along the perimeter of the laminectomy window were determined.*

Results. *In the control group, the pronounced deformation of the dural sac was observed. The use of all the studied gels reduced the deformation, bringing the shape of the dural sac closer to the norm. However, the gel with the p38 MAP kinase blocker significantly reduced the adhesion of the spinal roots to the dura mater.*

Conclusion. *For the first time, a pharmaceutical composition containing a p38 MAP kinase blocker was used and studied on a laminectomy model for the prevention of epidural fibrosis, and the relationships between the transformation and change in the shape of the dural sac with an assessment of the involvement of the dura mater in the formation of epidural fibrosis were presented. The results obtained show that a gel with a p38 MAP kinase blocker is more effective for the prevention of epidural fibrosis than a gel without a blocker.*

Key words: *laminectomy, epidural fibrosis, dura mater, gel composition, p38 MAP kinase blocker, prevention, experiment*

Received: 08.08.2024
Accepted: 21.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Zhivotenko A.P., Shurygina I.A., Shurygin M.G., Goldberg O.A., Larionov S.N., Sorokovikov V.A. Testing of a promising gel for the prevention of epidural fibrosis in an experiment on a laminectomy model. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 239-248. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.24

ВВЕДЕНИЕ

Оперативные вмешательства активно используются в лечении травм и заболеваний позвоночника, целью которых является освобождение невральных структур от сдавливания для восстановления их функции и регресса болевого синдрома [1, 2]. Однако после хирургических воздействий на позвоночнике развиваются тканевые морфологические изменения, такие как эпидуральный фиброз, патология смежного сегмента и другие, которые приводят к формированию хронического болевого синдрома и объединены одним понятием «синдром неудачно оперированного позвоночника», который имеет гетерогенную структуру, не ограничивается зоной хирургического вмешательства и имеет пространственно-временные характеристики, зависящие от активности репарационного процесса с его генетическими и фенотипическими проявлениями [3–6]. Эпидуральный фиброз, одна из ключевых причин синдрома неудачно оперированного позвоночника, снижает процент удовлетворительных результатов при повторной хирургии позвоночника и приводит к формированию хронической радикулопатии [7–10]. С каждым годом увеличивается оперативная активность на позвоночнике при различных нозологических формах заболеваний позвоночника и травматических повреждениях позвоночно-двигательных сегментов, что связано с улучшением качества диагностики вертебральной патологии и внедрением новых методов и методик нейрохирургических воздействий на позвоночник, что, естественно, влечёт за собой увеличение частоты развития эпидурального фиброза [11–13].

Неудивительно, что данной проблеме посвящён широкий круг исследований. В том числе предпринимаются попытки использовать различные приёмы и материалы для профилактики рубцово-спаечного процесса в эпидуральном пространстве [14–16]. Большинство из них представляют собой модельные исследования с использованием экспериментальных животных, в которых проверяют эффективность препаратов или материалов для профилактики эпидурального фиброза, а затем сравнивают исследуемую и контрольную группу на основе гистопатологии [15, 16].

Эпидуральный фиброз представляет собой динамический процесс, имеющий временные рамки, с формированием плотной рубцовой ткани вокруг твёрдой мозговой оболочки и невральных образований позвоночного канала, и характеризует физиологичный ответ организма на хирургическое вмешательство [17, 18].

В этих условиях крайне важно иметь унифицированные подходы к исследованию и описанию процесса для возможности объективной оценки эффективности различных способов профилактики эпидурального фиброза.

Одной из первых публикаций, посвящённых данной проблеме, является статья H. LaRocca и I. Macnab [19]. Авторы выделили два важных момента: анатомическое расположение новообразованной соединительной ткани (эпидуральный фиброз) и анатомический уровень среза позвонка во фронтальной плоскости (с включением в образец тела позвонка, поперечных отростков и далее в пределах формирования рубца). Во множестве последующих публикаций такой анатомический уровень, ракурс, стал своего рода «стандартом».

Далее были внесены критерии оценки распространения и количества новообразованной соединительной ткани. Одним из широко используемых методов оценки результатов послеоперационного эпидурального фиброза является метод, предложенный Y. He et al. [20]. Этот метод позволяет оценить степень прилегания эпидурального фиброза. Авторы выделили 4 степени адгезии в зависимости от вовлечённости твёрдой мозговой оболочки в патологический процесс:

- степень 0 – твёрдая мозговая оболочка свободна от рубцовой ткани;
- степень 1 – между рубцовой тканью и твёрдой мозговой оболочкой наблюдаются только тонкие фиброзные волокна;
- степень 2 – непрерывная адгезия наблюдается менее чем в двух третях дефекта ламинэктомии;
- степень 3 – адгезия рубцовой ткани большая, затрагивающая более двух третей дефекта ламинэктомии, или адгезия распространяется на нервные корешки.

В исследовании [21] на животных классификация послеоперационной эпидуральной фиброзной адгезии была проверена на предмет её межэкспертной надёжности. Классификация послеоперационного эпидурального фиброза показала почти идеальное согласие среди экспертов. Из наблюдения авторы делают вывод, что эта классификация может быть использована в исследованиях, связанных с гистопатологией послеоперационного эпидурального фиброза, например, для разработки средств профилактики послеоперационного эпидурального фиброза на животных моделях.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить зону ламинэктомии и трансформацию эпидурального фиброза при использовании оригинальных гелей в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено тестирование разработанных нами гелей [22] на крысах-самцах породы Wistar в возрасте 4–5 месяцев. Животных разделили на четыре группы. Всего в эксперименте было использовано 28 животных. Группа интактных (без операции) крыс (группа «И»), служила группой сравнения для контрольной (группа «К»), и групп с гелем, несущим (группа «О») и не несущим (группа «Г», контрольноситель) блокатор p38 MAP-киназы. Животным опытных групп проводилось хирургическое воздействие в объёме ламинэктомии на уровне L_{VI}–S_I позвоночно-двигательного сегмента. Группе контроля после ламинэктомии рана ушивалась послойно. Группам с гелем без блокатора p38 MAP-киназы и основной группе наносилась фармацевти-

ческая композиция в объёме 0,5 мл. Животных выводили из эксперимента на 28-е сутки. Группы и дизайн исследования представлены на рисунке 1. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ИНЦХТ (№ 1 от 22.01.2019).

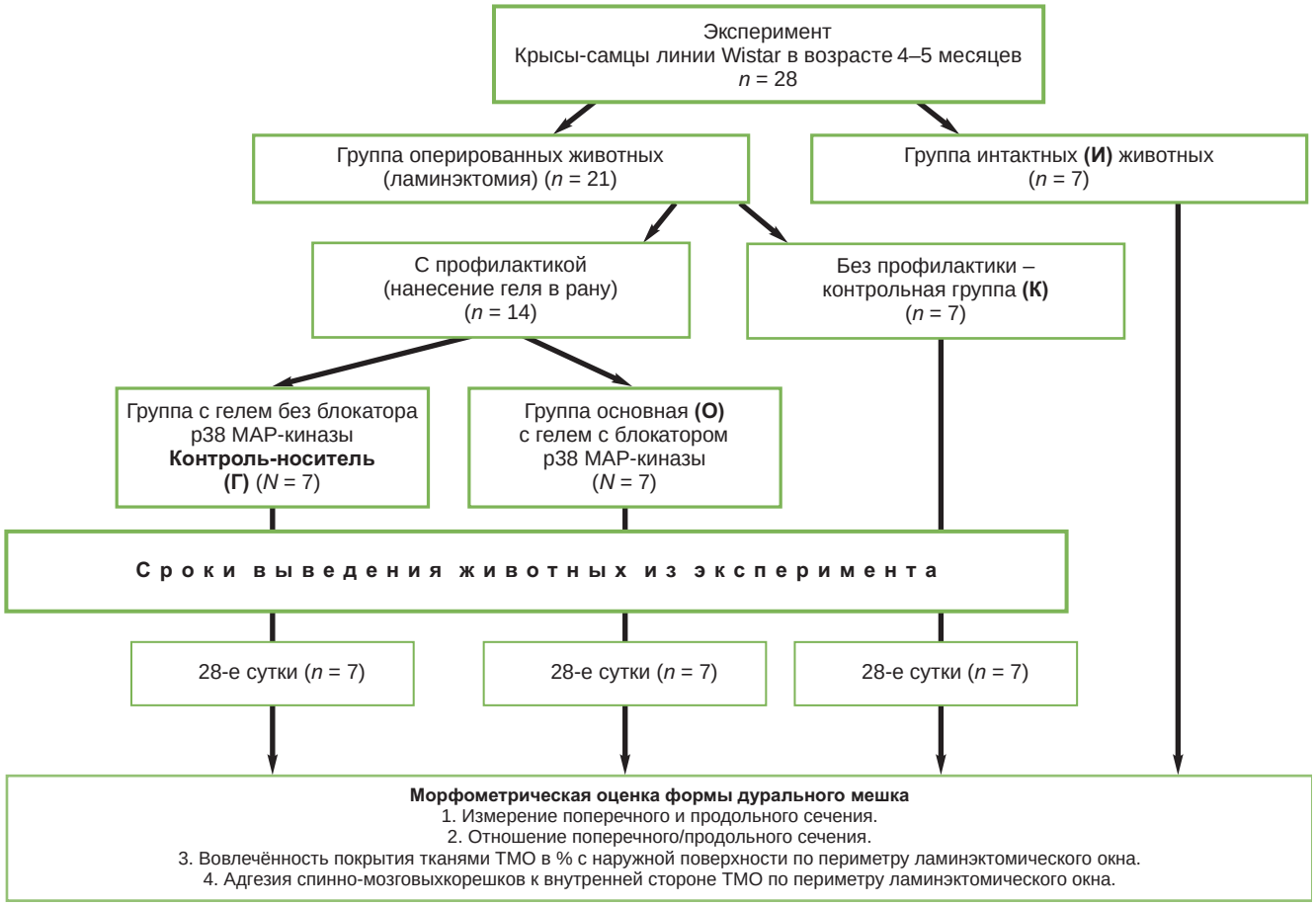
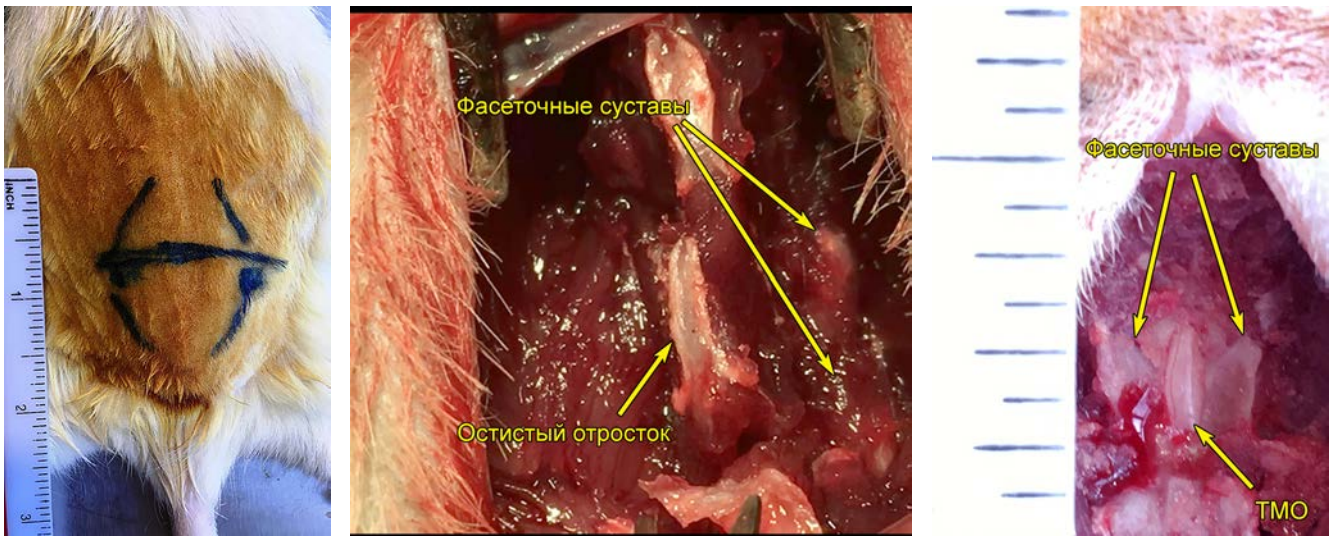


РИС. 1.
Дизайн исследования

FIG. 1.
Study design



а ***б*** ***в***

РИС. 2.
Этапы ламинэктомии и обнажения твёрдой мозговой оболочки: ***а*** *– подготовка места хирургического вмешательства;* ***б*** *– определение уровня ламинэктомии;* ***в*** *– обнажённая твёрдая мозговая оболочка*

FIG. 2.
Stages of laminectomy and dura mater exposure: ***а*** *– preparation of the surgical site;* ***б*** *– determining the level of laminectomy;* ***в*** *– exposed dura mater*

Хирургическая процедура

У экспериментальных животных перед хирургической процедурой определяли вес. Средняя масса составила 356,60 ± 41,63 г. Хирургическое воздействие проводилось в условиях асептики, под общей анестезией с использованием атропина 0,1% 0,1–0,2 мл/100 г (ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия), медитина 0,1–0,2 мл/100 г (ООО «Апиценна», Россия), золетила 0,1–0,2 мл/100 г («Virbac S.A.», Франция), при завершении операции вводили антимедин 0,1–0,2 мл/100 г (ООО «Апиценна», Россия). Препараты вводились внутримышечно.

Животное укладывали на столик Сеченова. Этапы хирургического воздействия в объёме ламинэктомии описаны подробно в предыдущих работах [18, 23], этапы операции представлены на рисунке 2.

Животных выводили из эксперимента на 28-е сутки. Материал забирался блок-резекцией и помещался в раствор Finefix («Milestone», Италия) на 3 суток для фиксации. После, по ранее разработанной методике, выполнялась декальцинация в течение 4 суток [24]. Подготовленный материал погружался в Histomix. На микротоме получали поперечные гистологические срезы с окрашиванием их гематоксилином и эозином и с последующим изучением в зоне ламинэктомии деформации канала, ограниченного твёрдой мозговой оболочкой (ТМО) и вовлеченность её в эпидуральный фиброз [18]. Определялась адгезия спинномозговых корешков к внутреннему листку ТМО при сформированном эпидуральном фиброзе и покрытие её соединительной тканью с наружной стороны по периметру ламинэктомического окна в процентах. Изображения обрабатывались с помощью программы Image J (Wayne Rasband), дистанция измерялась в пикселях. Морфометрические показатели дурального мешка на гистологических препаратах оценивались под световым микроскопом Nikon 80i («Nikon Corp.», Япония).

Статистический анализ выполнен в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Измеряемые параметры представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения, медианы и 25-го и 75-го перцентиля. Различия между группами проанализированы с использованием метода Краскела – Уоллиса при последующем сравнении групп попарно между собой с использованием рангового критерия Манна – Уитни. Уровень значимости принят за $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование первичного тестирования гелей, включающих и не включающих в своём составе блокатор p38 MAP-киназы, установил хорошую адгезию их к твёрдой мозговой оболочке и тканям в зоне оперативного вмешательства на модели ламинэктомии.

В эксперименте у животных контрольной группы выявлялась выраженная деформация дурального мешка с изменением соотношения размеров поперечного и продольного сечения позвоночного канала – прогрессивно снижался переднезадний и параллельно нарастал поперечный размер, что привело к изменению формы канала. У животных с применением гелей отмечена менее выраженная деформация дурального мешка, и его форма приближалась к группе интактных животных (рис. 3–6; табл. 1).

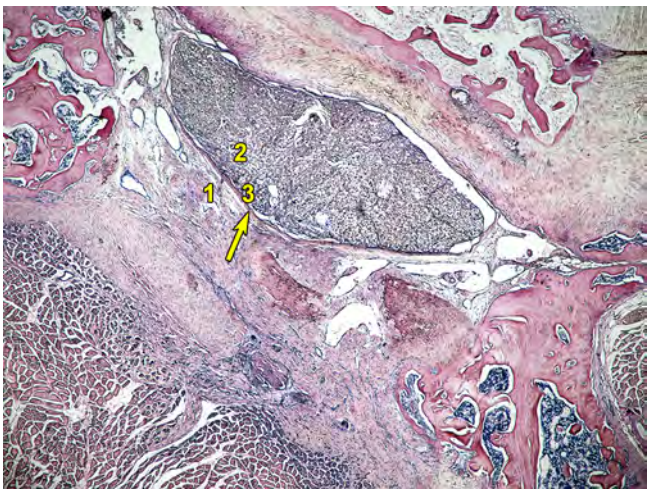


РИС. 3.

Контрольная группа: плотные зоны фиброза в месте ламинэктомии; деформация дурального мешка – сдавление соединительно-тканным рубцом; плотное сращение нервных волокон с твёрдой мозговой оболочкой

FIG. 3.

Control group: dense areas of fibrosis at the site of laminectomy; deformation of the dural sac – compression by connective tissue scar; dense fusion of nerve fibers with the dura mater

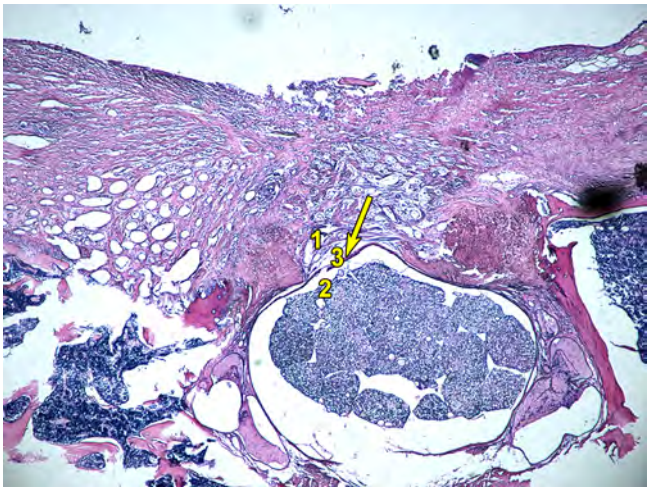


РИС. 4.

Основная группа: соотношение переднезаднего и поперечного размера позвоночного канала приближается к норме; отсутствует адгезия спинномозговых корешков к внутренней поверхности твёрдой мозговой оболочки; соединительно-тканный рубец, неплотно упакованный; твёрдая мозговая оболочка имеет чёткие границы

FIG. 4.

Main group: the ratio of the anterior-posterior and transverse dimensions of the spinal canal is close to normal; there is no adhesion of the spinal roots to the inner surface of the dura mater; the connective tissue scar is loosely packed; the dura mater has clear boundaries

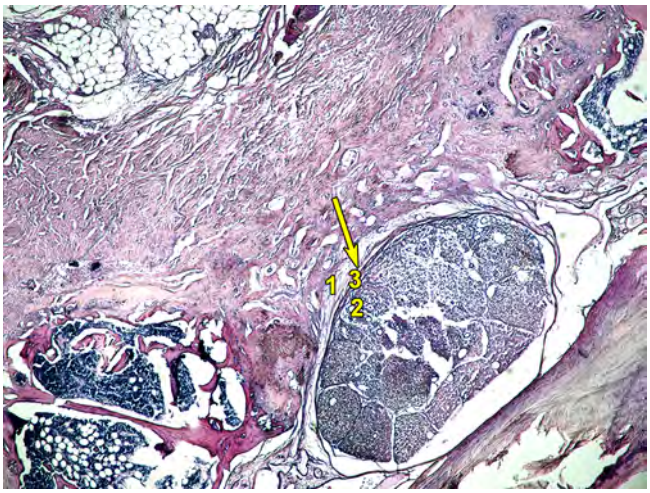


РИС. 5.

Группа «Гель без блокатора»: соединительная ткань менее плотно упакована, твёрдая мозговая оболочка с чёткими границами, отделена от окружающих тканей; определяется адгезия нервных волокон к твёрдой мозговой оболочке: 1 *– над твёрдой мозговой оболочкой пространство в зоне ламинэктомии,* 2 *– под твёрдой мозговой оболочкой пространство (субдуральное),* 3 *– твёрдая мозговая оболочка (красная стрелка); морфологические изменения в зоне оперативного вмешательства на 28-е сутки, окраска гематоксилином и эозином, увеличение ×20*

FIG. 5.

Group "Gel without the blocker": connective tissue is less densely packed, dura mater has clear boundaries, is separated from surrounding tissues; adhesion of nerve fibers to the dura mater is determined: 1 *– space above the dura mater in the laminectomy zone,* 2 *– space below the dura mater (subdural),* 3 *– dura mater (red arrow); morphological changes in the surgical intervention area on day 28, hematoxylin and eosin staining, magnification ×20*

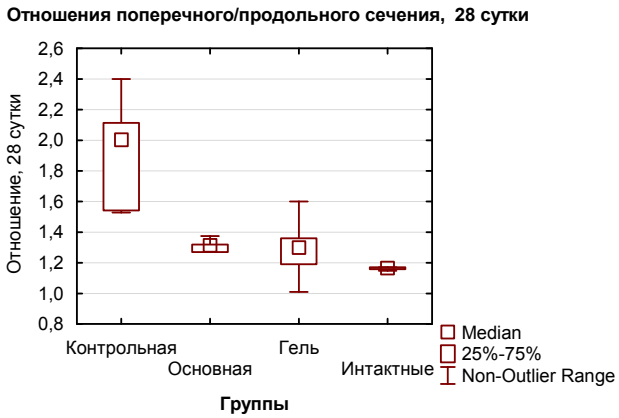


РИС. 6.

Отношение поперечного/продольного сечения на 28-е сутки эксперимента

FIG. 6.

Cross-sectional/longitudinal ratio on day 28 of the experiment

Форма дурального мешка при профилактике эпидурального фиброза в группах с использованием разработанных гелей приближалась к нормальным отношениям при сравнении с интактными животными. При сравнении основной и группы с гелем с контрольной получены значимые отличия ($p_{К–О}$ = 0,012 и $p_{К–Г}$ = 0,037), что показывает – гель с блокатором p38 MAP-киназы и без него эффективен для профилактики эпидурального фиброза. На графике продемонстрировано, что любая из испытанных нами гелевых композиций снижает деформацию дурального мешка в сравнении с контрольной группой и показатели приближаются к интактным животным (рис. 4).

Нами проанализирована вовлечённость ТМО в патологический процесс. Для этого проанализирован рост соединительной ткани над ТМО. При сравнении групп отмечено значимое снижение покрытия ТМО соединительной тканью в зоне ламинэктомии на 28-е сутки в группах с гелями по сравнению с контрольной. При этом в основной группе показатель был самый низкий со статистически значимым отличием от групп контроля ($p_{К–О}$ = 0,012) и геля ($p_{О–Г}$ = 0,012) (табл. 2; рис. 7).

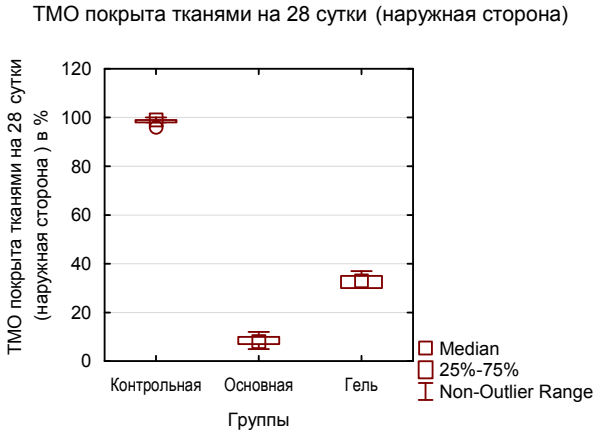


РИС. 7.

Покрытие твёрдой мозговой оболочки соединительной тканью на 28-е сутки (наружная поверхность) в зоне ламинэктомии в процентах в трёх экспериментальных группах

FIG. 7.

Connective tissue coverage of the dura mater on day 28 (outer surface) in the laminectomy area in % in three experimental groups

Также проанализирована адгезия спинномозговых корешков к ТМО. Для основной группы этот показатель был самым низким и значимо отличался от всех остальных групп (рис. 8). Это может свидетельствовать о противовоспалительном действии в отношении перидуральных тканей.

Таким образом, разработанная нами композиция – гель, содержащий блокатор p38 MAP-киназы – показала хорошую биологическую совместимость, удобство применения и эффективность в профилактике эпидурального фиброза.

ТАБЛИЦА 1

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДУРАЛЬНОГО МЕШКА НА 28-Е СУТКИ

TABLE 1

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE DURAL SAC ON DAY 28

Параметр: 28-е сутки	Группа контрольная К	Группа основная О	Группа с гелем без активного вещества Г	Группа интактная И	*p*
			Me (25-й; 75-й перцентили)		
Поперечное сечение, пикс.	1426,34 (1255,93; 1498,14)	1210,62 (1157,39; 1283,06)	1061,73 (959,33; 1124,45)	860,33 (860,33; 860,33)	$p_{К–W} = 0{,}0015^{К, О, Г, И}$ $p_{К–О} = 0{,}095$ $p_{К–Г} = 0{,}022$ $p_{К–И} = 0{,}012$ $p_{О–Г} = 0{,}095$ $p_{О–И} = 0{,}012$ $p_{Г–И} = 0{,}012$
Продольное сечение, пикс.	814,72 (608,49; 902,73)	986,09 (917,71; 998,28)	804,33 (778,27; 864)	749,45 (749,45; 749,45)	$p_{К–W} = 0{,}013^{К,О,Г,А,И}$ $p_{К–О} = 0{,}06$ $p_{К–Г} = 1{,}0$ $p_{К–И} = 0{,}68$ $p_{О–Г} = 0{,}037$ $p_{О–И} = 0{,}012$ $p_{Г–И} = 0{,}012$
Отношение поперечного/продольного сечения	2,0 (1,54; 2,11)	1,31 (1,27; 1,32)	1,30 (1,19; 1,36)	1,17 (1,16; 1,17)	$p_{К–W} = 0{,}0048^{К,О,Г,И}$ $p_{К–О} = 0{,}012$ $p_{К–Г} = 0{,}037$ $p_{К–И} = 0{,}012$ $p_{О–Г} = 1{,}0$ $p_{О–И} = 0{,}022$ $p_{Г–И} = 0{,}144$

Примечание. $p_{К–W}^{К, О, Г, И}$ – критерий Краскела – Уоллиса для четырёх групп; $p_{К, О, Г, И}$ – статистическая значимость различий показателей между группами (критерий Манна – Уитни).

ТАБЛИЦА 2

ОЦЕНКА ВОВЛЕЧЁННОСТИ ТВЁРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ В ЭПИДУРАЛЬНЫЙ ФИБРОЗ

TABLE 2

ASSESSMENT OF THE DURA MATER INVOLVEMENT IN EPIDURAL FIBROSIS

Параметр: 28-е сутки	Группа контрольная К	Группа основная О	Группа с гелем Г	*p*
		Me (25-й; 75-й перцентили)		
ТМО покрыта соединительной тканью (наружная сторона), %	99 (98; 99)	8 (7; 10)	33 (30; 35)	$p_{К–W} = 0{,}0019^{К,О,Г.}$ $p_{К–О} = 0{,}012$ $p_{К–Г} = 0{,}012$ $p_{О–Г} = 0{,}012$
Адгезия спинномозговых корешков к ТМО (внутренняя поверхность), %	92 (90; 94)	0 (0; 3)	83 (81; 88)	$p_{К–W} = 0{,}0021^{К,О,Г}$ $p_{К–О} = 0.012$ $p_{К–Г} = 0.016$ $p_{О–Г} = 0.012$

Примечание. ТМО – твёрдая мозговая оболочка, $p_{К–W}^{К, О, Г}$ – критерий Краскела – Уоллиса для четырёх групп; $p_{К, О, Г}$ – статистическая значимость различий показателей между группами (критерий Манна – Уитни).

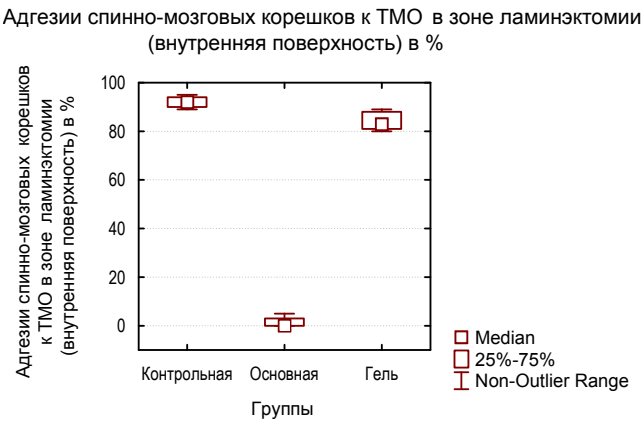


РИС. 8.

Адгезия спинномозговых корешков к твёрдой мозговой оболочке в зоне ламинэктомии (внутренняя поверхность) в процентах в трёх экспериментальных группах

FIG. 8.

Adhesion of the spinal roots to the dura mater in the laminectomy area (inner surface) in % in three experimental groups

При сравнении групп отмечено значимое различие покрытия ТМО соединительной тканью в зоне ламинэктомии на 28-е сутки с наружной поверхности и адгезии спинномозговых корешков к внутреннему листку (критерий Краскела – Уоллиса, $p_{K-W} = 0{,}0019^{К, О, Г}$ и $p_{K-W} = 0{,}0021^{К,О,Г}$ для трёх групп). При сравнении групп по критерию Манна – Уитни получено значимое различие между основной и другими группами ($p_{K-O} = 0{,}012$; $p_{O-Г} = 0{,}012$) (табл. 2, рис. 5, 6).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые на модели ламинэктомии для профилактики эпидурального фиброза использована и изучена фармацевтическая композиция, содержащая блокатор p38 MAP-киназы. Полученные результаты показывают, что гель с блокатором p38 MAP-киназы более эффективен для профилактики эпидурального фиброза, чем гель без блокатора. Композиция-гель с блокатором p38 MAP-киназы, применяемая местно и однократно, установила хорошую его адгезию к твёрдой мозговой оболочке и тканям в зоне оперативного вмешательства на модели ламинэктомии, что позволяет достичь необходимого противовоспалительного эффекта с подавлением роста соединительной ткани вокруг ТМО, сохраняя форму дурального мешка.

Финансирование

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Козлов Д.М., Крутько А.В., Булатов А.В. Применение оригинального способа мобилизации дуральных структур при эпидуральном фиброзе позвоночного канала на уровне поясничного отдела позвоночника при повторных операциях. *Хирургия позвоночника*. 2015; 12(3); 44-48. [Kozlov DM, Krutko AV, Bulatov AV. Application of the original method to mobilize dural structures for epidural fibrosis of the lumbar spinal canal in reoperations. *Russian Journal of Spine Surgery (Khirurgiya Pozvonochnika)*. 2015; 12(3): 44-48. (In Russ.)]. doi: 10.14531/ss2015.3.44-48

2. Сороковиков В.А., Животенко А.П., Ларионов С.Н., Шурыгина И.А., Потапов В.Э. Анализ рисков повреждения твёрдой мозговой оболочки в хирургии дегенеративной патологии поясничного отдела позвоночника. *Политравма*. 2023; 2: 64-73. [Sorokovikov VA, Zhivotenko AP, Larionov SN, Shurygina IA, Potapov VE. Analysis of the risks of damage to the dura mater in surgery for degenerative pathology of the lumbar spine. *Polytrauma*. 2023; 2: 64-73. (In Russ.)]. doi: 10.24412/1819-1495-2023-2-64-73

3. Гринь А.А., Никитин А.С., Юсупов С.-Э.Р. Хирургическая тактика лечения стеноза позвоночного канала на поясничном уровне у лиц пожилого и старческого возраста. *Нейрохирургия*. 2020; 22(1): 93-102. [Grin AA, Nikitin AS, Yusupov S-ER. Surgical treatment of spinal canal stenosis at the lumbar level in the elderly and senile patients. *Russian Journal of Neurosurgery*. 2020; 22(1): 93-102. (In Russ.)]. doi: 10.17650/1683-3295-2020-22-1-93-102

4. Howard H, Clark P, Garrett M, Wise A, Kee M, Checketts J, et al. A cross-sectional analysis of harms reporting in systematic reviews evaluating laminectomy. *N Am Spine Soc J*. 2023; 13: 100198. doi: 10.1016/j.xnsj.2022.100198

5. Zileli M, Crostelli M, Grimaldi M, Mazza O, Anania C, Fornari M, et al. Natural course and diagnosis of lumbar spinal stenosis: WFNS Spine Committee recommendations. *World Neurosurg X*. 2020; 7: 100073. doi: 10.1016/j.wnsx.2020.100073

6. Alizadeh R, Sharifzadeh SR. Pathogenesis, etiology and treatment of failed back surgery syndrome. *Neurochirurgie*. 2022; 68(4): 426-431. doi: 10.1016/j.neuchi.2021.09.005

7. Manchikanti L, Knezevic NN, Sanapati SP, Sanapati MR, Kaye AD, Hirsch JA. Are percutaneous adhesiolysis effective in managing chronic low back and lower extremity pain in post-surgery syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Curr Pain Headache Rep*. 2020; 24(6): 30. doi: 10.1007/s11916-020-00862-y

8. Takenaka S, Makino T, Sakai Y, Kashii M, Iwasaki M, Yoshikawa H, et al. Dural tear is associated with an increased rate of other perioperative complications in primary lumbar spine surgery for degenerative diseases. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98(1): e13970. doi: 10.1097/MD.0000000000013970

9. Berthelot JM, Douane F, Ploteau S, Le Goff B, Darrieutort-Laffite C. Venous congestion as a central mechanism of radiculopathies. *Joint Bone Spine*. 2022; 89(2): 105291. doi: 10.1016/j.jbspin.2021.105291

10. Masopust V, Holubová J, Skalický P, Rokyta R, Fricová J, Lacman J, et al. Neuromodulation in the treatment of postoperative epidural fibrosis: Comparison of the extent of epidural fibrosis and the effect of stimulation. *Physiol Res*. 2021; 70(3): 461-468. doi: 10.33549/physiolres.934617

11. Liao J, Li X, Fan Y. Prevention strategies of postoperative adhesion in soft tissues by applying biomaterials: Based on the mechanisms of occurrence and development of adhe-

sions. *Bioact Mater*. 2023; 26: 387-412. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.02.026

12. Lewik G, Lewik G, Müller LS, von Glinski A, Schulte TL, Lange T. Postoperative epidural fibrosis: Challenges and opportunities – a review. *Spine Surg Relat Res*. 2023; 8(2): 133-142. doi: 10.22603/ssrr.2023-0106

13. Zhang Y, Wei FL, Liu ZX, Zhou CP, Du MR, Quan J, et al. Comparison of posterior decompression techniques and conventional laminectomy for lumbar spinal stenosis. *Front Surg*. 2022; 9: 997973. doi: 10.3389/fsurg.2022.997973

14. Weigel R, Capelle H-H, Al-Afif S, Krauss JK. The dimensions of "failed back surgery syndrome": What is behind a label? *Acta Neurochir (Wien)*. 2021; 163(1): 245-250. doi: 10.1007/s00701-020-04548-7

15. Wang H, Sun W, Fu D, Shen Y, Chen YY, Wang LL. Update on biomaterials for prevention of epidural adhesion after lumbar laminectomy. *J Orthop Translat*. 2018; 13: 41-49. doi: 10.1016/j.jot.2018.02.001

16. Kheilnezhad B, Hadjizadeh A. A review: Progress in preventing tissue adhesions from a biomaterial perspective. *Biomater Sci*. 2021; 9(8): 2850-2873. doi: 10.1039/d0bm02023k

17. Bosscher HA, Heavner JE. Incidence and severity of epidural fibrosis after back surgery: An endoscopic study. *Pain Pract*. 2010; 10(1): 18-24. doi: 10.1111/j.1533-2500.2009.00311.x

18. Гольдберг О.А., Животенко А.П., Самойлова Л.Г., Сороковиков В.А., Шурыгина И.А. Изменение формы дурального мешка на модели ламинэктомии на разных сроках репарационного процесса в эксперименте. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 259-264. [Goldberg OA, Zhivotenko AP, Samoilova LG, Sorokovikov VA, Shurygina IA. Change of the shape of the dural sac in the laminectomy model at different stages of the reparation in the experiment. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 259-264. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.34

19. LaRocca H, Macnab I. The laminectomy membrane. Studies in its evolution, characteristics, effects and prophylaxis in dogs. *J Bone Joint Surg Br*. 1974; 56B(3): 545-550.

20. He Y, Revel M, Loty B. A quantitative model of postlaminectomy scar formation. Effects of a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Spine (Phila Pa 1976)*. 1995; 20(5): 557-580. doi: 10.1097/00007632-199503010-00010

21. Sae-Jung S, Jirarattanaphochai K, Sumananont C, Wittayapairoj K, Sukhonthamarn K. Interrater reliability of the postoperative epidural fibrosis classification: A histopathologic study in the rat model. *Asian Spine J*. 2015; 9(4): 587-594. doi: 10.4184/asj.2015.9.4.587

22. Шурыгина И.А., Животенко А.П., Шурыгин М.Г., Гольдберг О.А., Сороковиков В.А. *Фармацевтическая композиция для профилактики эпидурального фиброза и способ её применения*. Патент 2796371, Рос. Федерация; МПК: A61K 31/787, A61K 47/38, A61K 47/58, A61P 41/00. Заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». № 2021113253; заявл. 06.05.2021; опубл. 22.05.2023. 2023; (15). [Shurygina IA, Zhivotenko AP, Shurygin MG, Goldberg OA, Sorokovikov VA. *Pharmaceutical composition for the prevention of epidural fibrosis and a method for its use*. Patent 2796371, Russian Federation; 2023; (15). (In Russ.)].

23. Gierthmuehlen M, Kaminsky J. Microsurgical approach to spinal canal in rats. In: Janowski M. (eds) *Experimental neurosurgery in animal models. Neuromethods*. New York, NY: Humana Press, 2016; 116. doi: 10.1007/978-1-4939-3730-1_9

24. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. *Способ приготовления препарата костной ткани и набор для его осуществления*. Патент 2500104 Рос. Федерация; МПК: A01N1/02 (2006.01); G01N1/28 (2006.01). Заявитель и патентообладатель государственное бюджетное учреждение «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. № 2012108301/13; заявл. 05.03.2012; опубл. 10.12.2013. 2013; (34). [Shurygina IA, Shurygin MG. *Method for preparing a bone tissue preparation and a kit for its implementation*. Patent 2500104 Russian Federation. 2013; (34). (In Russ.)].

Сведения об авторах

Животенко Александр Петрович – младший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sivotenko1976@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4032-8575

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: irinashurygina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3980-050X

Шурыгин Михаил Геннадьевич – доктор медицинских наук, заведующий научно-лабораторным отделом, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: mshurygin@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-5921-0318

Гольдберг Олег Аронович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: goldberg.ol@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-1040-284X

Ларионов Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующий научно-клиническим отделом нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: snlar@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9189-3323

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: vasorokovikov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9008-6383

Information about the authors

Aleksandr P. Zhivotenko – Research Officer at the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sivotenko1976@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-4032-8575

Irina A. Shurygina – Dr. Sc. (Med.), Professor of the RAS, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: irinashurygina@gmail. com, https://orcid.org/0000-0003-3980-050X

Mikhail G. Shurygin – Dr. Sc. (Med.), Head of the Scientific and Laboratory Department, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: mshurygin@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-5921-031

Oleg A. Goldberg – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: goldberg.ol@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-1040-284X
Sergey N. Larionov – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer, Head of the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: snlar@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9189-3323
Vladimir A. Sorokovikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9008-6383

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ
EPIDEMIOLOGY

ИКСОДОВЫЕ КЛЕЩИ КАК ПЕРЕНОСЧИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАБЕЗИОЗОВ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ В ПРИБАЙКАЛЬЕ

Сунцова О.В. [1],
Рар В.А. [2],
Мельцов И.В. [3],
Лисак О.В. [1],
Дорощенко Е.К. [1],
Козлова И.В. [1]

[1] ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)
[2] ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8, Россия)
[3] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского» (664038, Иркутский район, пос. Молодёжный, 1/1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сунцова Ольга Владимировна,
e-mail: Olga_syntsova@list.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Пироплазмозы (бабезиозы и тейлериозы) – это группа природно-очаговых инфекционных заболеваний человека и животных, вызываемых внутриэритроцитарными паразитами, которые передаются преимущественно иксодовыми клещами. В Прибайкалье, несмотря на широкое распространение очагов бабезиоза и тейлериоза, информация о переносчиках этих заболеваний фрагментарна.*

Цель исследования. *Выявление переносчиков возбудителей бабезиоза человека и животных, изучение тропизма различных видов бабезий к иксодовым клещам, распространённым в Прибайкалье.*

Материалы и методы. *На наличие ДНК Babesia spp./Theileria spp. исследовано 3239 экземпляров I. persulcatus, 1795 экземпляров D. nuttalli и 729 экземпляров H. concinna, собранных в природных стациях Прибайкалья из 19 районов Иркутской области и 6 районов Республики Бурятия, а также 5 экземпляров D. nuttalli, снятых с лошадей. Для детекции и типирования бабезий и тейлерий использована гнездовая двухраундовая полимеразная цепная реакция с родо- и видоспецифичными праймерами из области гена 18S рРНК. Для изучения генетического разнообразия выявленных возбудителей проводилось выборочное секвенирование образцов.*

Результаты. *ДНК Babesia spp. выявлена в трёх видах иксодовых клещей на территории Иркутской области и в одном – в Республике Бурятия. В клещах I. persulcatus обнаружены: B. microti «US»-type, B. venatorum, B. crassa-like и уникальная Babesia sp. Irk-Ip655. В клещах H. concinna выявлена ДНК B. crassa-like, B. motasi-like и Babesia spp. В клещах D. nuttalli обнаружена ДНК Babesia spp. и T. equi.*

Заключение. *На территории Прибайкалья выявлены переносчики возбудителей бабезиоза как человека, так и животных. Установлен тропизм B. microti «US»-type и B. venatorum в отношении клещей I. persulcatus. Выявление специфических связей между другими видами бабезий и тейлерий и клещами-переносчиками на территории Прибайкалья будет продолжено.*

Ключевые слова: *бабезии, тейлерии, иксодовые клещи, тропизм, видовое разнообразие*

Статья поступила: 17.10.2024
Статья принята: 15.11.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Сунцова О.В., Рар В.А., Мельцов И.В., Лисак О.В., Дорощенко Е.К., Козлова И.В. Иксодовые клещи как переносчики возбудителей бабезиозов человека и животных в Прибайкалье. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 249-257. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.25

IXODES TICKS AS CARRIERS OF HUMAN AND ANIMAL BABESIOSIS AGENTS IN THE BAIKAL REGION

Suntsova O.V. [1],
Rar V.A. [2],
Meltsov I.V. [3],
Lisak O.V. [1],
Doroshchenko E.K. [1],
Kozlova I.V. [1]

[1] Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[2] Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS (Akademika Lavrentyeva Ave. 8, Novosibirsk 630090, Russian Federation)
[3] Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky (Molodezhny settlement 1/1, Irkutsk district 664038, Russian Federation)

Corresponding author:
Olga V. Suntsova,
e-mail: Olga_syntsova@list.ru

ABSTRACT

Background. *Piroplasmosis (babesiosis and theileriosis) is a group of natural focal infectious diseases of humans and animals caused by intraerythrocytic parasites transmitted predominantly by ixodid ticks. In the Baikal region, despite the widespread foci of babesiosis and theileriosis, the data about these pathogen vectors is fragmentary.*

The aim. *To identify human and animal babesiosis vectors, study various Babesia spp. tropism to ixodid ticks common in the Baikal region.*

Materials and methods. *A total of 3,239 specimens of I. persulcatus, 1,795 specimens of D. nuttalli and 729 specimens of H. concinna ticks collected in natural habitats of the Baikal region from 19 districts of the Irkutsk region and six districts of the Republic of Buryatia, as well as 5 specimens of D. nuttalli ticks removed from horses were examined for the presence of Babesia spp./Theileria spp. DNA. For detection and typing of Babesia and Theileria, a nested PCR with genus- and species-specific primers corresponding to 18S rRNA gene region was used. Selective sequencing of samples was performed to study the genetic diversity of the identified pathogens.*

Results. *Babesia spp. DNA was detected in three species of ixodid ticks in Irkutsk region and in one species in the Republic of Buryatia. In I. persulcatus ticks B. microti US-type, B. venatorum, B. crassa-like and a unique Babesia sp. Irk-Ip655 were found. DNAs of B. crassa-like, B. motasi-like and Babesia spp. were detected in H. concinna ticks. DNAs of Babesia spp. And T. equi were found in D. nuttalli ticks.*

Conclusion. *Vectors of both human and animal babesiosis pathogens were detected in the Baikal region. Tropism of B. microti US-type and B. venatorum in relation to I. persulcatus ticks was established. The establishment of specific relations between other species of Babesia and Theileria and vector ticks in the Baikal region will be continued.*

Key words: *Babesia, Theileria, ixodid ticks, tropism, species diversity*

Received: 17.10.2024
Accepted: 15.11.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Suntsova O.V., Rar V.A., Meltsov I.V., Lisak O.V., Doroshchenko E.K., Kozlova I.V. Ixodes ticks as carriers of human and animal babesiosis agents in the Baikal region. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 249-257. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.25

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы во всём мире наблюдается значительный рост числа зарегистрированных случаев заболеваний, возбудители которых переносятся клещами, а также количества выявленных важных с медицинской и ветеринарной точки зрения патогенов, передаваемых этими переносчиками. Одними из наиболее распространённых паразитов крови являются бабезии и тейлерии. Они уступают пальму первенства только трипаносомам и имеют значительное экономическое, медицинское и ветеринарное значение [1].

Пироплазмозы (бабезиозы и тейлериозы) – это группа природно-очаговых инфекционных заболеваний, вызываемых внутриэритроцитарными паразитами, которые передаются преимущественно иксодовыми клещами.

Возбудителями этих заболеваний являются простейшие, относящиеся к отряду Piroplasmida, типу Apicomplexa. Они входят в состав двух семейств – *Babesiidae* и *Theileriidae*, включающих роды *Babesia*, *Theileria* и *Cytauxzoon*.

Известно более 100 видов бабезий, инфицирующих позвоночных во всём мире, при этом некоторые из них способны заражать широкий спектр млекопитающих, тогда как другие являются специфичными для хозяина. Клинические формы бабезиоза крупного рогатого скота (КРС) в тропиках и субтропиках в основном вызываются *B. bovis* и *B. bigemina* [2], а в Европе – *B. divergens* [3]. Возбудителями бабезиоза мелких жвачных являются *B. ovis*, *B. motasi*, *B. crassa.* Несколько видов *Babesia* (например, *B. canis*, *B. rossi*, *B. vogeli*, *B. gibsoni*, *B. conradae* и *B. vulpes*) могут вызывать серьёзные заболевания у собак [4, 5]. *B. microti* является патогеном мелких млекопитающих, главным образом грызунов.

Значительный ветеринарный и экономический ущерб коневодству всего мира наносит пироплазмоз лошадей. Он является болезнью, подлежащей обязательной регистрации Всемирной организацией здравоохранения животных (МЭБ, Международное эпизоотическое бюро) [6]. Возбудителями пироплазмоза (бабезиоза и тейлериоза) лошадей являются *T. equi* и *B. caballi*.

Babesia microti является преобладающим видом бабезий, вызывающим заболевания у людей; этот патоген имеет широкое распространение, однако большинство случаев заболеваний отмечено в США. В Европе бабезиозы человека преимущественно связаны с *B. divergens*. Заболевания людей, вызванные *B. venatorum*, регистрируются в Европе и Китае, *B. duncani* – в США. Сообщения о выявлении *B. microti* у клещей [7] и людей в Германии и Польше [8], *B. divergens* – в Соединённых Штатах [9] ставят под сомнение надёжность этих чётких географических закономерностей. В настоящее время ситуация осложняется ещё и тем, что роль в патологии человека стали приобретать возбудители, которые ранее считались исключительно зоонозными. Например, первый случай бабезиоза человека, вызванный *B. motasi*, был зарегистрирован в Корее в 2005 г. [10]. В Китае было зафиксировано 58 случаев бабезиоза человека, обусловленных *Babesia crassa-like*. Случаи инфекции, этиологически связанные с *Babesia crassa-like*, были зафиксированы у спленэктомированных пациентов в Европе (в Словении [11] и Франции [12]). Хотя бабезиоз у человека, как правило, протекает бессимптомно или в среднетяжёлой форме, увеличение риска развития летального исхода, связанного со старением организма, операциями, сопровождающимися спленэктомией, ВИЧ-инфекцией и злокачественными новообразованиями, свидетельствует о необходимости привлечения всё большего внимания к этим новым зоонозным инфекциям [13].

Известно, что переносчиками бабезий являются клещи семейства Ixodidae. Эколого-эпидемиологические исследования подтвердили специфическую связь между *B. microti* и *Ixodes ricinus*, *I. persulcatus* и *I. scapularis*, а также между *B. canis* и *Dermacentor reticulatus*. Один вид клещей может выступать в качестве специфического переносчика для нескольких видов бабезий. Например, *I. ricinus* уже указан в качестве предполагаемого переносчика как минимум для девяти видов бабезий, *I. persulcatus* – для пяти, а *D. reticulatus* – для шести видов [2]. Однако до сих пор основные переносчики для ряда видов бабезий, в том числе имеющих важное медицинское и ветеринарное значение, не идентифицированы. В Прибайкалье, несмотря на широкое распространение очагов бабезиоза и тейлериоза, информация о переносчиках этих заболеваний либо полностью отсутствует, либо фрагментарна.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявление переносчиков возбудителей бабезиоза человека и животных, изучение тропизма различных видов бабезий к иксодовым клещам, распространённым в Прибайкалье.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

На наличие ДНК *Babesia* spp./*Theileria* spp. исследовано 3239 экземпляров клещей *I. persulcatus*, 1795 экз. клещей *D. nuttalli* и 729 экз. клещей *H. concinna*, собранных в природных стациях Прибайкалья из 19 районов Иркутской области и 6 районов Республики Бурятия. Сбор клещей проводили в период с 2010 по 2023 г. Также исследовано 5 экз. клещей *D. nuttalli,* снятых с лошадей.

Методы

Суммарные нуклеиновые кислоты экстрагировали из образцов с помощью набора «Рибо-преп» (Амплипрайм, Москва). Выделенные образцы ДНК были исследованы методом гнездовой двухраундовой полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием праймеров из области гена 18S рРНК для детекции ДНК бабезий [14, 15]. Типирование образцов, содержащих ДНК пироплазм, осуществлялось при проведении второго раунда ПЦР в присутствии видоспецифичных праймеровBcab-F (gatggcgacttaaaccctcg)/Bcab-R

(aaaagggaagctagttagcag) и Teq-F (gggaatttaaacccttccag)/ Teq-R (tccttgcgatttatgaccgc) соответственно. Полученные продукты ПЦР очищали на колонках GFX Columns (Amersham Biosciences, США). Секвенирующие реакции проводили с использованием набора реагентов Big Dye Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems Inc., США). Продукты секвенирующих реакций анализировали на ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Для сравнения определённых нуклеотидных последовательностей с известными последовательностями использовали программу BLASTN [16]. Филогенетический анализ выполняли методом минимальной эволюции (ME, minimum evolution) модель Tamura – Nei в пакете программ MEGA 7.0 [17]. Для анализа статистической значимости проведён bootstrap-анализ (1000 повторов). Определённые в ходе исследования нуклеотидные последовательности фрагмента гена 18S рРНК *T. equi* и *Babesia* spp. зарегистрированы в базе данных GenBank под номерами KJ486556–KJ486557, KJ486562–KJ486563, KJ486565–KJ486567, KJ486569, KJ486572.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении первых рекогносцировочных исследований, направленных на выявление природных очагов бабезиоза на территории Иркутской области, ДНК бабезий была обнаружена в иксодовых клещах двух видов, собранных в шести районах. В настоящей работе мы дополнили полученные ранее данные, существенно увеличив выборку и включив в неё иксодовых клещей не только из Иркутской области, но и из Республики Бурятия.

На территории Иркутской области ДНК бабезий выявлена во всех трёх видах исследованных иксодовых клещей (табл. 1). Средняя инфицированность клещей составила: *D. nuttalli* – 0,3 %, *I. persulcatus* – 1,6 %, *H. concinna* – 2,6 %. Из 19 обследованных нами районов области ДНК *Babesia* spp. детектирована в клещах из четырёх районов: Иркутского, Усольского, Шелеховского и Эхирит-Булагатского. Причём в Шелеховском и Иркутском районах ДНК бабезий была выявлена в таёжных клещах, инфицированность которых составила 0,5 % и 0,9 % соответственно. В Усольском районе были исследованы клещи трёх видов, однако ДНК *Babesia* spp. обнаружена только в клещах *H. concinna*, инфицированность которых составила 0,7 %.

В Эхирит-Булагатском районе бабезии выявлены во всех трёх видах исследованных иксодовых клещей. При этом инфицированность *D. nuttalli* составила 0,8 %, *I. persulcatus* – 3,4 %, *H. concinna* – 3,9 %.

В Республике Бурятия в трёх из шести обследованных районов (Еравнинском, Кабанском, Селенгинском) в таёжных клещах была детектирована ДНК *Babesia* spp. Необходимо отметить, что это первое выявление *Babesia* spp. на территории Республики Бурятия. Инфицированность таёжных клещей бабезиями варьировала в широких пределах – от 0,9 % в Кабанском до 25 % в Селенгинском; такие различия могут быть обусловлены малочисленностью и неравномерностью исследованной нами выборки переносчиков.

Для уточнения видового состава бабезий, инфицирующих иксодовых клещей на территории Прибайкалья были секвенированы фрагменты гена 18S рРНК *Babesia* spp. 20 произвольно выбранных положительных образцов клещей. Результаты этих исследований представлены в таблице 2.

В клещах *I. persulcatus* на территории Иркутской области выявлены: *B. microti* «US»-type, *B. venatorum*, *B. crassa-like* и уникальная *Babesia* sp. Irk-Ip655, относящаяся к кластеру *B. venatorum*, но существенно отличающаяся от европейского варианта *B. venatorum* (сходство 94,7 %). В клещах *H. concinna* были обнаружены *B. crassa-like* и *B. motasi-like*.

На территории Республики Бурятия в таёжных клещах выявлены *B. microti* «US»-type и *B. venatorum*.

B. microti «US»-type и *B. venatorum* встречались в клещах *I. persulcatus* как в Иркутской области (Иркутский район), так и в Республике Бурятия (Селенгинский район). Ранее в Эхирит-Булагатском районе Иркутской области *B. microti* была выявлена в образцах ДНК от шести полёвок-экономок. Отсутствие *B. microti* в исследованной выборке клещей I. persulcatus из Эхирит-Булагатского района и присутствие её в мышевидных грызунах в зоне ареала этих клещей, по-видимому, свидетельствует о недостаточном обследовании этого района и необходимости продолжения мониторинга.

Все образцы *B. microti*, выявленные у грызунов и клещей *I. persulcatus* в Прибайкалье, были идентичны между собой, относились к патогенной для людей генетической группе *B. microti* «US»-type и соответствовали геновариванту, ранее обнаруженному в клещах *I. persulcatus* и у грызунов в пределах ареала *таёжного клеща* в различных регионах России. От циркулирующих в Европе геновариантов бабезий образцы *B. microti* «US»-type из Прибайкалья отличались единичными нуклеотидными заменами. Выявленный в *I. persulcatus* из Прибайкалья геновариант *B. venatorum* соответствовал варианту, обнаруженному в таёжных клещах в Китае и в других регионах России, но также отличался единичными заменами от европейских изолятов.

B. crassa-like была выявлена в двух районах Иркутской области (Иркутский, Эхирит-Булагатский), причём как в клещах *I. persulcatus*, так и в клещах *H. concinna* (табл. 2). *B. motasi-like* была обнаружена только в клещах *H. concinna* и только на территории Эхирит-Булагатского района Иркутской области [18]. Два вышеперечисленных инфекционных агента долгое время считались возбудителями бабезиоза овец и коз, *B. crassa* – в Иране и Турции [19], а *B. motasi* – в различных странах Европы, Африки и Азии, включая Китай [20]. *B. crassa-like* была обнаружена у клещей *I. persulcatus* и *H. concinna* в провинции Хэйльнцзян Китая [21]. Нуклеотидная последовательность *Babesia* sp., выявленная в образце от клеща *H. concinna*, показала наибольшее сходство (98,6 %) с последовательностью *B. motasi* от овцы из Нидерландов (номер доступа GenBank AY260180). Нуклеотидные последовательности *B. crassa*, выявленные в клещах *H.* concinna, проявляли наибольшее сходство (97,1–97,8 %) с последовательностями *B. crassa*, выделенной от овцы в Иране (номер доступа GenBank AY260176). Вы-

ТАБЛИЦА 1

ВЫЯВЛЕНИЕ ДНК *BABESIA* SPP. В ИКСОДОВЫХ КЛЕЩАХ НА ТЕРРИТОРИИ ПРИБАЙКАЛЬЯ

TABLE 1

DETECTION OF *BABESIA* SPP. DNA IN IXODID TICKS IN THE BAIKAL REGION

Район исследования	Вид клеща	Всего исследовано	Из них положительных, *n* (%)
	Иркутская область		
Аларский	*D. nuttalli*	107	–
Балаганский	*D. nuttalli*	27	–
Баяндаевский	*I. persulcatus*	6	–
	D. nuttalli	185	–
Бодайбинский	*I. persulcatus*	36	–
Боханский	*D. nuttalli*	182	–
Заларинский	*D. nuttalli*	95	–
Иркутский	*I. persulcatus*	1456	13 (0,9)
Качугский	*D. nuttalli*	20	–
Нижне-Илимский	*I. persulcatus*	26	–
Нукутский	*D. nuttalli*	77	–
Ольхонский	*D. nuttalli*	56	–
Осинский	*D. nuttalli*	57	–
Слюдянский	*I. persulcatus*	48	–
Усольский	*D. nuttalli*	16	–
	H. concinna	270	2 (0,7)
	I. persulcatus	90	–
Усть-Илимский	*I. persulcatus*	43	–
Усть-Удинский	*D. nuttalli*	248	–
Черемховский	*D. nuttalli*	75	–
	H. concinna	16	–
	I. persulcatus	13	–
Шелеховский	*I. persulcatus*	196	1 (0,5)
Эхирит-Булагатский	*D. nuttalli*	591	5 (0,8)
	H. concinna	431	17 (3,9)
	I. persulcatus	817	28 (3,4)
Итого по Иркутской области	***D. nuttalli***	**1736**	**5 (0,3)**
	H. concinna	**717**	**19 (2,6)**
	I. persulcatus	**2731**	**43 (1,6)**
	Республика Бурятия		
Баргузинский	*I. persulcatus*	84	–
Бичурский	*I. persulcatus*	96	–
Еравнинский	*I. persulcatus*	70	2 (2,9)
Кабанский	*I. persulcatus*	234	2 (0,9)
Селенгинский	*I. persulcatus*	12	3 (25)
Тункинский	*D. nuttalli*	59	–
	H. concinna	4	–
	I. persulcatus	12	–
Итого по Республике Бурятия	***D. nuttalli***	**59**	**–**
	H. concinna	**4**	**–**
	I. persulcatus	**508**	**7 (1,4)**

ТАБЛИЦА 2

ВИДОВОЙ СОСТАВ БАБЕЗИЙ, ВЫЯВЛЕННЫХ В ИКСОДОВЫХ КЛЕЩАХ НА ТЕРРИТОРИИ ПРИБАЙКАЛЬЯ МЕТОДОМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ

TABLE 2

SPECIES COMPOSITION OF *BABESIA* IDENTIFIED IN IXODID TICKS IN THE BAIKAL REGION USING POSITIVE SAMPLES SEQUENCING METHOD

Район сбора клещей	Вид клеща	Количество секвенированных образцов	Вид бабезий
Иркутская область			
Иркутский	*I. persulcatus*	1	*B. crassa-like*
	I. persulcatus	4	*B. microti* «US»-type
	I. persulcatus	3	*B. venatorum*
Шелеховский	*I. persulcatus*	1	*Babesia* sp. Irk-Ip655
Эхирит-Булагатский	*I. persulcatus*	3	*B. crassa-like*
	H. concinna	4	*B. crassa-like*
	H. concinna	1	*B. motasi-like*
Республика Бурятия			
Селенгинский	*I. persulcatus*	2	*B. microti* «US»-type
	I. persulcatus	1	*B. venatorum*

ТАБЛИЦА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ТИПИРОВАНИЯ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ КЛЕЩЕЙ МЕТОДОМ ВИДОСПЕЦИФИЧНОЙ ПЦР НА НАЛИЧИЕ ДНК *BABESIA* SPP.

TABLE 3

RESULTS OF POSITIVE TICK SAMPLES TYPING BY SPECIES-SPECIFIC PCR FOR THE PRESENCE OF *BABESIA* SPP. DNA

Район исследования	Вид клеща	Количество положительных образцов клещей на *Babesia* spp.	*B. caballi*	*T. equi*
Эхирит-Булагатский	*D. nuttalli*	5	4	-
	H. concinna	5	1	-
Усольский	*H. concinna*	2	1	-

зывает интерес тот факт, что при исследовании крови 579 овец и 25 коз, в том числе и из Эхирит-Булагатского района Иркутской области, где в клещах были обнаружены *B. crassa-like* и *B. motasi-like*, ДНК бабезий в образцах крови этих животных не выявлена [22].

Ранее в ходе проведённых исследований установлено широкое распространение очагов пироплазмоза лошадей на территории Иркутской области. В образцах крови лошадей была выявлена ДНК двух возбудителей пироплазмоза – *Theileria equi* и *Babesia caballi*. В настоящее время на основании изучения гена 18S рРНК в мире идентифицировано 5 генотипов *T. equi* (A–E) и 2 генотипа *B. caballi* (A–B) [23]. Секвенирование фрагмента гена 18S рРНК 119 произвольно выбранных нами образцов *T. equi* и 22 образцов *B. caballi* показало, что образцы *T. equi* из Иркутской области принадлежат к двум генотипам – A и E, а *B. caballi* – к генотипу A. В 6 % случаев наблюдалось микстинфицирование лошадей двумя патогенами [24]. Однако в рамках проведённого нами исследования вопрос об основных переносчиках *T. equi* и *B. caballi* остался открытым.

Учитывая тот факт, что на территории близлежащих к Восточной Сибири азиатских стран *T. equi* была обнаружена в клещах *D. nuttalli* в Китае и в клещах рода Haemaphysalis в Монголии, а *B. caballi* выявлена в клещах *D. nuttalli*, в своей дальнейшей работе мы исследовали переносчиков этих двух видов. С помощью видоспецифичной ПЦР нами типировано 12 положительных образцов клещей *D. nuttalli* и *H. concinna* (табл. 3).

В четырёх из пяти исследованных образцов клещей *D. nuttalli* и в одном из пяти клещей *H. concinna* из Эхирит-Булагатского района обнаружена ДНК *B.* caballi. В Усольском районе один из двух положительных образцов клещей *H. concinna* содержал ДНК *B.* caballi. ДНК *T. equi* в данных клещах не выявлена.

Также исследовано пять экземпляров клещей *D. nuttalli*, снятых непосредственно с лошадей. В одном из них выявлена ДНК *T. equi* (геновариант E). Нуклеотидные последовательности этого образца были идентичны нуклеотидным последовательностям *T. equi* группы E, ранее детектированной в образцах крови лошадей из Иркутской области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведённых исследований на территории Прибайкалья установлено существование природных очагов пироплазмозов человека и животных. В Иркутской области ДНК *Babesia* spp. выявлена в трёх видах иксодовых клещей. В данной части Прибайкалья в клещах *I. persulcatus* обнаружены: *B. microti* «US»-type, *B. venatorum* и *B. crassa-like* и уникальная *Babesia* sp. Irk-Ip655 (рис. 1). В клещах *H. concinna* выявлена ДНК *B. crassa-like* и *B. motasi-like*.

В Республике Бурятия ДНК бабезий детектирована только в таёжных клещах, что, по всей видимости, объясняется низкой представленностью двух других видов клещей в исследуемой выборке. В этой части Прибайкалья в клещах *I. persulcatus* выявлены *B. microti* «US»-type и *B. venatorum* (рис. 1).

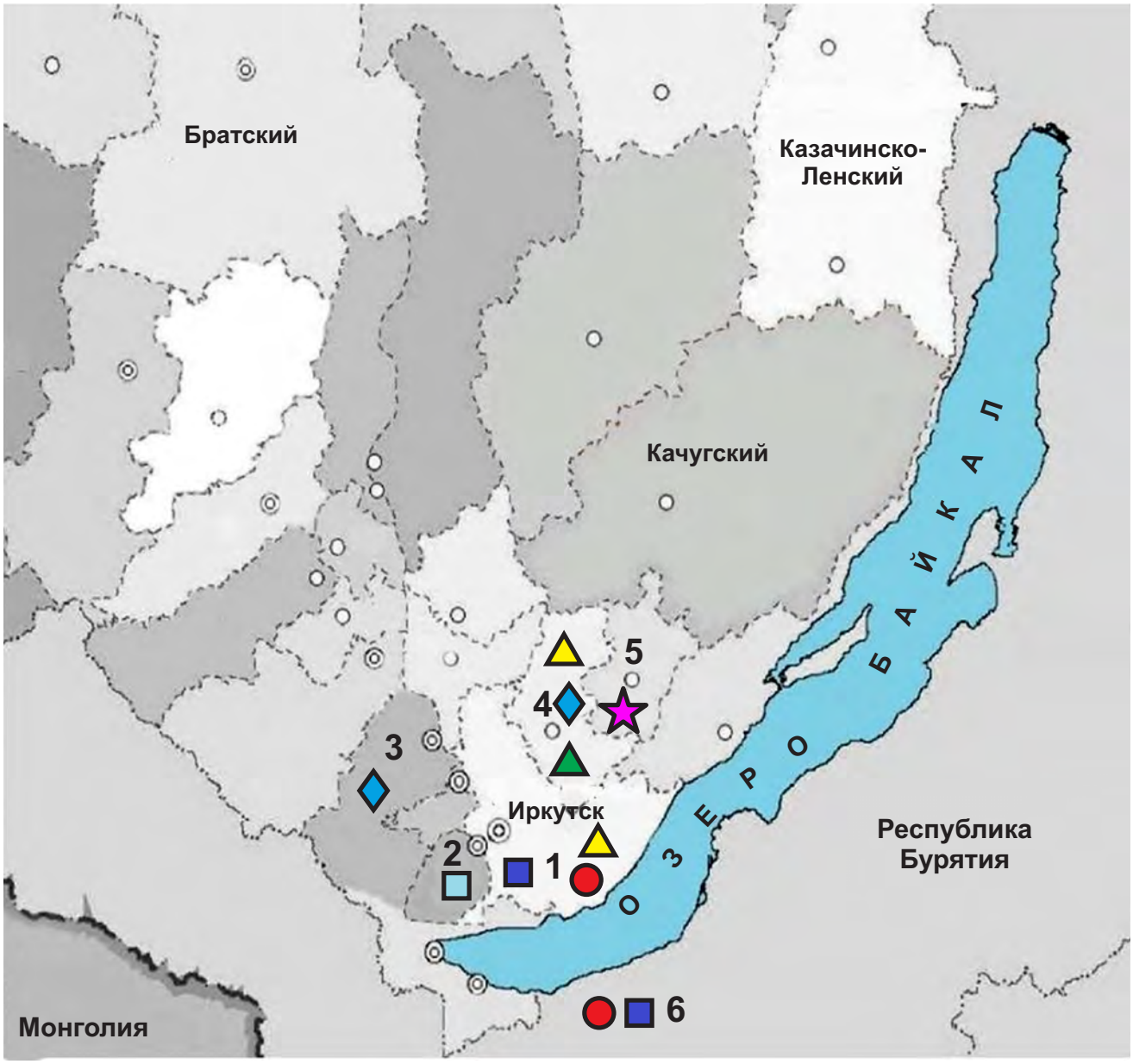


РИС. 1.
*Места выявления Babesia spp. в иксодовых клещах на территории Прибайкалья. Цифрами обозначены районы выявления Babesia spp. Иркутской области (***1** *– Иркутский;* **2** *– Шелеховский;* **3** *– Усольский;* **4** *– Эхирит-Булагатский;* **5** *– Баяндаевский) и Республики Бурятия (***6** *– Селенгинский район).* ● *– B. microti «US»-type;* ■ *– B. venatorum;* ■ *– уникальная Babesia sp. Irk-Ip655;* ▲ *– B. crassa-like;* ▲ *– B. motasi-like;* ◆ *– B. caballi;* ★ *– T. equi*

FIG. 1.
*Locations of Babesia spp. detection in ixodid ticks in the Baikal region. Numbers indicate districts of Babesia spp. detection in the Irkutsk region (***1** *– Irkutsk district;* **2** *– Shelekhovsky district;* **3** *– Usolsky district;* **4** *– Ekhirit-Bulagatsky district;* **5** *– Bayandaevsky district) and in the Republic of Buryatia (***6** *– Selenginsky district).* ● *– B. microti «US»-type;* ■ *– B. venatorum;* ■ *– unique Babesia sp. Irk-Ip655;* ▲ *– B. crassa-like;* ▲ *– B. motasi-like;* ◆ *– B. caballi;* ★ *– T. equi*

Обнаружение *B. microti* «US»-type и *B. venatorum* только в *I. persulcatus* свидетельствует в пользу тропизма этих патогенов к таёжным клещам в Прибайкалье.

Несмотря на схожесть генетических вариантов *B. microti* «US»-type из Прибайкалья с высокопатогенными штаммами *B. microti* из США, а *B. venatorum* – с *аналогичными изолятами из Европы,* на сегодняшний день в азиатской части России официально не зарегистрировано ни одного случая бабезиоза человека. В связи с этим вопрос о степени патогенности циркулирующих в Прибайкалье генетических вариантов бабезий на сегодняшний день остаётся открытым.

Интересно, что, несмотря на выявление *B. crassa-like* и *B. motasi-like* в иксодовых клещах, обнаружить ДНК этих возбудителей в крови овец и коз не удалось. Учитывая зарегистрированные в ряде стран Европы и Азии случаи бабезиоза человека, ассоциированные с этими патогенами, мониторинг за этими возбудителями на территории Прибайкалья будет продолжен.

ДНК *B. caballi*, являющейся этиологическим агентом пироплазмоза лошадей, обнаружена в двух видах иксодовых клещей (*D. nuttalli*, *H. concinna*). В присосавшемся клеще *D. nuttalli*, снятом с лошади, обнаружена ДНК *T. equi*, которая относится к известным возбудителям пироплазмоза непарнокопытных. Нуклеотидные последовательности этого образца оказались идентичными нуклеотидным последовательностям *T. equi* группы E, ранее детектированной в образцах крови лошадей из Иркутской области. По данным ряда авторов [25], обнаружение ДНК бабезий в напитавшихся клещах, собранных с человека или животных, свидетельствует только о приобретении её от инфицированного хозяина, но не позволяет сделать однозначное утверждение о компетентности этих переносчиков в передаче патогена. Однако идентичность нуклеотидных последовательностей *T. equi*, выявленных в крови лошадей и в клеще *D. nuttalli*, а также известные данные о выявлении *T. equi* в клещах этого вида в Монголии и Китае, косвенно свидетельствуют в пользу возможного участия этих клещей в передаче возбудителя тейлериоза лошадей на территории Иркутской области.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания № 1021060107125-0, а также при финансовой поддержке проекта Государственного задания ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (№ 121031300043-8).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Vannier EG, Diuk-Wasser MA, Ben Mamoun C, Krause PJ. Babesiosis. *Infect Dis Clin North Am.* 2015; 29: 357-370. doi: 10.1016/j.idc.2015.02.008

2. Onyiche TE, Răileanu C, Fischer S, Silaghi C. Global distribution of *Babesia* species in questing ticks: A systematic review and meta-analysis based on published literature. *Pathogens.* 2021; 10: 230. doi: 10.3390/pathogens10020230

3. Hildebrandt A, Zintl A, Montero E, Hunfeld KP, Gray J. Human babesiosis in Europe. *Pathogens.* 2021; 10: 1165. doi: 10.3390/pathogens10091165

4. Birkenheuer AJ, Buch J, Beall MJ, Braff J, Chandrashekar R. Global distribution of canine *Babesia* species identified by a commercial diagnostic laboratory. *Vet Parasitol Reg Stud Rep.* 2020; 22: 100471. doi: 10.1016/j.vprsr.2020.100471

5. Penzhorn BL. Don't let sleeping dogs lie: Unravelling the identity and taxonomy of *Babesia canis*, *Babesia rossi* and *Babesia vogeli*. *Parasit Vectors*. 2020; 13: 184. doi: 10.1186/s13071-020-04062-w

6. *Всемирная организация по охране здоровья животных* (МЭБ). [*World Organisation for Animal Health*]. URL: https://www.oie.int [date of access: 10.10.2024].

7. Eshoo MW, Crowder CD, Carolan HE, Rounds MA, Ecker DJ, Haag H, et al. Broad-range survey of tick-borne pathogens in Southern Germany reveals a high prevalence of Babesia microti and a diversity of other tick-borne pathogens. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2014; 14: 584. doi: 10.1089/vbz.2013.1498

8. Moniuszko-Malinowska A, Swiecicka I, Dunaj J, Zajkowska J, Czupryna P, Zambrowski G, et al. Infection with Babesia microti in humans with non-specific symptoms in North East Poland. *Infect Dis (Lond)*. 2016; 48: 537-543. doi: 10.3109/23744235.2016.1164339

9. Beattie JF, Michelson ML, Holman PJ. Acute babesiosis caused by Babesia divergens in a resident of Kentucky. *N Engl J Med.* 2002; 3(47): 697-698. doi: 10.1056/NEJM200208293470921

10. Hong SH, Kim SY, Song BG, Rho JR, Cho CR, Kim CN, et al. Detection and characterization of an emerging type of *Babesia* sp. similar to *Babesia motasi* for the first case of human babesiosis and ticks in Korea. *Emerg Microbes Infect.* 2019; 8: 869-878. doi: 10.1080/22221751.2019.1622997

11. Wilhelmsson P, Lövmar M, Krogfelt KA, Nielsen HV, Forsberg P, Lindgren PE. Clinical/serological outcome in humans bitten by *Babesia* species positive *Ixodes ricinus* ticks in Sweden and on the Åland Islands. *Ticks Tick Borne Dis*. 2020; 11: 101455. doi: 10.1016/j.ttbdis.2020.101455

12. Doderer-Lang C, Filisetti D, Badin J, Delale C, Clavier V, Brunet J, et al. *Babesia crassa-like* human infection indicating need for adapted PCR diagnosis of babesiosis, France. *Emerg Infect Dis*. 2022; (2): 449-452. doi: 10.3201/eid2802.211596

13. Kumar A, O'Bryan J, Krause PJ. The global emergence of human babesiosis. *Pathogens.* 2021; 10: 1447. doi: 10.3390/pathogens10111447

14. Рар В.А., Марченко В.А., Ефремова Е.А., Сунцова О.В., Лисак О.В., Тикунов А.Ю., и др. Идентификация и генетическая характеризация этиологического агента пироплазмидоза лошадей на территории Западной и Восточной Сибири. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2018; 22(2): 224-229. [Rar VA, Marchenko VA, Efremova EA, Suntsova OV, Lisak OV, Tikunov AYu, et al. Identification of the etiological agent of equine piroplasmosis in Western and Eastern Siberia. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018; 22(2): 224-229. (In Russ.)]. doi: 10.18699/VJ18.351

15. Рар В.А., Епихина Т.И., Ефремова Е.А., Марченко В.А., Сунцова О.В., Лисак О.В., и др. Молекулярно-генетический

анализ возбудителей анаплазмозов сельскохозяйственных животных на территории Западной и Восточной Сибири. *Acta biomedica scientifica*. 2015; 105(5): 83-87. [Rar VA, Yepikhina TI, Yefremova EA, Marchenko VA, Suntsova OV, Lisak OV, et al. Molecular genetic analysis of infection agents of farm animals anaplasmosis on the territory of Western and Eastern Siberia. *Acta biomedica scientifica*. 2015; 105(5): 83-87. (In Russ.)].

16. Standard Nucleotide BLAST. URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST [date of access: 10.10.2024].

17. MEGA 7.0. URL: http://www.megasoftware.net/manual.html [date of access: 10.10.2024].

18. Rar VA, Epikhina TI, Tikunova NV, Suntsova OV, Kozlova IV, Lisak OV, et al. Genetic variabilis of *Babesia* parasites in *Haemaphysalis* spp. and *Ixodes persulcatus* in the Baikal region and Far East of Russia. *Infection, Genetics and Evolution*. 2014; 28: 270-275. doi: 10.1016/j.meegid.2014.10.010

19. Schnittger L, Yin H, Gubbels MJ, Beyer D, Niemann S, Jongejan F, et al. Phylogeny of sheep and goat *Theileria* and *Babesia* parasites. *Parasitol Res*. 2003; 91: 398-406. doi: 10.1007/s00436-003-0979-2

20. Gou H, Guan G, Ma M, Liu A, Liu Z, Ren Q, et al. Phylogenetic analysis based on 28S rRNA of *Babesia* spp. In ruminants in China. *Exp Appl Acarol*. 2013; 59: 463-472. doi: 10.3347/kjp.2013.51.5.511

21. Jia N, Zheng YC, Jiang JF, Jiang RR, Jiang BG, Wei R, et al. Human babesiosis caused by a *Babesia crassa-like* pathogen: A case series. *Clin Infect Dis*. 2018; 67: 1110-1119. doi: 10.1093/cid/ciy212

22. Сунцова О.В., Рар В.А., Лисак О.В., Мельцов И.В., Дорощенко Е.К., Савинова Ю.С., и др. Эпизоотическая ситуация в отношении гемопаразитарных заболеваний сельскохозяйственных животных в Иркутской области. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2023; 15(4): 210-235. [Suntsova OV, Rar VA, Lisak OV, Meltsov IV, Doroshchenko EK, Savinova YuS, et al. Epizootic situation of hemoparasitic diseases of farm animals in Irkutsk region. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2023; 15(4): 210-235. (In Russ.)]. doi: 10.12731/2658-6649-2023-15-4-210-235

23. Tirosh-Levy S, Gottlieb Y, Fry LM, Knowles DP, Steinman A. Twenty years of equine piroplasmosis research: Global distribution, molecular diagnosis, and phylogeny. *Pathogens*. 2020; 8(9-11): 926. doi: 10.3390/pathogens9110926

24. Rar V, Marchenko V, Suntsova O, Epikhina T, Tikunov A, Meltsov I, et al. The first study of the prevalence and genetic diversity of *Theileria equi* and *Babesia caballi* in horses in Russia. *Parasitol Res*.2024; 123: 279. doi: 10.1007/s00436-024-08300-3

25. Bajer A, Dwużnik-Szarek D. The specificity of *Babesia* tick vector interactions: Recent advances and pitfalls in molecular and field studies. *Parasit Vectors*. 2021; 14-1: 507. doi: 10.1186/s13071-021-05019-3

Сведения об авторах

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

Рар Вера Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии, ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0002-5930-5306

Мельцов Иван Владимирович – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры специальных ветеринарных дисциплин, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А.А. Ежевского», e-mail: ivanmeltsov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8566-7004

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

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

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

Information about the authors

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

Vera A. Rar – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, e-mail: rarv@niboch.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0002-5930-5306

Ivan V. Meltsov – Cand. Sc. (Vet.), Associate Professor at the Department of Special Veterinary Disciplines, Irkutsk State Agrarian University named after A.A. Ezhevsky, e-mail: ivanmeltsov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8566-7004

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

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

Irina V. Kozlova – Dr. Sc. (Med.), Head of 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

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ
HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES

КО ДНЮ РОЖДЕНИЯ АКАДЕМИКА РАН ЛЮБОВИ ИЛЬИНИЧНЫ КОЛЕСНИКОВОЙ

ON THE BIRTHDAY OF THE MEMBER OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES LYUBOV KOLESNIKOVA



В декабре 2024 года научное сообщество отмечает день рождения выдающегося российского учёного, талантливого организатора здравоохранения и педагога, академика Российской академии наук (РАН), Заслуженного деятеля науки РФ, члена Бюро отделения медицинских наук РАН Любови Ильиничны Колесниковой.

Профессиональный путь Любови Ильиничны начался после окончания с отличием Новосибирского медицинского института и направления в Институт клинической и экспериментальной медицины в Новосибирске. Здесь Л.И. Колесникова прошла путь от младшего научного сотрудника до заведующей лабораторией, в которой работала вплоть до переезда в 1987 году, который стал поворотным моментом в её карьере. Любовь Ильинична вместе с супругом Сергеем Ивановичем была направлена в Иркутск для создания Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. В то время в городе работало всего два профессора по специальностям «педиатрия» и «акушерство и гинекология», и именно с приходом Л.И. Колесниковой в Иркутске началась системная работа по подготовке высококвалифицированных кадров в области охраны материнства и детства и общей патологии.

Область научных исследований Любови Ильиничны связана с одним из приоритетных направлений общей патологии – оценкой роли процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) в формировании адаптивных и дизадаптивных реакций организма в норме и при дизрегуляционных состояниях различного генеза. Л.И. Колесниковой разработан инновационный метод воздействия на заболевание и пациента, сущность которого заключается в строгой персонализации диагностической и лечебно-профилактической стратегии с учётом его этнической принадлежности. В связи с чем, благодаря Л.И. Колесниковой, успешно развивается новое направление общей патологии – этнически ориентированной медицины. Получены важные результаты, касающиеся формирования метаболических реакций у представителей коренных этносов Восточной Сибири (тофаларов, эвенков, сойотов, бурят). Молекулярно-генетические характеристики и характер течения заболеваний у представителей бурятского этноса, выявленные в ходе исследований, позволили отнести его к группе «относительной этнической нормы». Определены особенности течения сахарного диабета у лиц русского и бурятского этносов, на основании чего предложены способы прогнозирования течения и риска развития диабетических осложнений. Исследования Любови Ильиничны в области этнопедиатрии существенно дополняют спектр молекулярно-генетических маркеров кардиометаболических нарушений при артериальной гипертензии и ожирения у детей и подростков, расширяют знания в плане течения метаболических процессов, в том числе с учетом микро-

биома. Также Л.И. Колесниковой получены важные результаты в области этнорепродуктологии, касающиеся основных механизмов репродуктивных расстройств. Л.И. Колесниковой получены новые фундаментальные результаты в области биомедицины возрастных гормондефицитных состояний, впервые основанные на междисциплинарном подходе на стыке разных областей науки – нейробиологии, метаболомики и современной сомнологии. Доказано, что гетерогенность возрастных изменений в континууме «сон – бодрствование» зависит от изменений хронобиологической и возрастной модуляции молекулярно-клеточных маркеров нарушений сна. Особое значение Л.И. Колесниковой отводится важному направлению персонализированной медицины – выявлению биомаркеров в качестве референтных точек для диагностики и терапии различных заболеваний. Проводится оценка вклада биохимических показателей (на основе параметров окислительного повреждения биосубстратов клетки, компонентов антиоксидантной защиты, системы нейроэндокринной регуляции, воспалительных реакций) в формирование дизрегуляционных состояний.

Многие разработки Любови Ильиничны запатентованы и находятся на различных стадиях внедрения – 41 патент и авторское свидетельство. Разработанные методы диагностики и лечения широко применяются в клинической практике.

Любовь Ильинична Колесникова является автором более 1160 научных работ, включая 50 монографий, число цитирований которых превышает 6400 раз.

Л.И. Колесникова является бессменным руководителем Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальностям «педиатрия», «акушерство и гинекология» и «патологическая физиология», в котором защищено более 600 высококвалифицированных кадров. Любовью Ильиничной подготовлены 34 доктора и 61 кандидат наук, работающих в России и за рубежом.

Л.И. Колесникова неоднократно получала гранты Президента России как руководитель ведущей научной школы России. Ученики академика продолжают развивать научные традиции школы, также получают гранты Президента России по поддержке ведущих научных школ и поддержке молодых российских учёных. Двое стали почётными профессорами РАН, один избран членом-корреспондентом РАН.

15 лет Любовь Ильинична Колесникова возглавляла Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, превратив его в ведущее научное учреждение Сибири и Дальнего Востока не только по проблемам общей патологии, но и по вопросам охраны материнства и детства. Научный центр имеет высокие наукометрические показатели, в клинике Центра активно внедряются результаты научных разработок.

Сегодня Любовь Ильинична продолжает активную научную деятельность в качестве научного руководителя Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, передавая свой богатый опыт молодому поколению учёных.

За многолетний плодотворный труд и заслуги в науке Любовь Ильинична награждена орденом Почёта, орденом Александра Невского, ведомственными и региональными наградами, удостоена звания «Заслуженный деятель науки РФ».

Коллектив Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека сердечно поздравляет Любовь Ильиничну с Днём рождения! Мы глубоко ценим Ваш вклад в развитие медицинской науки, Ваше научное наследие и преданность делу. Желаем Вам крепкого здоровья, неиссякаемой энергии и новых научных свершений на благо отечественной медицины!

Формат А4 (60х84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 24.12.2024.
Подписано в печать 27.12.2024, дата выхода в свет 28.12.2024.
Печ. л. 32,5. Усл. печ. л. 30,2. Уч. изд. л. 28,9. Зак. 053-24. 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


Distilled Water