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

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Том 10
№ 1
2025



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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Том 10
№ 1
2025

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)
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», 2025 г.
© Оригинал-макет РИО ИНЦХТ, 2025 г.

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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 10
N 1
2025

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)
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, 2025
© Compart perfomed by Publishing Department of ISCST, 2025

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА
DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА К № 1 (2025)

Рычкова
Любовь Владимировна

д.м.н., профессор,
член-корреспондент РАН

Уважаемые читатели!

Представляем вам первый номер журнала «Acta biomedica scientifica» в 2025 году. В эпоху бурного развития медицинской науки и практики наш журнал ставит перед собой задачу стать надёжным источником актуальной и достоверной информации для врачей, учёных, студентов и всех, кто интересуется достижениями в области медицины. Мы стремимся поддерживать высокий уровень профессионализма и научной обоснованности публикуемых материалов, а также обеспечивать широкий охват тем и проблем, актуальных для современного здравоохранения.

Особого внимания заслуживают статьи, посвящённые здоровью новорождённых. Авторы из Читы (Сущенко Р.А. и соавт.) в своей работе определили уровень маркеров остеолизиса (бета-CrossLaps) и остеогенеза (N-остеокальцин, VEGFR1) в сыворотке венозной крови у новорождённых с кефалогематомами и оценили динамику локальных костных изменений. В другой работе учёными из Благовещенска (Андриевская И.А. и соавт.) было показано, что материнская инфекция в третьем триместре беременности, вызванная SARS-CoV-2, приводит к развитию фетального воспалительного ответа, что повышает риск неонатальных осложнений.

Долгосрочные последствия инфекции, вызванные SARS-CoV-2, продолжают оставаться глобальной проблемой во всём мире, несмотря на существенный спад заболеваемости. В опубликованной на английском языке работе авторов из Владивостока (Лобова Т.Г. и соавт.) продемонстрировано, что нарушения регуляции инфламмасомы NLRP3 и газдермина D могут приводить к неадекватному иммунному ответу организма на инфекцию COVID-19, что способствует поддержанию гипервоспалительного процесса и длительному выздоровлению. Работа авторов из Ялты (Яцков И.А. и соавт.) посвящена изучению уровня липидов крови у больных после перенесённой новой коронавирусной инфекции и возможности его коррекции в период реабилитации в санаторно-курортных условиях с дополнительным применением фитотерапии.

Представлены интересные работы в области хирургии. Коллектив авторов из Ирака (Ali S.M. et al.) провёл сравнительное исследование техники открытого иссечения и реконструкции лоскутом Лимберга при лечении крестцово-копчикового пилонидального синуса. Данная техника обеспечивает более быстрое заживление, более низкие показатели боли, раннее возвращение к стандартным функциям и меньшую частоту рецидивов, что делает её привлекательным выбором для лечения данного состояния.

В статье авторов из Москвы (Сипки В.Н. и соавт.) представлены данные сравнения результатов повторных реконструктивных вмешательств на молочной железе с использованием алло- и аутоматериалов.

Серия материалов номера представлена экспериментальными работами. В совместном труде авторов из Москвы, Новосибирска и Иркутска (Мичурина С.В. и соавт.) показаны результаты по изучению микро- и ультраструктурных особенностей липидного обмена в печени мышей *db/db* с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа, а также оценено влияние на них введения мелатонина. Коллектив авторов из Казани (Сабиров Д.Х. и соавт.) в своей работе оценил структурные и молекулярные изменения, происходящие в областях, приближенных (Th_9) и отдалённых (L_2) от эпицентра травмы спинного мозга крысы (Th_8), на фоне реабилитационной двигательной нагрузки. Работа учёных из Ижевска (Протопопов В.А. и соавт.) посвящена влия-

нию ингибитора кислой сфингомиелиназы на окислительный стресс, конечные продукты гликирования и миозиновый фенотип камбаловидной мышцы крыс в условиях функциональной разгрузки.

Традиционно журнал публикует работы из области офтальмологии. Коллеги из Краснодара (Набатова О.С. и соавт.) оценили эффективность коррекции роговичного астигматизма торическими интраокулярными линзами, рассчитанными с использованием различных методик измерения целевой астигматической оси. Полученные авторами из Москвы (Суббот А.М. и соавт.) в ходе экспериментальной работы данные подтвердили современную концепцию этиопатогенеза кератоконуса, согласно которой нарушения биомеханической функции роговицы при этом заболевании являются следствием минерального дисметаболизма ионов меди, железа и цинка в её соединительнотканной строме.

Не теряет своей актуальности проблема персонифицированного подхода к пациентам с ишемическим инсультом. Учёные из Читы (Ма-Ван-дэ А.Ю. и соавт.) исследовали уровень фракталкина (FKN) в сыворотке крови у пациентов с ишемическим инсультом (атеротромботический подтип) в динамике. Полученные данные в дальнейшем могут послужить основной для возможного использования FKN как одного из вариантов терапии больных с острой церебральной ишемией.

Несомненно, много полезного читатели найдут для себя в научных обзорах. Авторы из Северной Осетии (Такоева Е.А. и соавт.) в своей работе проанализировали описанные на сегодняшний день механизмы, лежащие в основе эффектов мезенхимальных стволовых клеток и внеклеточных везикул на патогенетические звенья ревматоидного артрита. Авторы из Владивостока (Кытикова О.Ю. и соавт.) обобщили современные представления о роли липидных медиаторов разрешения воспаления – липоксинов – в патогенезе бронхиальной астмы. Представлен вниманию критический анализ литературы автора из Москвы о факторах, способствующих чрезмерному накоплению железа в структурах чёрного вещества головного мозга при болезни Паркинсона (Сальков В.Н.).

Мы надеемся, что материалы номера будут полезны и интересны нашим читателям, помогут им в их профессиональной деятельности и сподвигнут к новым научным поискам.

Для цитирования: Рычкова Л.В. Предисловие заместителя главного редактора к № 1 (2025). *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.1

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE TO ISSUE 1, 2025

Lyubov V. Rychkova

Dr. Sc. (Med.), Professor,
Corresponding Member of the RAS

Dear readers!

We are pleased to present the first issue of the journal "Acta biomedica scientifica" in 2025. In the era of rapid development of medical science and practice, we aim to become a reliable source of relevant and reliable information for doctors, scientists, and anyone interested in the latest advances in medicine. We strive to maintain the highest standards of professionalism and scientific accuracy in our published materials, while also providing a wide range of topics and issues that are relevant to modern healthcare.

Articles on the health of newborns deserve special attention. Researchers from Chita (Sushchenko R.A. et al.) studied the level of osteolysis markers (beta-CrossLaps) and osteogenesis (N-osteocalcin, VEGFR1) in venous blood serum from newborns with cephalohematomas, and assessed the dynamics of local bone changes. Another study by scientists from Blagoveshchensk (Andrievskaya I.A. et al.) found that maternal infection with SARS-CoV-2 in the third trimester leads to an inflammatory response in the fetus, increasing the risk of neonatal complications.

The long-term consequences of SARS-CoV-2 infection continue to be a global concern, despite a decrease in the incidence rate. A study by researchers from Vladivostok (Lobova T.G. et al.), published in English, found that disruptions in the regulation of the NLRP3 inflammasome and gasdermin D can lead to an inadequate immune response to COVID-19 infection, contributing to the maintenance of a hyperinflammatory process and long-term recovery. The work of authors from Yalta (Yatskov I.A. et al.) focuses on the study of blood lipid levels in patients after a new coronavirus infection and the possibility of its correction during the rehabilitation period in sanatorium-resort conditions with the additional use of herbal medicine.

Interesting works in the field of surgery are presented. A team of researchers from Iraq (Ali S.M. et al.) conducted a study comparing the open excision technique with reconstruction using the Limberg flap for the treatment of sacrococcygeal pilonidal sinus. This method provides faster healing, reduced pain, early recovery of normal functions, and a lower risk of recurrence, making it an attractive option for treating this condition.

The article by the authors from Moscow (Sipki V.N. et al.) presents data comparing the results of repeat reconstructive procedures on the breast using allogeneic and autologous materials.

The series of articles in this issue are based on experimental work. In the joint work of authors from Moscow, Novosibirsk and Irkutsk (Michurin S.V. et al.), the results of a study on the micro- and ultrastructural features of lipid metabolism in the liver of *db/db* mice with obesity and type 2 diabetes mellitus are presented. The effect of melatonin administration on them is also assessed. Another team of authors from Kazan (Sabirov D.Kh. et al.) in their work assessed structural and molecular changes occurring in areas close to (Th_9) and distant from (L_2) the epicenter of spinal cord injury in rats (Th_8), against the background of rehabilitation motor load. The work by scientists from Izhevsk (Protopopov V.A. et al.) is devoted to the impact of an acid sphingomyelinase inhibitor on oxidative stress, advanced glycation end products, and the myosin phenotype of rat soleus muscles under conditions of functional unloading.

Traditionally, the journal has published works in the field of ophthalmology. Recently, colleagues from Krasnodar (Nabatova O.S. et al.) have assessed the effectiveness of correcting corneal astigmatism using toric intraocular lenses,

calculated using various methods for measuring the target astigmatic axis. Data obtained by the authors from Moscow (Subbot A.M. et al.) during experimental work has confirmed the modern concept of keratoconus etiopathogenesis, according to which disorders of the biomechanical function of the cornea in this disease are caused by mineral dismetabolism of copper, iron, and zinc ions in the connective tissue stroma.

The issue of a personalized approach to patients with ischemic stroke continues to be relevant. Scientists from Chita (Ma-Van-de A.Yu. et al.) have studied the level of fractalkine (FKN) in the blood serum of patients with ischemic stroke, specifically the atherothrombotic subtype, over time. The data collected can potentially serve as a basis for further research into the possible use of FKN as a treatment option for patients with acute cerebral ischemia.

Undoubtedly, readers will find a wealth of useful information in the scientific reviews. The authors from North Ossetia (Takoeva E.A. et al.) analyzed the mechanisms described that underlie the effects of mesenchymal stem cells and extracellular vesicles on the pathogenesis of rheumatoid arthritis. The authors from Vladivostok (Kytikova O.Yu. et al.) have summarized modern concepts regarding the role of lipoxins, lipid mediators involved in inflammation resolution, in the pathogenesis of bronchial asthma. An author from Moscow (Salkov V.N.) has presented a critical analysis of literature on factors contributing to the excessive accumulation of iron in the substantia nigra of the brain in patients with Parkinson's disease.

We hope that the materials in this issue will be helpful and interesting for our readers, and will assist them in their professional endeavours. We also hope that these materials will inspire our readers to pursue further scientific research.

For citation: Rychkova L.V. Deputy editor-in-chief's preface to Issue 1, 2025. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 5-8. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.1

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ ЗАМЕСТИТЕЛЯ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Предисловие заместителя главного редактора к № 1 (2025). *Рычкова Л.В.* 5

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Современные представления о биоценозе влагалища девочек-подростков и его изменениях. *Ахметова М.Ю., Флоренсов В.В., Лещенко О.Я., Баряева О.Е., Колесникова Л.И.* 12

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

Мезенхимальные стволовые клетки или внеклеточные везикулы в выборе лечения ревматоидного артрита. *Такоева Е.А. Кокаев Р.И., Ислаев А.А.* 25

БИОХИМИЯ

К вопросу о липоксинах как липидных медиаторах разрешения воспаления на примере бронхиальной астмы. *Кытикова О.Ю., Новгородцева Т.П., Коваленко И.С.* 38

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

Сложности диагностики болезни Фабри в реальной клинической практике. *Петрухина А.А., Насонова С.Н., Жиров И.В., Осмоловская Ю.Ф., Терещенко С.Н., Палеев Ф.Н.* 50

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА

Исследование потенциальных событий рекомбинации в белок-кодирующей области CRISPR-Cas локусов в геномах разных сероваринтов *Salmonella enterica* методами *in silico*. *Арефьева Н.А., Букин Ю.С., Эрдынеев С.В., Джиоев Ю.П., Мирошниченко Л.А.* 59

Промежуточные результаты селективного скрининга с использованием полноэкзомного секвенирования у новорождённых. *Богоносова Г.П., Бугун О.В., Ионушене С.В., Астахова Т.А., Голобкова И.М., Докшукина А.А., Шубина Е., Баирова Т.А., Дегтярев Д.Н., Трофимов Д.Ю., Рычкова Л.В., Мартынович Н.Н., Иванова О.Г., Кононенко М.И., Колодина В.О., Кузнецова Н.Н., Ахмедзянова М.Р.* 69

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Фенотипический состав моноцитов крови пуповины и состояние здоровья новорождённых от матерей с COVID-19. *Андриевская И.А., Лязгиян К.С., Устинов Е.М.* 77

CONTENTS

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF'S PREFACE

Deputy editor-in-chief's preface to Issue 1, 2025. *Rychkova L.V.* 5

OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

Modern concept about the vaginal biocenosis of adolescent girls and its changes. *Akhmetova M.Yu., Florensov V.V., Leshchenko O.Ya., Baryaeva O.E., Kolesnikova L.I.* 12

BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

Mesenchymal stem cells or extracellular vesicles in the choice of rheumatoid arthritis treatment. *Takoeva E.A., Kokaev R.I., Islaev A.A.* 25

BIOCHEMISTRY

In regards to lipoxins as lipid mediators for the resolution of inflammation using the example of asthma. *Kytikova O.Yu., Novgorodtseva T.P., Kovalenko I.S.* 38

INTERNAL DISEASES

Difficulties in the diagnosis of Fabry disease in real clinical practice. *Petrukhina A.A., Nasonova S.N., Zhirov I.V., Osmolovskaya Yu.F., Tereshchenko S.N., Paleev F.N.* 50

GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

The study of potential recombination events in the protein-coding regions of CRISPR-Cas loci in the genomes of different *Salmonella enterica* serovariants using *in silico* methods. *Arefieva N.A., Bukin Yu.S., Erdyneev S.V., Dzhioev Yu.P., Miroshnichenko L.A.* 59

Interim results of selective screening using whole exome sequencing in newborns. *Bogonosova G.P., Bugun O.V., Ionushene S.V., Astakhova T.A., Golobkova I.M., Dokshukina A.A., Shubina Je., Bairova T.A., Degtyarev D.N., Trofimov D.Yu., Rychkova L.V., Martynovich N.N., Ivanova O.G., Kononenko M.I., Kolodina V.O., Kuznetsova N.N., Akhmedzyanova M.R.* 69

INFECTIOUS DISEASES

Phenotypic composition of umbilical blood monocytes and health status of newborns from mothers with COVID-19. *Andrievskaya I.A., Lyazgiyan K.S., Ustinov E.M.* 77

КАРДИОЛОГИЯ

Диагностика ишемической болезни сердца в рамках определения профессиональной пригодности лиц, обеспечивающих безопасность движения поездов на Забайкальской железной дороге. *Аксенова Т.А., Беломестнова К.Э., Ляпунова А.К., Озорнина В.А., Горбунов В.В., Царенок С.Ю., Ильямакова Н.А., Сулейманова А.Ю., Щербак В.А.* 85

Кардиоэмболический висцеральный инфаркт. *Отдельнов Л.А., Птушко С.С., Уланова Н.Д.* 93

Сердечная недостаточность и митохондриальная дисфункция: методы исследования в эксперименте и клинической практике. *Гарганеева А.А., Тукиш О.В., Кужелева Е.А., Муслимова Э.Ф., Гуля М.О., Жаргасова В.А., Попов С.В.* 103

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Assessment of the inflammatory response in convalescents of a new coronavirus infection in the catamnesis. *Lobova T.G., Vitkina T.I.* 115

Влияние ингибитора кислой сфингомиелиназы на окислительный стресс, конечные продукты гликирования и миозиновый фенотип камбаловидной мышцы крыс в условиях функциональной разгрузки. *Протопопов В.А., Секунов А.В., Мугизов А.М., Свидерский И.В., Брындина И.Г.* 123

Динамические показатели фракталкина при ишемическом инсульте. *Ма-Ван-дэ А.Ю., Фефелова Е.В., Ширшов Ю.А., Ма-Ван-дэ В.Д.* 136

Значение маркеров остеолизиса и остеогенеза в патогенезе кефалогематом у новорождённых. *Сущенко Р.А., Панченко А.С.* 144

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ

Оценка степени сопряжённости произвольной ЭМГ-активности мышц и порогов восприятия тепла у больных с деформацией позвоночника. *Богатырев М.А., Сайфутдинов М.С., Щурова Е.Н.* 151

Причины чрезмерного накопления железа в структурах чёрного вещества головного мозга при болезни Паркинсона. *Сальков В.Н.* 161

ОНКОЛОГИЯ

Сравнение результатов повторных реконструктивных вмешательств на молочной железе с использованием алло- и аутоматериалов. Опыт МНИОИ им. П.А. Герцена. *Сипки В.Н., Власова М.Ю., Мошурова М.В., Занозина Е.А., Зикиряходжаев А.Д.* 169

CARDIOLOGY

Detection of hidden coronary insufficiency in persons ensuring the safety of train traffic on the Trans-Baikal Railway. *Aksenova T.A., Belomestnova K.E., Lyapunova A.K., Ozornina V.A., Gorbunov V.V., Tsarenok S.Yu., Ilyamakova N.A., Suleymanova A.Yu., Shcherbak V.A.* 85

Cardioembolic visceral infarction. *Otdelnov L.A., Ptushko S.S., Ulanova N.D.* 93

Heart failure and mitochondrial dysfunction: research methods in experiment and clinical practice. *Garganeeva A.A., Tukish O.V., Kuzheleva E.A., Gulya M.O., Muslimova E.F., Zhargasova V.A., Popov S.V.* 103

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Оценка воспалительной реакции у реконвалесцентов новой коронавирусной инфекции в катамнезе. *Лобова Т.Г., Виткина Т.И.* 115

The effect of acid sphingomyelinase inhibitor on oxidative stress, advance glycation end products and myosin phenotype of rat soleus muscle under conditions of functional unloading. *Protopopov V.A., Sekunov A.V., Mugizov A.M., Svidersky I.V., Bryndina I.G.* 123

Dynamic indices of fractalkine in ischemic stroke. *Ma-Van-de A.Yu., Fefelova E.V., Shirshov Yu.A., Ma-Van-de V.D.* 136

The importance of markers of osteolysis and osteogenesis in the pathogenesis of cephalohematoma in newborns. *Sushchenko R.A., Panchenko A.S.* 144

NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

Assessment of the degree of conjugacy of voluntary EMG activity of muscles and thresholds of heat perception in patients with spinal deformity. *Bogatyrev M.A., Saifutdinov M.S., Shchurova E.N.* 151

Causes of accumulation of excess iron in the structures of the *substantia nigra* of the brain in Parkinson's disease. *Salkov V.N.* 161

ONCOLOGY

Comparison of the results of repeated reconstructive interventions on the breast using allo- and autologous materials. Experience of the P. Herzen Moscow Oncology Research Institute. *Sipki V.N., Vlasova M.Yu., Moshurova M.V., Zanozina E.A., Zikiryakhodzhaev A.D.* 169

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Биомеханические свойства модели кератоконуса – клеточной культуры роговичных фиброцитов, выращенных в условиях деплетирования по цинку. *Суббот А.М., Ефремов Ю.М., Тимашев П.С., Новиков И.А., Патеюк Л.С., Кобзева А.В., Аветисов С.Э.* 179

Диагностика и лечение эзотропии с диплопией у молодых пользователей смарт-устройств. *Бачалдина Л.Н., Короленко А.В.* 189

Сравнительный анализ эффективности различных формул расчёта и систем измерения целевой астигматической оси торической ИОЛ при интраокулярной коррекции роговичного астигматизма. *Набатова О.С., Фисенко А.И., Козина Е.В., Лексуткина Е.В.* 196

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ

Оценка стрессогенности ситуации социального отчуждения россиян и стратегий её преодоления у молодёжи и старшего поколения. *Тихомирова Е.В., Сапоровская М.В., Самохвалова А.Г.* 206

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ

Влияние фитокомпозиции на дислипидемию у пациентов, перенёсших инфекцию SARS-CoV-2, на санаторно-курортном этапе лечения. *Яцков И.А., Дудченко Л.Ш., Меликов Ф.М., Белоглазов В.А., Соловьева Е.А., Андреева Г.Н.* 221

ХИРУРГИЯ

Comparative study of open excision technique versus Limberg flap reconstruction in the management of sacrococcygeal pilonidal sinus. *Ali S.M., Mohammed R.F., Mahmood K.I., Kadhim S.H.* 230

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Метаболически ассоциированная жировая болезнь печени и сахарный диабет 2-го типа у мышей *db/db*. Влияние мелатонина на липидный обмен в печени, микро- и ультраструктурная характеристика. *Мичурина С.В., Колесников С.И., Васендин Д.В., Ищенко И.Ю.* 238

Структурные и молекулярные изменения в эпицентре повреждения и в отдалённых сегментах спинного мозга крысы на фоне реабилитационной двигательной нагрузки. *Сабиров Д.Х., Агеева Т.В., Тимофеева А.В., Плотникова Е.А., Архипова С.С., Давлетшин Э.Ф., Мухамедшина Я.О.* 248

OPHTHALMOLOGY

Biomechanical properties of keratoconus model – corneal fibrocytes cell culture in zinc depleted growth medium. *Subbot A.M., Efremov Yu.M., Timashev P.S., Novikov I.A., Pateyuk L.S., Kobzeva A.V., Avetisov S.E.* 179

Diagnosis and treatment of esotropia with diplopia in young users of smart devices. *Bachaldina L.N., Korolenko A.V.* 189

Comparative analysis of the effectiveness of various calculation formulas and measurement systems for the target astigmatic axis of the toric IOL in intraocular correction of corneal astigmatism. *Nabatova O.S., Fisenko A.I., Kozina E.V., Leksutkina E.V.* 196

PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

Assessment of the stressfulness of the situation of social exclusion of Russians and strategies for overcoming it among young people and the older generation. *Tikhomirova E.V., Saporovskaia M.V., Samokhvalova A.G.* 206

PHARMACOLOGY AND PHARMACY

Effect of phytocomposition on dyslipidemia in patients with SARS-CoV-2 infection at the health resort stage of treatment. *Yatskov I.A., Dudchenko L.Sh., Melikov F.M., Beloglazov V.A., Solovyova E.A., Andreeva G.N.* 221

SURGERY

Сравнительный анализ метода открытого иссечения и пластики лоскутом Лимберга при лечении пилонидального синуса. *Али С.М., Мохаммед Р.Ф., Махмуд К.И., Кадим С.Х.* 230

EXPERIMENTAL RESEARCHES

Genetically determined fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus in *db/db* mice. The effect of melatonin on lipid metabolism in the liver, micro- and ultrastructural characteristics. *Michurina S.V., Kolesnikov S.I., Vasendin D.V., Ishchenko I.Yu.* 238

Structural and molecular changes in the epicenter of injury and distant segments of the rat spinal cord in response to rehabilitative motor training. *Sabirov D. Kh., Ageeva T.V., Timofeeva A.V., Plotnikova E.A., Arkhipova S.S., Davletshin E.F., Mukhamedshina Ya.O.* 248

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ – OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О БИОЦЕНОЗЕ ВЛАГАЛИЩА ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ И ЕГО ИЗМЕНЕНИЯХ

Ахметова М.Ю. [1, 2],
Флоренсов В.В. [1],
Лещенко О.Я. [2],
Баряева О.Е. [1],
Колесникова Л.И. [2]

[1] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)
[2] ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16 Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Ахметова Марина Юрьевна,
e-mail: marina.cookies@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Основной представитель биоценоза влагалища девочек-подростков после менархе и в течение репродуктивного периода жизни – облигато-анаэробные лактобактерии. Качественные и количественные изменения состава биоценоза влагалища происходят под воздействием различных экзогенных и эндогенных факторов и могут способствовать развитию воспалительных заболеваний вульвы и влагалища.

Цель библиографического обзора. *Провести анализ современных литературных данных об особенностях биоценоза влагалища девочек-подростков, его формировании в возрастном аспекте, изменениях при воздействии неблагоприятных факторов и при наличии коморбидных заболеваний.*

Было проанализировано 250 иностранных и отечественных источников литературы, индексированных в РИНЦ, PubMed, Scopus, SSCI, преимущественно с 2014 по 2024 г. Для статьи использовано 69 источников, из них 23 были опубликованы за последние 5 лет.

Результаты. *Большинство исследований подчёркивают тот факт, что необходимо тщательно обследовать девочек-подростков с выявленными факторами риска нарушений биоценоза влагалища, в том числе с коморбидными заболеваниями.*

Ключевые слова: *биоценоз влагалища, микробиота влагалища, лактобактерии, вульвовагинит, инфекция мочевыводящих путей, девочки-подростки, желудочно-кишечный тракт*

Статья поступила: 06.11.2024
Статья принята: 16.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Ахметова М.Ю., Флоренсов В.В., Лещенко О.Я., Баряева О.Е., Колесникова Л.И. Современные представления о биоценозе влагалища девочек-подростков и его изменениях. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 12-24. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.2

MODERN CONCEPT ABOUT THE VAGINAL BIOCENOSIS OF ADOLESCENT GIRLS AND ITS CHANGES

Akhmetova M.Yu. [1, 2],
Florensov V.V. [1],
Leshchenko O.Ya. [2],
Baryaeva O.E. [1],
Kolesnikova L.I. [2]

[1] Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[2] Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author:
Marina Yu. Akhmetova,
e-mail: marina.cookies@yandex.ru

ABSTRACT

The main representative of the vaginal biocenosis of adolescent girls after menarche and during the reproductive period of life is obligate-anaerobic lactobacilli. Qualitative and quantitative changes in the composition of the vaginal biocenosis occur under the influence of various exogenous and endogenous factors and can contribute to the development of the vulvar and vaginal inflammatory diseases.

The aim of the review. *To analyze modern literary data on the peculiarities of the vaginal biocenosis of adolescent girls, its formation in the age aspect, changes under the influence of adverse factors and in the presence of comorbid diseases.*

Two hundred fifty foreign and Russian literature sources indexed in RSCI, PubMed, Scopus, SSCI were analyzed, mainly from 2014 to 2024. Sixty-nine sources were used for the article, 23 of them published in the last 5 years.

Results. *Most studies emphasize the fact that it is necessary to carefully examine adolescent girls with identified risk factors for violations of vaginal biocenosis, including comorbid diseases.*

Key words: *vaginal biocenosis, vaginal microbiota, lactobacilli, vulvovaginitis, urinary tract infection, adolescent girls, gastrointestinal tract*

Received: 06.11.2024
Accepted: 16.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Akhmetova M.Yu., Florensov V.V., Leshchenko O.Ya., Baryaeva O.E., Kolesnikova L.I. Modern concept about the vaginal biocenosis of adolescent girls and its changes. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 12-24. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.2

ВВЕДЕНИЕ

Биоценоз влагалища – это микроэкосистема женского организма, особенности которой определяются микробиотой (совокупностью микроорганизмов), анатомией и гистологией структуры слизистой оболочки, биологическими свойствами влагалищной жидкости [1]. Качественный и количественный составы микробиоты влагалища женщины не одинаковы в течение жизни [2]. Формирование микробиоты в возрастном аспекте – сложный процесс, зависящий от многих факторов: уровня половых гормонов, состояния общего и локального иммунитета, наличия сопутствующих гинекологических и экстрагенитальных заболеваний, гигиенических навыков девочки [2–4].

Состояние влагалищного биоценоза оказывает существенное влияние на репродуктивное здоровье женщины в любом её возрасте. Изучение особенностей формирования и изменений биоценоза влагалища девочек-подростков под воздействием различных внешних и внутренних факторов к настоящему времени является актуальным вопросом гинекологии, с которым может столкнуться не только врач-гинеколог, но и педиатр, и другие узкие специалисты [3].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести анализ современных литературных данных об особенностях биоценоза влагалища девочек-подростков: его формировании в возрастном аспекте, изменениях при воздействии неблагоприятных факторов и при наличии коморбидных заболеваний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было проанализировано 250 иностранных и отечественных источников литературы, индексированных в РИНЦ, PubMed, Scopus, SSCI, преимущественно с 2014 по 2024 г. Для статьи использовано 69 источников, из них 23 – опубликованные за последние 5 лет.

ФОРМИРОВАНИЕ БИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА У ДЕВОЧЕК В ПОДРОСТКОВОМ ВОЗРАСТЕ

Все микроорганизмы влагалища подразделяются на три основные группы: облигатные, факультативные и транзиторные. Облигатная («основная») вагинальная микрофлора заселяет влагалище новорождённой девочки в период родов (после прохождения плода через родовой канал). Факультативные («условные») анаэробы – это микроорганизмы, чей энергетический цикл при отсутствии кислорода проходит по анаэробному пути (брожение), а при его наличии – за счёт дыхания. К представителям факультативных микроорганизмов влагалища относятся *Staphylococcus epidermidis, Corynebacterium* spp., *Prevotella* spp. и *Mycoplasma hominis*, реже – *Micrococcus* spp., *Veillonella* spp., *Propionibacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Clostridium* spp., *Staphylococcus aureus, Actinomyces* spp., *Fusobacterium* spp., *Ureaplasma urealyticum*. Транзиторная микрофлора – это различные непатогенные, условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) и облигатные патогены, которые попадают во влагалище случайно из окружающей среды и в условиях нормального биоценоза влагалища быстро элиминируются с током влагалищной жидкости [5, 6].

Ведущее место в составе влагалищной микробиоты женщины репродуктивного возраста занимают лактобактерии – основные облигатные микроорганизмы [7]. Важно понимать, что они не всегда являются доминирующими микроорганизмами во все периоды жизни женщины [2, 3, 6]. В первый месяц жизни девочки из-за снижения уровня половых стероидов меняется гистологическое строение влагалищного эпителия: он представлен только базальными и парабазальными слоями. Лактофлора в это время не является доминирующей ввиду отсутствия достаточного количества гликогена, необходимого для питания и дальнейшего существования лактобактерий, их размножения [2, 3]. По данным проспективного когортного исследования 113 девочек в возрасте 1–3 лет, проведённого в 2010–2012 гг. в Москве З.К. Батыровой и соавт., основными представителями их микробиоты влагалища являются: *Eubacterium,* группа *Prevotella bivia/Porphyromonas* spp., группа *Mobiluncus* spp./*Corynebacterium* spp., группа *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp., *Peptostreptococcus* spp. [8]. Основные представители микробиоты влагалища девочек препубертатного возраста – анаэробы и микроаэрофилы (различные бактероиды, стафилококки, дифтероиды) [2–4, 6]. Лактобактерии в этом возрасте присутствуют в большом количестве, так как происходит запуск овариальной функции, активно вырабатываются собственные эстрогены. Под их влиянием влагалищные эпителиоциты снова начинают вырабатывать и накапливать гликоген – эпителий влагалища становится «эстрогенстимулированным». Увеличивается его толщина, на поверхности образуется большое количество рецепторов для адгезии лактобацилл. С этого момента лактофлора вновь становится доминирующей и уже остаётся таковой до конца репродуктивного периода женщины, pH влагалища сдвигается в кислую сторону – 3,8–4,5, а общая бактериальная масса достигает 10^5–10^7 КОЕ/мл [5, 7].

Согласно данным проспективного исследования девочек препубертатного возраста, проведённого R.J. Hickey и соавт. и опубликованного в США в 2015 г., именно менархе является ключевым моментом изменения состава микробиоты влагалища [9]. Подобное исследование девочек различных возрастов было проведено в Уганде в 2011 г.: авторы выяснили, что значимые изменения состава микробиоты влагалища происходят именно с началом первой менструации [10]. По данным других отечественных и зарубежных исследований, проведённых в период 2016–2020 гг., с наступлением менархе у девочек-подростков общая бактериальная масса микробиоты влагалища достигает 10^4–10^8 КОЕ/мл. Количе-

ство лактобактерий, которые уже являются доминирующими микроорганизмами, достигает 10^6–10^8 КОЕ/мл [2, 4, 5]. В значительном количестве также обнаруживаются факультативные анаэробы (до 80,2 %), в том числе коагулазоотрицательные стафилококки. Количество облигатных анаэробов доходит до 14,3 %, *Ureaplasma* – до 25,2 %, *Mycoplasm*a – 19,8 %, *Gardnerella vaginalis* – 2,5 %. Влагалищная среда у девочек с регулярными менструациями кислая (pH = 4,0–4,5). По данным А.В. Казаковой и соавт., проводивших исследование биоценоза влагалища девочек в 2020 г. в Москве, установлено, что с 16 лет биоценоз влагалища девочки-подростка идентичен биоценозу влагалища женщины репродуктивного периода [5]. Исследование влагалищного биоценоза 226 несовершеннолетних девочек, проведённое в России в 2016 г. Е.В. Уваровой и соавт., показало, что у девочек после наступления менархе влагалищная микробиота меняется: увеличивается встречаемость аэробных микроорганизмов, а количество анаэробов, наоборот, уменьшается. По мнению авторов, главные качественные и количественные изменения микробиоты влагалища происходят именно в препубертатном возрасте, что связано с началом полноценного функционирования пяти уровней регуляции менструального цикла [2].

ВЛИЯНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ФАКТОРОВ НА БИОЦЕНОЗ ВЛАГАЛИЩА У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ

Нормальный биоценоз влагалища способствует стабильности состава, количества и соотношения микроорганизмов и предотвращает заселение влагалища патогенными микроорганизмами либо чрезмерному размножению и дальнейшему превалированию УПМ [3, 6]. Качественные и количественные изменения влагалищной микробиоты в последующем влекут за собой изменения нормального функционирования женской репродуктивной системы, могут приводить к осложнениям течения беременности, родов, послеродового периода [11–13].

Удаление волос на лобке, половых губах и перианальной области может способствовать изменениям микробиоты влагалища [5, 14]. Установлено, что у девочек-подростков и молодых женщин, удаляющих волосы в этих зонах не чаще одного раза в месяц, статистически значимо реже встречаются воспалительные процессы вульвы и влагалища [14]. Исследование, проведённое в США в 2012 г. A.L. DeMaria и соавт., продемонстрировало корреляцию между удалением лобковых волос женщинами, в том числе девочками-подростками 16–17 лет, и развитием осложнений в виде вульвита либо дерматита вульвы [15]. Проведённое в США в 2012 г. R.P. Madan и соавт. исследование генетических особенностей состояния местного иммунитета влагалища у 20 девочек-подростков в сравнении с 54 женщинами старшего возраста показало у девочек-подростков более высокую восприимчивость к инфицированию *Escherihia coli*, меньшую концентрацию во влагалище *L. jensenii*, а также высокую вероятность инфицирования вирусом папилломы человека и инфекциями, передаваемыми половым путём (ИППП) [16].

Исследования, проведённые в России и в мире, свидетельствуют о том, что половая жизнь у девочек-подростков статистически значимо влияет на изменение состава микробиоты влагалища и является фактором рискам развития воспалительных и дисбиотических процессов [6, 17, 18]. В настоящее время в России средний возраст сексуального дебюта у девочек-подростков – 15–16 лет [19]. Раннее начало половой жизни является важным неблагоприятным фактором развития дисбиоза влагалища и воспалительных заболеваний вульвы и влагалища, в том числе вызванных специфическими микроорганизмами. Дополнительным фактором риска нарушения репродуктивного здоровья девочки-подростка являются самолечение и несвоевременное обращение за медицинской помощью [5]. Зачастую девочки-подростки ввиду недостаточного уровня знаний по вопросам репродуктивного здоровья, стеснения задать вопрос родителям или медицинским работникам пренебрегают барьерной контрацепцией, что также является фактором риска нарушений влагалищного биоценоза и инфицирования ИППП [6]. Установлено, что влагалищная жидкость у сексуально активных девочек-подростков по сравнению с взрослыми женщинами имеет меньшее содержание белка и иммуноглобулинов G и A, что является дополнительным фактором риска инфицирования ИППП [5, 19]. По результатам проспективного когортного исследования 650 девочек-подростков 14–19 лет, проведённого R.E. Bunnell и соавт. в США в 1999 г., наибольшая частота встречаемости ИППП (57 %) среди девочек-подростков была отмечена среди имевших 5 и более половых партнёров. Также частота ИППП была достаточно высока (28 %) среди девочек-подростков, у которых был только 1 половой партнёр [20].

Ряд исследований показывает, что недостаточная интимная гигиена девочками-подростками, в особенности сексуально активными, способствует развитию воспалительного процесса во влагалище [14, 21, 22]. Непросвещённость по вопросам интимной гигиены также демонстрируется рядом исследований, проведённых в виде анкетирования школьниц и студенток учебных заведений в России [23]. Использование неадаптированных, агрессивных моющих средств, мыла, влажных салфеток либо нерегулярная гигиена наружных половых органов, спринцевание влагалища – всё это может стать пусковым моментом развития дисбиоза влагалища и вульвовагинита у девочек-подростков [3, 5, 6, 14]. Существует риск развития дисбиоза влагалища и вульвовагинита на фоне воздействия контактных аллергенов (те же неподходящие моющие средства, прокладки для менструации и ежедневные прокладки) [3, 14]. По результатам некоторых исследований установлено, что фактором риска развития воспалительного и дисбиотического процесса влагалища является ношение нижнего белья, изготовленного из синтетических тканей, способных раздражать кожу и слизистые оболочки наружных половых органов девочки-подростка [14, 24]. Интересное исследование этой проблемы было про-

ведено S. Sevil и соавт. в Турции в 2011 г.: по его результатам, молодые девушки-студентки, пренебрегающие правилами интимной гигиены и носящие нижнее белье из синтетических материалов, более подвержены генитальным инфекциям [14]. К нарушениям нормальной микробиоты влагалища может привести и ношение девочками-подростками трусов-стрингов, так как их ткань перемещается по межягодичной борозде, что способствует перемещению микроорганизмов из перианальной области во влагалище [5].

Менархе является началом пубертатного периода жизни девочки-подростка. В это время в организме девочки-подростка происходят значительные гормональные изменения, влияющие в том числе и на состав микробиоты влагалища [6, 9, 10]. Различные нарушения менструальной функции характеризуются изменением баланса эстрогенов и гестагенов в организме девочки-подростка, что может способствовать изменению количества доминирующих лактобактерий во влагалище [25]. Отечественное исследование влагалищного биотопа 92 девочек-подростков 13–17 лет с различными нарушениями менструальной функции (аномальные маточные кровотечения, первичная дисменорея), проведённое А.Г. Платоновой и Н.А. Козловской в Санкт-Петербурге в 2020 г., показало наличие связи между заболеваниями ЛОР-органов и расстройствами менструации. Авторы подчёркивают необходимость углублённого обследования пациенток с нарушениями менструальной функции и ранней диагностики, и коррекции дисбиоза влагалища [26]. Установлено, что недостаточно частая смена гигиенических прокладок девочкой-подростком во время менструации способствует развитию воспалительного и дисбиотического процесса во влагалище. Это связано с накоплением крови на ткани прокладки, которая является хорошей средой для роста микроорганизмов [6].

На состав микробиоты влагалища может оказывать косвенное влияние и приём гормональной контрацепции девочками-подростками, хотя ряд различных исследований демонстрирует противоречивые данные об этом [27]. Например, в исследовании с участием 948 женщин, проведённом J.M. Baeten и соавт. в Кении в 2001 г., было отмечено, что эстрогенный компонент комбинированных оральных контрацептивов способствует увеличению концентрации грибов рода *Candida* во влагалище, а также увеличению риска инфицирования хламидиозом в 1,8 раза [28]. В то же время другие авторы утверждают, что приём комбинированных оральных контрацептивов незначительно влияет на состав микробиоты влагалища, и концентрация лактобактерий остаётся прежней [29, 30].

Значительный интерес представляет влияние на состояние микробиоты влагалища коморбидных заболеваний – заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и мочевыводящих путей [3, 6, 31, 32].

Таким образом, гормональные изменения в организме, особенности гигиенических навыков, интимная эпиляция, сексуальная активность, особенности контрацепции, соматический статус, генетические особенности иммунитета, аллергоанамнез – всё это может стать причиной изменений качественного и количественного состава микробиоты влагалища и, как следствие, способствовать развитию дисбиоза влагалища, воспалительных заболеваний вульвы и влагалища.

ЛАКТОБАКТЕРИИ И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ НОРМАЛЬНОГО БИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА

Ключевым элементом целостной экосистемы микроорганизмов человека является микрофлора ЖКТ – основное депо микроорганизмов, способных выходить за его пределы, тем самым попадая в слизистые оболочки других систем [32–34]. Это может приводить к развитию патологических процессов в репродуктивной системе женщины, так как микробиота влагалища находится в прямом взаимодействии с микробиотой ЖКТ и обеспечивает её нормальное функционирование [32, 33]. Большинство воспалительных и дисбиотических процессов во влагалище девочки-подростка, если не являются симптомом ИППП, то могут быть результатом аутоинфицирования патогенными микроорганизмами и УПМ, населяющими кишечник. Формирование влагалищного биоценоза начинается ещё в интранатальном и раннем неонатальном периодах, в последующие периоды жизни происходит заселение микроорганизмами ЖКТ [35].

С момента рождения и в течение всей жизни женщины естественный путь заселения вагинального биотопа лактобациллами проходит через толстый кишечник [36]. Их нормальное количество в толстой кишке – 10^6–10^7 КОЕ/г фекалий. Основные представители: *L. acidophilus, L. casei, L. bulgaricus, L. plantarum, L. salivarius, L. reuteri, L. rhamnosus* [37]. Для их адекватного поступления во влагалище необходимо два условия: нормальное функционирование кишечника и достаточное количество лактобактерий в нём. Запоры, неполноценное питание, инфекционно-воспалительные заболевания ЖКТ, приём антибактериальных препаратов могут привести к нарушению состава микробиоты кишечника и, как следствие, вагинальной микробиоты [37, 38].

Биоценоз влагалища принято рассматривать как совокупность микробиоценозов кожи и слизистых оболочек организма. Микроорганизмы, в норме живущие во влагалище, образуют различные взаимосвязи друг с другом: они могут конкурировать, находиться в нейтральных отношениях, и др. [33]. Количественные изменения, появление и активное размножение различных видов, в норме не населяющих влагалище, сигнализируют о начале процессов адаптации и, как следствие, изменений функционирования вагинальной микробиоты в целом [2, 39]. Структура (качественный и количественный составы) нормальной вагинальной микробиоты женщины репродуктивного периода и девочки-подростка после менархе достаточно хорошо изучена [12, 33, 40]. Видовой состав представлен анаэробами и в меньшей степени аэробами и микроаэрофилами; при этом он схож с микробиотой толстого кишечника [6, 33].

Основной представитель нормальной микробиоты влагалища девочки-подростка после менархе и до конца репродуктивного периода её жизни – облигато-анаэробные лактобактерии [3, 5, 6]. Они представляют собой неподвижные палочки (бациллы) продолговатой формы, хотя встречаются и сферические формы. При увеличении микроскопом лактобактерии располагаются, как правило, поодиночке либо образуют цепочки. В норме их концентрация во влагалищной среде доходит до 10^7–10^9 КОЕ/мл [41]. Типичные представители лактобактерий влагалища – *L. acidophilus, L. fermentum, L. plantarum* и *L. casei* [1, 3, 40].

Главная их функция – защитная [1, 3, 9, 39]. Она реализуется через конкуренцию с патогенными микроорганизмами и УПМ (например, *Gardnerella vaginalis, Atopobium vaginae*), населяющими влагалище, и через поддержание кислой среды создаёт неблагоприятные условия для размножения патогенных представителей [2]. Лактобациллы также подавляют рост УМП и в толстом кишечнике [37]. Являясь основным колонизатором многослойного влагалищного эпителия, лактобациллы препятствуют контаминации половых путей патогенными микроорганизмами и ограничивают размножением УПМ, обеспечивая, таким образом, колонизационную резистентность. Для эффективной колонизации важна способность лактобактерий к адгезии на эпителиоциты. Существует специфичность адгезии определённых штаммов к определённым эпителиоцитам [41]. Установлено, что лактобациллы могут снижать жизнеспособность *Gardnerella vaginalis* в несколько тысяч раз, а продукты их жизнедеятельности (лактат, перекись водорода, ацидофилин) препятствуют развитию клиники дисбиоза влагалища [40].

Лактобактерии обладают и антибактериальной активностью. В основе этой их способности лежат процессы брожения, в результате которого образуются молочная, уксусная и некоторые другие летучие кислоты. Именно их ферментированные продукты (алифатические жирные кислоты) обеспечивают поддержание кислой среды во влагалище (pH = 3,8–4,5). Существуют штаммы, способные продуцировать перекись водорода, что также является антибактериальным фактором защиты, а также лизоцим, лактацины и др. [40].

Важным моментом формирования нормальной микробиоты влагалища является не только количество лактобактерий в 1 мл вагинальной жидкости, но и их видовое соотношение. В настоящее время идентифицировано около 20 видов вагинальных лактобацилл. Индивидуально доминирует, как правило, какой-то один из четырёх видов *L. acidophilus*: *L. crispatus, L. jensenii, L. gasseri, L. iners* [3, 40].

Результаты научного проекта «Микробиом человека» (Human Microbiome Project, 2007–2016) продемонстрировали важные данные о состоянии вагинальной микробиоты женщин с использованием метода полногеномного секвенирования [42, 43]. Несмотря на то, что россиянки в данном исследовании не участвовали, была создана рабочая классификация, учитывающая процесс доминирующих микроорганизмов, а в случае доминирования лактобактерий (показатель нормоценоза влагалища женщин репродуктивного возраста и девочек-подростков после менархе) – их преобладающий вид. С учётом этой классификации выделяют пять основных вариантов состояния влагалищной микробиоты [41–43]:

1-й вариант – доминирование лактобактерий с преобладанием *L. crispatus*;

2-й вариант – доминирование лактобактерий с преобладанием *L. gasseri*;

3-й вариант – доминирование лактобактерий с преобладанием *L. iners*;

4-й вариант – дисбиотический тип с преобладанием облигатных анаэробов;

5-й вариант – доминирование лактобактерий с преобладанием *L. jensenii.*

L. crispatus и *L. jensenii* наиболее активны в продукции перекиси водорода [7, 40, 44]. Поэтому при снижении их концентрации во влагалище закономерно снижается концентрация лактата и понижается кислотность вагинальной среды [39, 40]. *L. crispatus* чаще всего выделяются в составе микробиоты влагалища здоровых женщин, в то время как *L. gasseri* и *L. iners* чаще встречаются у женщин с дисбиозом влагалища [45]. Это связано с тем, что *L. crispatus* способны поддерживать постоянство влагалищного биоценоза благодаря выраженным протективным свойствам, препятствующим размножению УПМ [44, 46]. *L. crispatus* проявляет более выраженную антагонистическую активность ко всем УПМ в сравнении с *L. gasseri* [43].

В исследовании влагалищной микробиоты, проведённом Е.С. Ворошилиной и соавт. в Екатеринбурге в 2017 г., подчёркивается, что понятие «нормоценоз» влагалища должно учитывать не только субъективные данные опроса пациентки и отсутствие у неё жалоб, но и результаты соответствующих лабораторных методов исследования. По результатам этого исследования, вариант нормоценоза с преобладанием *L. crispatus* был характерен для 46,2 % случаев в группе исследования. Авторы подчёркивают, что клиническая оценка состояния влагалищного биоценоза без учёта лабораторных данных носит субъективный характер и в ряде случаев не позволяет выявить дисбиоз влагалища [46].

У многих женщин репродуктивного периода и у девочек-подростков, имеющих дисбиоз влагалища, выявляются пищевые, медикаментозные и смешанные аллергические реакции, говорящие о сбое в работе иммунной системы [1, 5]. Как показывает ряд проведённых исследований, следует помнить о том, что снижение концентрации влагалищных лактобактерий может отмечаться при использовании внутриматочных контрацептивов, приёме антибактериальных препаратов, снижении уровня витамина D, после хирургических вмешательств, медицинских абортов и при наличии доброкачественных гиперпластических процессов в органах репродуктивной системы, при некоторых особенностях полового поведения и т. д. [47–50].

Количественная потеря лактобактерий, обеспечивающих влагалищный нормоценоз, всегда влечёт за со-

бой последствия для репродуктивного здоровья девочки-подростка: возрастает риск развития вульвовагинита, дисбиоза влагалища [5]. Эти патологические состояния ухудшают здоровье и требуют профессионального обследования и лечения у врача-гинеколога [3, 5, 6].

ИЗМЕНЕНИЯ БИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА У ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ, ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА, ВУЛЬВОВАГИНИТЕ И НАРУШЕНИЯХ МЕНСТРУАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ

Взаимосвязь микробиоты ЖКТ, в особенности кишечника, и влагалищной микробиоты на сегодняшний день доказана [3, 6, 51, 52]. Учитывая анатомо-физиологические особенности женских наружных половых органов, влагалища и наружного отверстия уретры (близость его расположения к вдоху во влагалище, короткая длина), неизбежна связь микробиоты влагалища и микробиоты уретры и мочеточников [6]. Есть исследования, доказывающие и трёхсторонние взаимосвязи микробиоты влагалища, ЖКТ и мочевыводящих путей одновременно [53, 54]. Воспалительные заболевания мочевыводящих путей, ЖКТ могут влиять на качественный и количественный состав вагинальной микробиоты, приводить к дисбиозу влагалища, вульвовагиниту – развивается порочный круг. Такие девочки-подростки часто не могут найти первичную причину дисбиотических нарушений во влагалище, обращаясь к врачу-педиатру, врачу-нефрологу и врачу-гастроэнтерологу несвоевременно либо не обращаясь вовсе.

Инфекции мочевыводящих путей (ИМВП), неспецифический воспалительных процесс, затрагивающий как верхние, так и нижние мочевыводящие пути, в том числе наружное отверстие уретры, считаются одной из самых часто выявляемых бактериальных инфекций и ежегодно поражают около 150 млн человек, в том числе детей, в мире [54]. Частота ИМВП в 2021 г. в России составила около 18 случаев на 1000 детского населения. ИМВП имеет различную этиологию: это микроорганизмы, которые в норме обитают в дистальном отделе уретры и прилежащих областях, в том числе во влагалище девочки. Ведущее место среди возбудителей ИМВП у детей занимает *Escherichia coli* (75–90 %). Этот же микроорганизм может быть ассоциирован с неспецифическим вульвовагинитом и дисбиозом влагалища у девочек-подростков [5].

В клинической практике врачи-гинекологи и врачи-нефрологи нередко видят проявления порочного круга развития урогенитальных заболеваний: пациентка для лечения ИМВП принимает антибактериальные препараты, иногда даже непрерывно, что приводит к развитию дисбиоза влагалища, вульвовагинального кандидоза, сопровождающихся жалобами на зуд, дискомфорт в области наружных половых органов, патологические выделения из влагалища [55, 56]. Заболеваемость ИМВП у девочек резко возрастает не только в период детства, но и в период сексуального дебюта [6, 57]. Микроорганизмы влагалища могут проникать в нижние мочевыводящие пути путём механического переноса, например, во время полового контакта. Посткоитальный цистит, представляющий собой рецидивирующую инфекцию мочевыводящих путей, ассоциированную с сексуальной активностью, является социально значимой проблемой, так как может стать причиной тревожного расстройства, а иногда и отказа от половой жизни у женщины в любом возрасте [9, 55].

Исследование микробиоты влагалища и нижних мочевых путей, проведённое И.В. Косовой и соавт., в 2022 г. в Москве, показало, что только в 37,3 % случаев у женщин в возрасте 19–76 лет с рецидивирующей инфекцией нижних мочевых путей было отмечено нормальное состояние микробиоты влагалища, в то время как в 62,7 % случаев были выявлены её нарушения. Авторы исследования подчёркивают, что дисбиоз влагалища способствует увеличению количества рецидивов инфекций нижних мочевых путей, а следовательно, и более тяжёлому течению заболевания [58]. Хотя в данное исследование вошли девушки и женщины старше 19 лет, интерпретация результатов говорит о том, что данная проблема актуальна как для репродуктивного периода, так и для девочек-подростков, которые относятся, согласно шкале старения женщины STRAW-10 (Stages of Reproductive Aging Workshop), к раннему репродуктивному периоду жизни. Диагностика ИМВП у сексуально активных девочек-подростков осложняется тем, что симптомы со стороны нижних отделов мочевыводящих путей часто пересекаются с таковыми при ИППП, что не исключает наличия как ИМВП, так и специфического вульвовагинита у одной и той же пациентки [6, 59].

Нередко у детей ИМВП развиваются на фоне заболеваний ЖКТ – запоров, колита, кишечных инфекций и др. [6]. Заболевания ЖКТ, в особенности воспалительного генеза, являются не менее важным фактором риска заболеваний репродуктивной системы женщины в любом возрасте [32, 34, 51]. К примеру, в исследовании состоянии микробиоты кишечника и влагалища 17 женщин репродуктивного возраста с вторичным бесплодием, проведённом А.П. Годоваловым и соавт. в Перми в 2016 г., было показано, что в 70,6 % случаев у обследованных регистрировались следующие заболевания ЖКТ: хронический гастродуоденит – в 41,7 % случаев; хронический холецистит – в 33,3 %; хронический панкреатит – в 16,7 %; хронический холецистохолангит – в 16,7 %; хронический гастрит – в 8,3 % [60]. По данным некоторых других исследований, у девочек-подростков с диагностированным нарушением менструальной функции по типу олигоменореи, синдромом формирующихся поликистозных яичников также часто диагностируется хронический гастродуоденит [61, 62]. Взаимосвязь синдрома поликистозных яичников и состояния микробиоты кишечника демонстрируется и в ряде различных других работ [63, 64].

Есть исследования, которые показывают, что дисбаланс кишечной и влагалищной микробиот может быть также фактором риска рака шейки матки [65]. Интерес-

ное предположение выдвинули M.W. Laschke и соавт., занимавшиеся исследованием кишечной микробиоты в Германии в 2016 г.: не исключается взаимосвязь нарушений состава микробиоты кишечника и развития в последующем эндометриоза [66]. Некоторые исследования указывают на то, что при дисбиозах кишечника во влагалище возрастает количество микроорганизмов видов *Escherichia, Enterococcus, Clostridium, Bacteroides, Fusobacterium, Peptostreptococcus, Eubacterium, Veillonella,* а из кишечника в свою очередь, наоборот, выделяются *Mycoplasma hominis, Mobiluncus* spp., *Gardnerella vaginalis*. Более чем у половины женщин, в том числе девочек-подростков, с бактериальным вагинозом диагностируется дисбактериоз кишечника [1, 6].

Вульвовагинит по своей сути, будучи воспалительным процессом вульвы и влагалища, подразумевает под собой нарушение нормальной влагалищной микробиоты. Происходит либо патологическое размножение УМП, либо колонизация влагалища специфическими микроорганизмами, такими как *Neisseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis* и др. В пубертатном периоде причиной вульвовагинита, помимо УПМ, могут стать грибы рода *Candida* или *Ureaplasma urealyticum* [6, 61]. Размножение грибов рода *Candida* у девочек-подростков с вульвовагинитом связано с изменениями регуляции менструального цикла: ввиду увеличения концентрации эстрогенов в организме увеличивается и число промежуточных слоёв многослойного плоского неороговевающего эпителия во влагалище, что способствует увеличению концентрации глюкозы и гликогена, которые создают благоприятные условия для размножения *Candida albicans*. Причиной неспецифических вульвовагинитов могут являться такие микроорганизмы, как *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumonia* и другие подвиды, *Shigella, Moraxella catarrhalis, Yersinia entercolitica, Escherihia coli* и др. [5, 19]. Некоторые из этих микроорганизмов, например *Escherihia coli,* способны существовать в форме биоплёнок, что значительно усложняет лечение и способствует затяжному течению заболевания [67]. В масштабном исследовании влагалищной микробиоты 6110 девочек, проведённом А.А. Кушкаровой в 2018 г. в Казахстане, была выявлена связь развития вульвовагинита с выявлением в микробиоте представителей бактерий рода *Gardnerella* и *Eubacterium,* а также с количеством лактобацилл во влагалище и уровнем витамина D в организме девочек-подростков. Снижение количества лактобацилл во влагалище у девочек-подростков было одним из маркеров вульвовагинита [47]. По данным исследования, проведённого в США в 2014 г. и основанного на результатах бактериологического исследования микробиоты влагалища девочек препубертатного возраста с вульвовагинитом, у таких пациенток во влагалище преобладали бактерии рода *Enterococcus* (79 %) или *Escherichia coli* (79 %) [68].

Нарушения менструальной функции (аномальные маточные кровотечения, олигоменорея) у девочек-подростков в настоящее время регистрируются нередко (25–30 %) [6]. Нарушения, происходящие в гипоталамо-гипофизарной системе, затрагивают и органы- и ткани-мишени, в том числе и влагалище: изменяется качественный и количественный состав его микробиоты. Н.М. Воропаева и соавт. в 2018 г. в Иркутске провели исследование влагалищного биоценоза у 82 девочек-подростков 12–17 лет, проследив за изменениями представительства микроорганизмов в зависимости от наличия у обследованных нарушений менструальной функции. УПМ выделялась более чем в 80 % случаев, её содержание не зависело от содержания лактобактерий. Основные представители УПМ: коагулазоотрицательные стафилококки, *Escherichia coli,* непатогенные *Corynebacterium* spp. При дисменорее УПМ обнаруживалась у 83,3 % девочек, при олигоменорее – у 40 %, при аномальных маточных кровотечениях пубертатного периода – у 42 %. Было подтверждено, что главным признаком дисбиотических нарушений у девочек-подростков с нарушениями менструальной функции является снижение количества лактобактерий: у 66,6 % обследуемых с дисменореей, у 43,3 % с олигоменорей и у 26,6 % с аномальными маточными кровотечениями пубертатного периода. У части пациенток лактофлора не была идентифицирована при использовании только бактериологического метода исследования. Авторы подчёркивают необходимость более углублённого обследования девочек с диагностированными дисбиотическими нарушениями влагалищной микробиоты [25].

В современных публикациях имеются данные о наличии связи между нарушениями кишечного микробиома и аномальными маточными кровотечениями в подростковом возрасте [69].

ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение влагалищного биоценоза и его изменений при коморбидных заболеваниях в настоящие дни находится в центре внимания широкого круга специалистов клинического и диагностического профилей, так как нормальное функционирование микробиоты влагалища зависит от состояния иммунной системы, ЖКТ, мочевыводящих путей, репродуктивной системы девочки-подростка, экзогенных и эндогенных факторов, влияющих на их работу [51, 61–63]. Нарушение работы одной из этих систем неизменно вызывает нарушение биоценоза влагалища, которое в дальнейшем может привести к развитию дисбиоза влагалища и вульвовагинита [1, 3, 12, 57]. Дисбиоз влагалища и вульвовагинит в свою очередь являются факторами риска развития других заболеваний репродуктивной системы [5, 6].

Своевременное выявление факторов риска нарушений биоценоза влагалища, профилактика и лечение в детском и подростковом возрасте способствуют профилактике осложнений, связанных с дальнейшими беременностью и родами, профилактике многих экстрагенитальных заболеваний, улучшению качеству жизни девочки-подростка, а в будущем – женщины репродуктивного возраста. Установленная взаимосвязь состава микробиоты ЖКТ, мочевыводящих путей и влагалища подчёркивает важность восстановления состояния и коррекции

этих систем как одного из компонентов терапии различных гинекологических заболеваний.

В гинекологии детского и подросткового возраста до настоящего времени не сформировано понятие о нормальном биоценозе влагалище и его закономерных изменениях во времени [5, 6]. Отсутствуют клинические рекомендации и протоколы по ведению девочек с жалобами на патологические выделения из половых путей, клинической картиной вульвовагинита или дисбиоза влагалища. Определение понятия «нормы» влагалищного биоценоза у девочек различных возрастов, в том числе в подростковом периоде – залог своевременной и качественной диагностики вульвовагинита и дисбиоза. Правильная интерпретация истинной причины вульвовагинита или дисбиоза влагалища – залог адекватного, безопасного и эффективного лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый анализ данных литературы показывает, что данные вопросы нуждаются в дальнейших исследованиях. Несмотря на наличие представленных данных о качественном и количественном составе биоценоза влагалища у девочек-подростков и его изменениях, трудности в своевременной диагностике, лечении и профилактике дисбиотических состояний и воспалительных заболеваний вульвы и влагалища до настоящего времени остаются у каждого врача-гинеколога.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Меджидова М.К., Зайдиева З.С., Вересова А.А. Микробиоценоз влагалища и факторы, влияющие на его состояние. *Медицинский совет*. 2013; 5: 118-125. [Medzhidova MK, Zaydiyeva ZS, Veresova AA. Vaginal microbiocenosis and factors affecting its status. *Medical Council*. 2013; 5: 118-125. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2013-3-2-118-125

2. Уварова Е.В., Арюх А.В., Казакова А.В. Соотношение аэробной и анаэробной микрофлоры влагалища в различные периоды полового развития. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; 1: 124. [Uvarova EV, Aryukh AV, Kazakova AV. The ratio of aerobic and anaerobic vaginal microflora in different periods of sexual development. *Modern Problems of Science and Education*. 2017; 1: 124. (In Russ.)].

3. Гуркин Ю.А., Рухляда Н.Н. *Гинекология детского и подросткового возраста: руководство для врачей*. М.: МИА; 2019. [Gurkin YuA, Rukhlyada NN. *Gynecology of childhood and adolescence: A guide for physycians*. Moscow: MIA; 2019. (In Russ.)].

4. Уварова Е.В., Казакова А.В., Овчинникова А.О. Сравнительный анализ состава микробиоты влагалища у детей и неменструирующих подростков. *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. 2016; 5: 39-44. [Uvarova EV, Kazakova AV, Ovchinnikova AO. Comparative analysis of vaginal microflora in females in the neutral and prepubertal periods. *Pediatric and Adolescent Reproductive Health*. 2016; 5: 39-44. (In Russ.)].

5. Казакова А.В., Уварова Е.В., Лимарева Л.В. *Воспалительные заболевания вульвы и влагалища у девочек: прогнозирование и профилактика*. Чебоксары: ИД «Среда»; 2020. [Kazakova AV, Uvarova EV, Limareva LV. *Inflammatory diseases of the vulva and vagina in girls: Prognosis and prevention*. Cheboksary: Sreda; 2020. (In Russ.)]. doi: 10.31483/a-117

6. Sanfilippo JS, Lara-Torre E, Gomez-Lobo V (eds.). *Sanfilippo's textbook of pediatric and adolescent gynecology;* 2nd ed. CRC Press; 2019. doi: 10.1201/9781315147659

7. Исаева А.С., Летаров А.В., Ильина Е.Н., Боровская А.Д., Муравьёва В.В., Анкирская А.С. Видовая идентификация влагалищных лактобацилл, выделенных у женщин репродуктивного возраста. *Акушерство и гинекология*. 2012; 3: 60-64. [Isayeva AS, Letarov AV, Ilyina EN, Borovskaya AD, Muravyeva VV, Ankirskaya AS. Species identification of vaginal lactobacilli isolated in reproductive-age women. *Obstetrics and Gynecology*. 2012; 3: 60-64. (In Russ.)].

8. Батырова З.К., Уварова Е.В., Латыпова Н.Х. Особенности микробиоценоза слизистой оболочки влагалища у девочек с вульвовагинитом при использовании молекулярно-генетических методов диагностики. *Репродуктивное здоровье детей и подростков*. 2014; 4: 42-48. [Batyrova ZK, Uvarova EV, Latypova NKh. Vaginal mucosa microbiocenosis features in girls with vulvovaginitis in case of the use of molecular-genetic diagnostics methods. *Pediatric and Adolescent Reproductive Health*. 2014; 4: 42-48. (In Russ.)].

9. Hickey RJ, Zhou X, Settles ML, Erb J, Malone K, Hansmann MA, et al. Vaginal microbiota of adolescent girls prior to the onset of menarche resemble those of reproductive-age women. *mBio*. 2015;6(2):e00097-15. doi: 10.1128/mBio.00097-15

10. Thoma ME, Gray RH, Kiwanuka N, Aluma S, Wang MC, Sewankambo N, et al. Longitudinal changes in vaginal microbiota composition assessed by gram stain among never sexually active pre- and postmenarcheal adolescents in Rakai, Uganda. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2011; 24(1): 42-47. doi: 10.1016/j.jpag.2010.07.002

11. Токтар Л.Р., Михалева Л.М., Ли К.И., Пак В.Е., Мидибер К.Ю., Самсонова И.А., и др. Рецидивирующий вагинит как главный предиктор акушерской травмы промежности: поиск доказательств. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения*. 2023; S: 74-84. [Toktar LR, Mikhaleva LM, Lee KI, Pak VE, Midiber KYu, Samsonova IA, et al. Recurrent vaginitis as a major predictor of obstetric perineal injury: Searching for evidence. *Obstetrics and gynecology: News. Opinions. Training*. 2023; S: 74-84. (In Russ.)]. doi: 10.33029/2303-9698-2023-11-suppl-74-84

12. Чапанова В.Д., Янгельдина А.Ф., Митрофанова Н.Н. Микрофлора влагалища в норме и при патологии. *Вестник ПензГУ*. 2024; 1(45): 21-27. [Chapanova VD, Yangeldina AF, Mitrofanova NN. Vaginal microflora in normal and pathological conditions. *Vestnik of Penza State University*. 2024; 1(45): 21-27. (In Russ.)].

13. Кунгурцева Е.А., Лещенко О.Я., Данусевич И.Н., Попкова С.М., Шабанова Н.М., Немченко У.М., и др. Микроэкология влагалища женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями гениталий и нарушениями репродуктивной функции. *Acta biomedica scientifica*. 2013; 2(2): 197-201. [Kungurtseva EA, Leschenko OYa, Danusevich IN, Popkova SM, Shabanova NM, Nemchenko UM, et al. Vaginal microecology in women with the non-specific genital inflammatory diseases

and reproductive function disorders. *Acta biomedica scientifica*. 2013; 2(2): 197-201. (In Russ.)].

14. Sevil S, Kevser O, Aleattin U. An evaluation of the relationship between genital hygiene practices, genital infection. *Gynecol Obstet*. 2013; 3(6): 187. doi: 10.4172/2161-0932.1000187

15. DeMaria AL, Flores M, Hirth JM, Berenson AB. Complications related to pubic hair removal. *Am J Obstet Gynecol.* 2014; 210(6): 528.e1-5. doi: 10.1016/j.ajog.2014.01.036

16. Madan RP, Carpenter C, Fiedler T, Kalyoussef S, McAndrew TC, Viswanathan S, et al. Altered biomarkers of mucosal immunity and reduced vaginal *Lactobacillus* concentrations in sexually active female adolescents. *PLoS One.* 2012; 7(7): e40415. doi: 10.1371/journal.pone.0040415

17. Рычкова Л.В., Астахова Т.А., Бугун О.В, Храмова Е.Е. Особенности репродуктивного здоровья и репродуктивного поведения девушек, проживающих в Тофаларии. *Экология человека*. 2023; 5: 352-361. [Rychkova LV, Astakhova TA, Bugun OV, Khramova EE. Reproductive health and reproductive behavior of adolescent girls in Tofalaria. *Human Ecology*. 2023; 5: 352-361. (In Russ.)]. doi: 10.17816/humeco109241

18. Адилова Г.Р. Современные способы контроля репродуктивного здоровья девочек-подростков. *Экономика и социум*. 2024; 1(116): 715-718. [Adilova GR. Modern ways to control the reproductive health of adolescent girls. *Economy and Society.* 2024; 1(116): 715-718. (In Russ.)].

19. Linhares IM, Summers PR, Larsen B. Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204: 120.e1-120.e5. doi: 10.1016/j.ajog.2010.07.010

20. Bunnell RE, Dahlberg L, Rolfs R, Ransom R, Gershman K, Farshy C, et al. High prevalence and incidence of sexually transmitted diseases in urban adolescent females despite moderate risk behaviors. *J Infect Dis.* 1999; 180(5): 1624-1631. doi: 10.1086/315080

21. Adıbelli D, Kilinc N, Akpak YK, Kılıç D. Genital hygiene behaviors and associated factors in women living in rural areas of Turkey. *El Mednifico Journal*. 2014; (2): 210-214.

22. Tegegne TK, Sisay MM. Menstrual hygiene management and school absenteeism among female adolescent students in Northeast Ethiopia. *BMC Public Health.* 2014; 14: 1118. doi: 10.1186/1471-2458-14-1118

23. Казакова А.В., Спиридонова Н.В. Знания и навыки интимной гигиены по данным анкетирования у девочек младшей возрастной группы. *Репродуктивное здоровье детей и подростков.* 2017; 4(5): 85-90. [Kazakova AV, Spiridonova NV. Knowledge and skills of intimate hygiene according to the survey data in girls of the younger age group. *Pediatric and Adolescent Reproductive Health*. 2017; 4(5): 85-90. (In Russ.)].

24. Brusch JL, Bronze MS. Prevention of urinary tract infections in women. *Medscape.* 2017. URL: https://emedicine.medscape.com/article/1958794-overview [date of access: 28.10.2024].

25. Воропаева Н.М., Немченко У.М., Григорова Е.В., Храмова Е.Е., Иванова Е.И., Бугун О.В., и др. Особенности микроэкологии вагинального биотопа девочек-подростков с расстройствами менструаций. *Репродуктивное здоровье детей и подростков.* 2018; 1: 37-44. [Voropaeva NM, Nemchenko UM, Grigorova EV, Khramova EE, Ivanova EI, Bugun OV, et al. Microecological features of the vaginal biotope in teenage girls with menstrual disorders. *Pediatric and Adolescent Reproductive Health.* 2018; 1: 37-44. (In Russ.)].

26. Платонова А.Г., Козловская Н.А. Состояние вагинального биотопа у девочек-подростков с нарушением менструального цикла. *Репродуктивное здоровье детей и подростков.* 2020; 2(16): 53-60. [Platonova AG, Kozlovskaya NA. The vaginal biotope in adolescent girls with menstrual disorders. *Pediatric and Adolescent Reproductive Health.* 2020; 2(16): 53-60. (In Russ.)]. doi: 10.33029/1816-2134-2020-16-1-53-60

27. Камалова К.А., Ящук А.Г. Комбинированные оральные контрацептивы и вагинальное здоровье. *Медицинский вестник Башкортостана.* 2016; 3(63): 71-74. [Kamalova KA, Yashuk AG. Combined oral contraceptive pills and vaginal health. *Bashkortostan Medical Journal.* 2016; 3(63): 71-74. (In Russ.)].

28. Baeten JM, Nyange PM, Richardson BA, Lavreys L, Chohan B, Martin HL Jr, et al. Hormonal contraception and risk of sexually transmitted disease acquisition: Results from a prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 2001; 185(2): 380-385. doi: 10.1067/mob.2001.115862

29. Batashki I, Markova D, Milchev N, Uchikova E, Gŭrova A. Effect of oral contraceptives on vaginal flora. *Akush Ginekol (Sofiia).* 2006; 45(3): 49-51.

30. Gupta K, Hillier S, Hooton T. Effects of contraceptive method on the vaginal microbial flora: A prospective evaluation. *J Infect Dis.* 2000; 181: 595-601. doi: 10.1086/315267

31. Колесникова Л.И., Кунгурцева Е.А., Даренская М.А., Иванова Е.И., Лещенко О.Я., Михалевич И.М., и др. Выявление патогенетически значимых показателей микробиома при хроническом эндометрите у женщин с репродуктивными нарушениями. *Патогенез.* 2018; 16(3): 66-71. [Kolesnikova LI, Kungurtseva EA, Darenskaya MA, Ivanova EI, Leshchenko OYa, Mikhalevich IM, et al. Identifying pathogenetically important indicators of microbiome in chronic endometritis in women with reproductive disorders. *Pathogenesis.* 2018; 16(3): 66-71. (In Russ.)]. doi: 10.25557/2310-0435.2018.03.68-73

32. Попкова С.М., Ракова Е.Б., Храмова Е.Е., Данусевич И.Н., Шабанова Н.М., Сердюк Л.В., и др. Микроэкологические сочетания вагинального и кишечного биотопов у женщин с воспалительными заболеваниями нижнего этажа полового тракта и девочек-подростков с дисфункцией яичников. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2013; 4(33): 77-84. [Popkova SM, Rakova EB, Khramova EE, Danusevich IN, Shabanova NM, Serdyuk LV, et al. Microecological combinations of vaginal and intestinal biotopes in women with lower female reproductive tract inflammatory diseases and in adolescents girls with ovarian dysfunction. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2013; 4(33): 77-84. (In Russ.)].

33. Молчанов О.Л., Кира Е.Ф. Микроэкосистема влагалища. Особенности функционирования в норме. *Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга.* 2018; 1: 65-68. [Molchanov OL, Kira EF. Vaginal microecosystem. Features of normal functioning. *Obstetrics and Gynecology of St. Petersburg.* 2018; 1: 65-68. (In Russ.)].

34. Романица А.И., Немченко У.М., Погодина А.В., Григорова Е.В., Белькова Н.Л., Воропаева Н.М., и др. Ассоциации клинических проявлений функциональных кишечных расстройств с характеристиками микробиоты толстой кишки у подростков: пилотное исследование. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 2(6): 73-81. [Romanitsa AI, Nemchenko UM, Pogodina AV, Grigorova EV, Belkova NL, Voropaeva NM, et al. Associations of clinical manifestations of functional intestinal disorders with characteristics of the microbiota of the colon in adolescents: A pilot study. *Acta*

biomedica scientifica. 2021; 2(6): 73-81. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.6-2.8

35. Михайленко Е.Л., Горелов А.В., Ардатская М.Д., Усенко Д.В., Мурзина О.Б. Микроэкологические нарушения желудочно-кишечного тракта и репродуктивной системы при острых кишечных инфекциях у детей. *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. 2009; 2(3): 17-19. [Mikhailenko EL, Gorelov AV, Ardatskaya MD, Usenko DV, Murzina OB. Microecological disorders of the gastrointestinal tract and reproductive system in acute intestinal infections in children. *Gastroenterology of St. Petersburg*. 2009; 2(3): 17-19. (In Russ.)].

36. Fujimura KE, Sitarik AR, Havstad S, Lin DL, Levan S, Fadrosh D, et al. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat Med*. 2016; 22: 1187-1191. doi: 10.1038/nm.4176

37. Karlsson CL, Molin G, Cilio CM, Ahrné S. The pioneer gut microbiota in human neonates vaginally born at term – A pilot study. *Pediatr Res*. 2011; 70(3): 282-286. doi: 10.1203/PDR.0b013e318225f765

38. Trace SE, Baker JH, Penas-Lledo E, Bulik CM. The genetics of eating disorders. *Annu Rev Clin Psychol*. 2013; 9: 589-620. doi: 10.1146/annurev-clinpsy-050212-185546

39. Соловьева А.В. Нарушения биоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста. *StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак*. 2017; 2(38): 61-66. [Solovyova AV. Violations of vaginal biocenosis in women of reproductive age. *Status Praesens. Gynecology, Obstetrics, Infertile Marriage*. 2017; 2(38): 61-66. (In Russ.)].

40. Товстановская В.А., Алаторских А.Е., Парсай Фаранак. Оценка микрофлоры влагалища у женщин с бактериальным вагинозом после проведенного лечения с целью определения его эффективности. *Здоровье женщины*. 2016; 1(107): 154-159. [Tovstanskaya VA, Alatorskikh AE, Parsai Faranak. Evaluation of the vaginal microflora in women with bacterial vaginosis after treatment in order to determine its effectiveness. *Woman Health*. 2016; 1(107):154-159. (In Russ.)].

41. Чилова Р.А., Проклова Г.Ф., Гончаренко Н.В. Проблемы дифференциальной диагностики и лечения бактериального вагиноза. *РМЖ. Мать и дитя*. 2020; 3(1): 39-43. [Chilova RA, Proklova GF, Goncharenko NV. Differential diagnosis and treatment for bacterial vaginosis. *Russian Journal of Woman and Child Health*. 2020; 3(1): 39-43. (In Russ.)]. doi: 10.32364/2618-8430-2020-3-1-39-43

42. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486(7402): 207-214. doi: 10.1038/nature11234

43. Macklaim JM, Fernandes AD, Di Bella JM, Hammond JA, Reid G, Gloor GB. Comparative meta-RNA-seq of the vaginal microbiota and differential expression by *Lactobacillus iners* in health and dysbiosis. *Microbiome*. 2013; 1(1): 12. doi: 10.1186/2049-2618-1-12

44. Будиловская О.В., Шипицына Е.В., Герасимова Е.Н., Сафронова М.М., Савичева А.М. Видовое разнообразие вагинальных лактобацилл в норме и при дисбиотических состояниях. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2017; 2: 24-32. [Budilovskaya OV, Shipitsyna EV, Gerasimova EN, Safronova MM, Savicheva AM. Species diversity of vaginal lactobacilli in norm and in dysbiotic states. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2017; 2: 24-32. (In Russ.)].

45. Jespers V, van de Wijgert J, Cools P, Verhelst R, Verstraelen H, Delany-Moretlwe S, et al. The significance of *Lactobacillus crispatus* and *L. vaginalis* for vaginal health and the negative effect of recent sex: A cross-sectional descriptive study across groups of African women. *BMC Infect Dis*. 2015; 15: 115. doi: 10.1186/s12879-015-0825-z

46. Ворошилина Е.С., Зорников Д.Л., Плотко Е.Э. Нормальное состояние микробиоценоза влагалища: оценка с субъективной, экспертной и лабораторной точек зрения. *Вестник РГМУ*. 2017; 2: 42-46. [Voroshilina ES, Zornikov DL, Plotko EE. Normal vaginal microbiota: Patient's subjective evaluation, physical examination and laboratory tests. *Bulletin of RSMU*. 2017; 2: 42-46. (In Russ.)].

47. Кушкарова А.А. Особенности течения вульвовагинита у девочек и девушек-подростков, проживающих в экологически неблагоприятном регионе. *Global Science and Innovations 2018: Materials of the International Scientific Conference (Егер, Венгрия, 28 февраля 2018 г.)*. 2018; 547-553. [Kushkarova AA. Features of the course of vulvovaginitis in girls and adolescent girls living in an ecologically unfavorable region. *Global Science and Innovations 2018: Materials of the International Scientific Conference (Jaeger, Hungary, February 28, 2018)*. 2018; 547-553. (In Russ.)].

48. Габидуллина Р.И., Багирли Р.Р., Шарапова А.М., Галимьянова Э.И. Эффекты комбинированной оральной контрацепции на микробиоту влагалища. *Практическая медицина*. 2018; 6: 106-110. [Gabidullina RI, Bagirli RR, Sharapova AM, Galimyanova EI. Effects of combined oral contraceptives on vaginal microbiota. *Practical Medicine*. 2018; 6: 106-110. (In Russ.)]. doi: 10.32000/2072-1757-2018-16-6-106-110

49. Селихова М.С., Костенко Т.И., Смольянинов А.А. Рационализация терапии вагинальных инфекций – выбор гинеколога. *РМЖ. Мать и дитя*. 2022; 1(5): 41-45. [Selikhova MS, Kostenko TI, Smolyaninov AA. Rational therapy for vaginal infections is a gynecologist's choice. *Russian Journal of Woman and Child Health*. 2022; 1(5): 41-45. (In Russ.)]. doi: 10.32364/2618-8430-2022-5-1-41-45

50. Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Григорова Е.В., Данусевич И.Н. Микроорганизмы, ассоциированные с бактериальным вагинозом: разнообразие и клинико-диагностическое значение. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 17-30. [Voropaeva NM, Belkova NL, Nemchenko JM, Grigorova EV, Danusevich IN. Microorganisms associated with bacterial vaginosis: Diversity and clinical and diagnostic significance. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(3): 17-30. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS. 2021-6.3.2

51. Кунгурцева Е.А., Колесникова Л.И., Даренская М.А., Иванова Е.И., Туник Т.В., Немченко У.М., и др. Патогенный потенциал микробиоты различных биотопов женщин с репродуктивными нарушениями и хроническим эндометритом. *Журнал инфектологии*. 2018; S2-1: 67. [Kungurtseva EA, Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Ivanova EI, Tunik TV, Nemchenko UM, et al. Pathogenic potential of the microbiota of various biotopes of women with reproductive disorders and chronic endometritis. *Journal Infectology*. 2018; S2-1: 67. (In Russ.)].

52. Лещенко О.Я. Хронический эндометрит и репродуктивные нарушения: версии и контраверсии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 3(19): 166-176. [Leshchenko OYa. Chronic endometritis and reproductive disorders: Versions and contraversions (review). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 3(19): 166-176. (In Russ.)]. doi: 10.20538/1682-0363-2020-3-166-176

53. Набока Ю.Л., Коган М.И., Гудима И.А., Митусова Е.В., Джалагония К.Т., Иванов С.Н. Существует ли взаимосвязь между микробиотой мочи, влагалища и кишечника при инфекции верхних мочевых путей? *Вестник урологии.* 2019; 1(7): 38-45. [Naboka YL, Kogan MI, Gudima IA, Mitusova EV, Dzhalagoniya KT, Ivanov SN. Is there a relationship between the urine, vagina, and gut microbiota in patients with an infection of the upper urinary tract? *Urology Herald*. 2019; 1(7): 38-45. (In Russ.)]. doi: 10.21886/2308-6424-2019-7-1-38-45

54. Meštrović T, Matijašić M, Perić M, Čipčić Paljetak H, Barešić A, Verbanac D. The role of gut, vaginal, and urinary microbiome in urinary tract infections: From bench to bedside. *Diagnostics.* 2021; 11(1): 7. doi: 10.3390/diagnostics11010007

55. Зайцев А.В., Аполихина И.А., Ходырева Л.А., Берников А.Н., Куприянов Ю.А., Строганов Р.В., и др. Роль нарушения микробиоты влагалища в патогенезе рецидивирующей инфекции нижних мочевыводящих путей: современный взгляд на проблему. *Акушерство и гинекология.* 2021; 5: 40-46. [Zaitsev AV, Apolikhina IA, Khodyreva LA, Bernikov AN, Kupriyanov YuA, Stroganov RV, et al. Role of abnormal vaginal microbiota in the pathogenesis of recurrent lower urinary tract infection: A modern view of the problem. *Obstetrics and Gynecology.* 2021; 5: 40-46. (In Russ.)]. doi: 10.18565/aig.2021.5.40-46

56. Кульчавеня Е.В., Бреусов А.А. Рецидивирующий цистит и бактериальный вагиноз: как избежать полипрагмазии. *Гинекология.* 2020; 4(22): 17-21. [Kulchavenya EV, Breusoff AA. Recurrent cystitis and bacterial vaginosis: How to avoid polypharmacy. *Gynecology.* 2020; 4(22): 17-21. (In Russ.)]. doi: 10.26442/20795696.2020.4.200275

57. Jackson EC. Urinary tract infections in children: Knowledge updates and a salute to the future. *Pediatr Rev.* 2015; 36(4): 153-166. doi: 10.1542/pir.36-4-153

58. Косова И.В., Барсегян В.А., Синякова Л.А., Лукьянов И.В., Колбасов Д.Н. Дисбиоз влагалища как фактор риска развития рецидивирующих инфекций нижних мочевых путей. *Вестник урологии.* 2023; 1: 34-41. [Kosova IV, Barsegian VA, Sinyakova LA, Lukianov IV, Kolbasov DN. Vaginal dysbiosis as a factor contributing to the development of recurrent lower urinary tract infections. *Urology Herald*. 2023; 1: 34-41. (In Russ.)]. doi: 10.21886/2308-6424-2023-11-1-34-41

59. Деревянко Т.И., Придчин С.В., Рыжкова Э.В. Противовоспалительная терапия инфекций нижних мочевых путей у пациенток с заболеваниями дистальной уретры. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2021; 2(14): 100-104. [Derevyanko TI, Pridchin SV, Ryzhkova EV. Anti-inflammatory therapy of lower urinary tract infection in patients with distal urethral diseases. *Experimental and Clinical Urology*. 2021; 2(14): 100-104. (In Russ.)]. doi: 10.29188/2222-8543-2021-14-2-100-104

60. Годовалов А.П., Карпунина Н.С., Карпунина Т.И. Микробиота кишечника и влагалища женщин со вторичным бесплодием и заболеваниями желудочно-кишечного тракта. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2016; 6(130): 109-113. [Godovalov AP, Karpunina NS, Karpunina TI. Microbiota of the intestine and vagina of women with secondary infertility and diseases of the gastrointestinal tract. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2016; 6(130): 109-113. (In Russ.)].

61. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 2017; 474(11): 1823-1836. doi: 10.1042/BCJ20160510

62. Веселова Е.Н., Асланов А.М., Чеботарева Ю.Ю., Алексеев Е.Е., Ковтуненко С.Б. Проблема коморбидности при заболеваниях желудочно-кишечного тракта у женщин: пути решения. *Южно-Российский журнал терапевтической практики.* 2023; 1(4): 40-45. [Veselova EN, Aslanov AM, Chebotareva YuYu, Alekseev EE, Kovtunenko SB. The problem of comorbidity in diseases of the gastrointestinal tract in women: solutions. *South Russian Journal of Therapeutic Practice*. 2023; 1(4): 40-45. (In Russ.)]. doi: 10.21886/2712-8156-2023-4-1-40-45

63. Толстова А.С., Морозов М.В., Родин О.В., Фазилов Н.А., Кох А.А., Безжонова А.А. Синдромом поликистозных яичников и их взаимосвязь с микробиотой кишечника и влагалища (Обзор литературы). *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки.* 2021; 5: 206-214. [Tolstova AS, Morozov MV, Rodin OV, Fazilov NA, Kokh AA, Bezzhonova AA. Polycystic ovary syndrome and their relationship with gut and vaginal microbiota (literature review). *Modern Science: Actual Problems of Theory and Practice. Series: Natural and Technical Sciences.* 2021; 5: 206-214. (In Russ.)]. doi: 10.37882/2223-2966.2021.05.29

64. Suturina L, Belkova N, Igumnov I, Lazareva L, Danusevich I, Nadeliaeva I, et al. Polycystic ovary syndrome and gut microbiota: Phenotype matters. *Life.* 2023; 13(1): 7. doi: 10.3390/life13010007

65. Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol.* 2015; 33(9): 496-503. doi: 10.1016/j.tibtech.2015.06.011

66. Laschke MW, Menger MD. The gut microbiota: A puppet master in the pathogenesis of endometriosis? *Am J Obstet Gynecol.* 2016; 215(1): 68.e1-68.e4. doi: 10.1016/j.ajog.2016.02.036

67. Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Носкова О.А., Чемезова Н.Н., Кунгурцева Е.А., и др. Способность к биопленкообразованию у возбудителей инфекций, выделенных от пациентов крупного многопрофильного детского стационара. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2020; 1: 32-35. [Savilov ED, Markova YA, Nemchenko UM, Noskova OA, Chemezova NN, Kungurtseva EA, et al. Ability to biofilm formation in infectious agents isolated from patients of a large general children's hospital. *Pacific Medical Journal*. 2020; 1: 32-35. (In Russ.)]. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35

68. Gorbachinsky I, Sherertz R, Russell G, Krane L, Hodges S. Altered perineal microbiome is associated with vulvovaginitis and urinary tract infection in preadolescent girls. *Ther Adv Urol.* 2014; 6: 224-229.

69. Шогирадзе Л.Д., Суворова А.А. Кишечный микробиоценоз у девочек с аномальными маточными кровотечениями. *Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга.* 2019; 1: 57-61. [Shoghiradze LD, Suvorova AA. Intestinal microbiocenosis in girls with abnormal uterine bleeding. *Obstetrics and Gynecology of St. Petersburg*. 2019; 1: 57-61. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Ахметова Марина Юрьевна – ассистент кафедры акушерства и гинекологии с курсом гинекологии детей и подростков, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России; соискатель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: marina.cookies@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-0824-001X

Флоренсов Владимир Вадимович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии с курсом гинекологии детей и подростков, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: florensov.v@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8660-1971

Лещенко Ольга Ярославна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела научных технологий, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: loyairk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5335-1248

Баряева Ольга Евгеньевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии с курсом гинекологии детей и подростков, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: barol@bk.ru, https://orcid.org/0000-0001-7237-0930

Колесникова Любовь Ильинична – профессор, доктор медицинских наук, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0003-3354-2992

Information about the authors

Marina Yu. Akhmetova – Teaching Assistant at the Department of Obstetrics and Gynecology with a Course of Pediatric and Adolescent Gynecology, Irkutsk State Medical University; Applicant, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: marina.cookies@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-0824-001X

Vladimir V. Florensov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology with a Course of Pediatric and Adolescent Gynecology, Irkutsk State Medical University, e-mail: florensov.v@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8660-1971

Olga Ya. Leshchenko – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Department of Medical Technologies, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: loyairk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5335-1248

Olga E. Baryaeva – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology with a Course of Pediatric and Adolescent Gynecology, Irkutsk State Medical University, e-mail: barol@bk.ru, https://orcid.org/0000-0001-7237-0930

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Scientific Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0003-3354-2992

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ
BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ИЛИ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ В ВЫБОРЕ ЛЕЧЕНИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Такоева Е.А. [1, 2],
Кокаев Р.И. [1, 2],
Ислаев А.А. [1, 2]

[1] Институт биомедицинских исследований – филиал ФГБУН ФНЦ «Владикавказский научный центр Российской академии наук» (363110, РСО-Алания, Пригородный район, с. Михайловское, ул. Вильямса, 1, Россия)
[2] ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России (362019, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Такоева Елена Астановна,
e-mail: elena_takoeva@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Ревматоидный артрит (РА) – это длительное аутоиммунное заболевание, характеризующееся системной иммуновоспалительной реакцией, приводящей к отёку суставов, синовиальной гиперплазии, повреждению хрящей и костной ткани. Эффективного лечения данного заболевания в настоящее время не существует.*

Цель обзора литературы. *Анализ описанных на сегодняшний день механизмов, лежащих в основе эффектов мезенхимальных стволовых клеток (МСК) и внеклеточных везикул (ВВ) на патогенетические звенья ревматоидного артрита.*

Материалы и методы исследования. *Проанализированы базы данных PubMed и eLibrary за период 2011–2023 гг. с использованием следующих ключевых слов: ревматоидный артрит; гемопоэтические стволовые клетки; мезенхимальные стволовые клетки; ревматоидный фактор; внеклеточные везикулы; клеточная терапия.*

Результаты и обсуждение. *В обзоре описаны современные аспекты этиологии и патогенеза ревматоидного артрита, его потенциальные биомаркеры и известные на сегодняшний день терапевтические стратегии. Изучено влияние МСК на Т- и В-лимфоциты, а также на других клеточных участников заболевания в экспериментальных и клинических исследованиях. Обзор расширяет понимание картины механизмов терапевтического воздействия постнатальных прогениторных клеток и их внеклеточных везикул в лечении ревматоидного артрита, что в аспекте сравнения открывает преимущества и недостатки каждого метода. Можно сделать вывод о том, что МСК и ВВ являются перспективным направлением в лечении ревматоидного артрита, однако необходимы дальнейшие исследования взаимодействий молекул, влияющих на звенья патогенеза РА. Также необходимы дополнительные исследования, построенные на патогенетически ранжированном подходе в терапии заболевания, позволяющем выявить закономерности эффектов каждого метода с последующей рекомендацией в выборе применения прогенитоных клеток или, преимущественно, их секретома в персонифицированной терапии РА, а также необходимо более детальное изучение дозировки, времени и способа их введения.*

Ключевые слова: *ревматоидный артрит, мезенхимальные стволовые клетки, ревматоидный фактор, внеклеточные везикулы, клеточная терапия*

Статья поступила: 23.01.2024
Статья принята: 10.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Такоева Е.А., Кокаев Р.И., Ислаев А.А. Мезенхимальные стволовые клетки или внеклеточные везикулы в выборе лечения ревматоидного артрита. *Acta biomedica scientifica.* 2025; 10(1): 25-37. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.3

MESENCHYMAL STEM CELLS OR EXTRACELLULAR VESICLES IN THE CHOICE OF RHEUMATOID ARTHRITIS TREATMENT

Takoeva E.A. [1, 2],
Kokaev R.I. [1, 2],
Islaev A.A. [1, 2]

[1] Institute of Biomedical Research – Branch of the Vladikavkaz Scientific Center, Russian Academy of Sciences (Vilyamsa str. 1, Mikhailovskoye village 363110, Prigorodnyi district, North Ossetia–Alania, Russian Federation)
[2] North Ossetian State Medical Academy (Pushkinskaya str. 40, Vladikavkaz 362019, Russian Federation)

Corresponding author:
Elena A. Takoeva,
e-mail: elena_takoeva@mail.ru

ABSTRACT

Background. *Rheumatoid arthritis (RA) is a long-term autoimmune disease characterized by a systemic immuno-inflammatory reaction leading to joint edema, synovial hyperplasia, damage to cartilage and bone tissue. There is currently no effective treatment for this disease.*
The aim of the literature review. *To analyze the mechanisms described to date that underlie the effects of mesenchymal stem cells (MSC) and extracellular vesicles (EV) on the pathogenetic links of rheumatoid arthritis.*
Materials and methods. *PubMed and eLibrary databases for the period 2011–2023 were analyzed using keywords: rheumatoid arthritis, hematopoietic stem cells, mesenchymal stem cells, rheumatoid factor, extracellular vesicles, cell therapy.*
Results and discussion. *The review describes current aspects of the etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis, its potential biomarkers and currently known therapeutic strategies. The effect of MSC on T and B lymphocytes, as well as other cellular participants in the disease, has been studied in experimental and clinical studies. The review expands the understanding of the mechanisms of therapeutic effects of postnatal progenitor cells and their extracellular vesicles in the treatment of rheumatoid arthritis, which, in terms of comparison, reveals the advantages and disadvantages of each method. It can be concluded that MSC and EV are a promising direction in the treatment of rheumatoid arthritis, however, further studies of the interactions of molecules affecting the links of the pathogenesis of RA are needed. Additional studies based on a pathogenetically ranked approach to the treatment of the disease are also necessary, which allows to identify the patterns of effects of each method with subsequent recommendation in choosing the use of progenitor cells or, mainly, their secretome in personalized RA therapy, and a more detailed study of the dosage, time and method of their administration is also necessary.*

Key words: *rheumatoid arthritis, mesenchymal stem cells, rheumatoid factor, extracellular vesicles, cell therapy*

Received: 23.01.2024
Accepted: 10.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Takoeva E.A., Kokaev R.I., Islaev A.A. Mesenchymal stem cells or extracellular vesicles in the choice of rheumatoid arthritis treatment. *Acta biomedica scientifica.* 2025; 10(1): 25-37. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.3

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день одним из распространённых хронических воспалительных системных аутоиммунных заболеваний является ревматоидный артрит (РА), поражающий синовиальные суставы. При отсутствии компетентного лечения РА может приводить к прогрессирующим множественным суставным и внесуставным поражениям [1]. Распространённость составляет от 0,4 % до 1,3 % населения в зависимости от пола. В процентном соотношении женщины болеют значительно чаще мужчин [2]. При РА возникает прогрессирующее симметричное воспаление поражённых суставов, приводящее к разрушению хрящей, эрозиям костей и инвалидности. Первоначально поражаются лишь несколько суставов, но на более поздних стадиях наблюдаются множественные суставные поражения и часто возникают внесуставные симптомы [3]. Этиология РА на сегодняшний день до конца не изучена; всё же было доказано, что, как и в случае других аутоиммунных заболеваний, РА развивается у генетически предрасположенных лиц из-за сочетания генетических вариаций, эпигенетических модификаций и факторов окружающей среды, инициированных травмой или инфекцией [4]. Доказанными факторами риска развития РА являются курение, ожирение, воздействие ультрафиолетового излучения, половые гормоны, лекарства, изменения микробиома кишечника, рта и лёгких, заболевания пародонта и инфекции [5]. Учитывая этиопатогенетическую многофакторность РА, главным требованием к разрабатываемым средствам и методам терапии заболевания является возможное влияние на все или на большую часть звеньев развития РА, которому в значительной мере отвечает такое развивающееся направление медицины, как клеточные технологии и клеточная терапия. По данным множества исследований, различные стволовые клетки и их продукты обладают широким спектром действий: от выраженных иммуномодулирующих до способности ингибировать пролиферацию и активацию различных иммунных клеток. На основании этого мезенхимальные стволовые клетки (МСК) и продукты их секреции применяются в качестве терапевтических средств при различных клинических состояниях, включая аутоиммунные и воспалительные заболевания.

Исходя из цели исследования, в статье приводятся некоторые данные по современным представлениям об этиопатогенетических и молекулярных механизмах развития РА, лежащих в основе патогенеза, а также представлены исследования текущих терапевтических тенденций; проводится обобщение актуальной информации об опыте применения МСК и внеклеточных везикул этих прогениторных клеток в терапии заболевания, а также выделяются преимущества и недостатки использования данных методов в лечении РА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы базы данных PubMed и eLibrary за период 2011–2023 гг. с использованием следующих ключевых слов: ревматоидный артрит; мезенхимальные стволовые клетки; ревматоидный фактор; внеклеточные везикулы; клеточная терапия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ревматоидный артрит – хроническое воспалительное заболевание, патогенез которого не до конца выяснен. Однако существует ряд ключевых звеньев (рис. 1), вклад которых в развитие болезни доказан и которые рассматриваются как фундаментальные патогенетические механизмы. [6]. При этом следует учитывать, что иммунологические процессы могут протекать за много лет до того, как будут замечены симптомы воспаления суставов – так называемая фаза до РА [7].

РА проявляется воспалением синовиальной оболочки суставов [8], которое вызывается взаимодействием различных клеток иммунной системы, приводящим к их атаке на синовиоциты. Патологический процесс начинается с активации дендритных клеток (ДК), выделяющих интерлейкин (IL) 12 и IL-23, что стимулирует аутореактивные Т-хелперные (Th, T helper) клетки 1 и Th17 к продукции провоспалительных медиаторов – фактора некроза опухоли α (TNF-α, tumor necrosis factor α), IL-17, интерферона (IFN) γ и др. [1, 9]. Это приводит к рекрутированию нейтрофилов и макрофагов, поддерживающих воспаление секрецией провоспалительных цитокинов TNF-α, IL-1β и IL-6 [10]. Помимо этого, активированные Т-клетки стимулируют В-лимфоциты, которые начинают вырабатывать такие антитела, как рефматоидный фактор (РФ) и антитела к циклическому цитруллинированному белку (АЦЦП) [11]. Последний представляет собой иммуноглобулин, который вместе с IL-8 может приводить к пролиферации остеокластов и последующей эрозии костной ткани [12]. АЦЦП могут быть особенно патологичны, например при гипосиализации определённых фрагментов иммуноглобулина.

Кроме IL-8, продуцируемого активированными фибробластами, в воспалённых суставах играют роль и другие цитокины, стимулирующие разрушение костей и хрящевой ткани, например рецептор активатора лиганда ядерного фактора каппа-би [13]. IL-17A, продуцируемый Th17-лимфоцитами, помимо стимуляции секреции медиаторов воспаления и рекрутирования нейтрофилов и макрофагов, способствует неоангиогенезу, что приводит к гиперплазии синовиоцитов и их трансформации [14, 15].

Стимулированные нейтрофилы, помимо провоспалительной секреции, способствуют образованию большого количества свободных радикалов, что приводит к развитию окислительного стресса, усугубляющего повреждение синовиальной оболочки и суставных поверхностей [16].

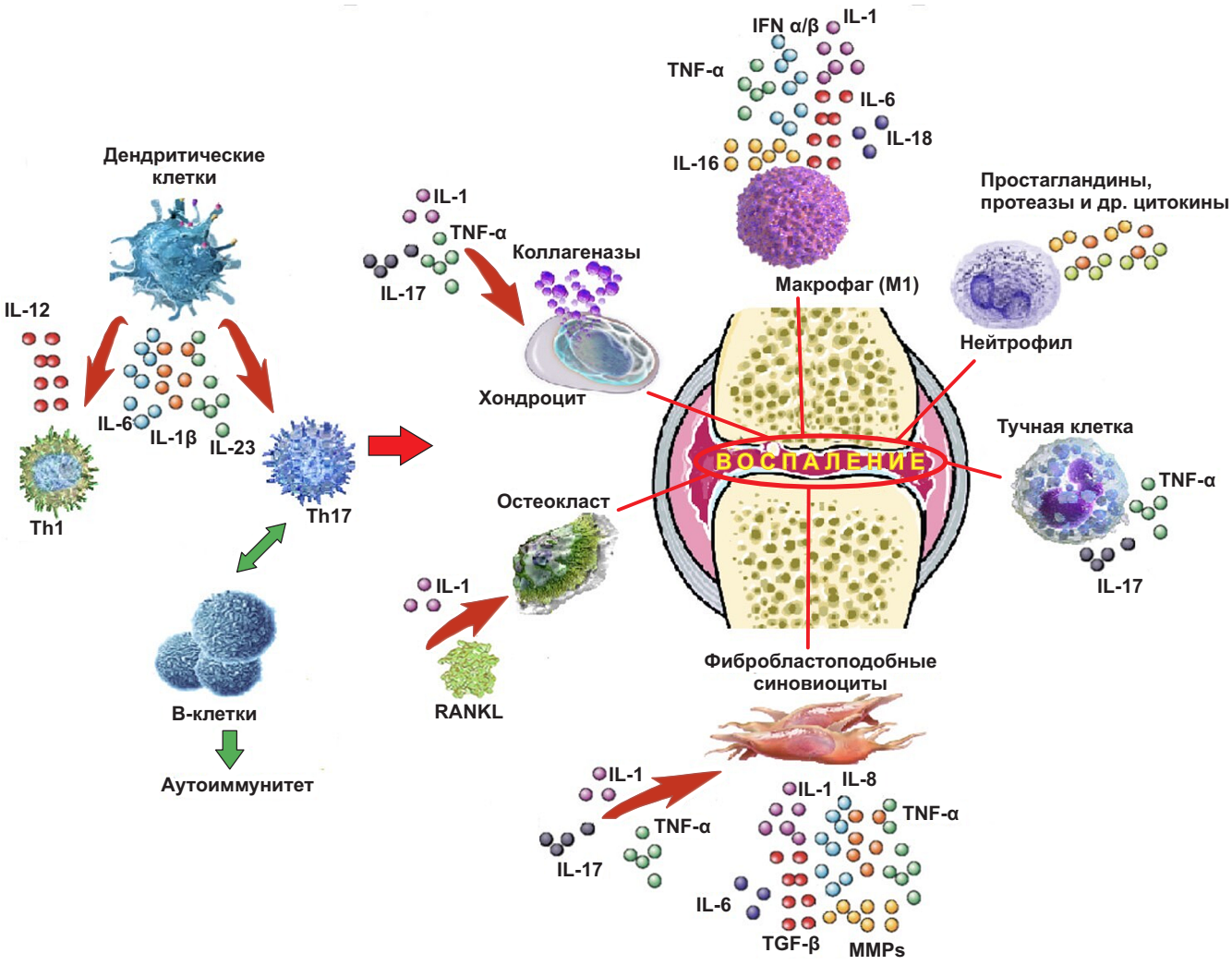


РИС. 1.
Патогенез ревматоидного артрита: IL – интерлейкин; IFN – интерферон; TNF-α – фактор некроза опухоли α; M1 – макрофаг 1; Th – Т-хелперы; RANKL – гликопротеин суперсемейства TNF, продуцируемый клетками остеобластической линии и активированными Т-лимфоцитами; TGF-β – трансформирующий фактор роста β; MMP – матриксные металлопротеиназы

FIG. 1.
Pathogenesis of rheumatoid arthritis: IL – interleukin; IFN – interferon; TNF-α – tumor necrosis factor α; M1 – macrophage 1; Th – T helper cells; RANKL – receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, TNF ligand superfamily glycoprotein produced by osteoblastic lineage cells and activated T lymphocytes; TGF-β – transforming growth factor β; MMP – matrix metalloproteinases

КОРОТКАЯ СПРАВКА О СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДАХ ЛЕЧЕНИЯ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Наиболее часто используемыми традиционными синтетическими противовоспалительными препаратами являются метотрексат и лефлуномид. На сегодняшний день они являются основой патогенетической терапии, но, несмотря на эффективность в лечении РА, возможно возникновение серьёзных побочных эффектов. В их число можно включить нефротоксичность, нейротоксичность, гематологическую, кожно-слизистую, желудочно-кишечную и лёгочную токсичность [17], что хорошо описано в инструкциях по применению данных препаратов.

Стандартные препараты, которые на сегодняшний день используются в лечении РА (нестероидные противовоспалительные препараты, глюкокортикоиды, синтетические базисные противовоспалительные препараты, генно-инженерные биологические препараты и таргетные синтетические базисные противовоспалительные препараты), могут вызывать развитие нежелательных лекарственных реакций. Это приводит к ухудшению течения болезни, что требует прекращения проводимой терапии. Учитывая даже тот факт, что новые стратегии в лечении сделали РА управляемым заболеванием, значительное число пациентов по-прежнему неудовлетворительно реагируют на проводимую терапию [18]. На основании вышеизложенного актуальным остаётся поиск новых инновационных терапевтических подходов в лечении РА [18].

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В ЛЕЧЕНИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

МСК представляют собой мультипотентные клетки, обладающие способностью к самообновлению и дифференцировке в различные типы клеток, что играет важную роль в иммуномодуляции и регенеративной терапии [19].

В последнее время клеточные стратегии, особенно введение МСК, были предложены в качестве нового и многообещающего терапевтического подхода. Иммунорегуляторные и регенеративные эффекты МСК позволяют по-новому взглянуть на лечение ревматических заболеваний. Было доказано, что МСК могут быть использованы для лечения РА благодаря их способности регулировать как врождённые, так и адаптивные иммунные клетки. МСК оказывают иммуносупрессивное действие на Т- и В-клетки, индуцируют больше регуляторных Т-клеток (Treg), способствуют М2-поляризации макрофагов, нарушают функцию ДК, а также снижают созревание и цитотоксичность естественных киллеров (рис. 2) [20]. Высокая эффективность терапии МСК была продемонстрирована в различных клинических исследованиях [21]. Ключевым механизмом, с помощью которого МСК проявляют свои эффекты, является продукция большого количества паракринных, а не контактно-зависимых медиаторов, при том, что МСК могут действовать как прямо, так и косвенно. Эти медиаторы включают факторы роста, цитокины, хемокины и т. д., среди которых внеклеточные везикулы (ВВ) являются одним из наиболее важных факторов, который может определять иммуномодулирующие и регенеративные эффекты МСК путём доставки биоактивных факторов, таких как белки, нуклеотиды, липиды и др. [22].

Описано, что МСК могут регулировать пролиферацию, дифференцировку и функцию Т-клеток и снижать выработку провоспалительных факторов. Введение человеческих МСК, полученных из жировой ткани, мышам с экспериментальным коллаген-индуцированным артритом ингибировало дифференцировку активированных $CD4^+$ Т-клеток в Th17-эффекторные клетки, продуцирующие IL-17, но индуцировало образование регуляторных Т-клеток (Tregs), которые секретируют IL-10 и значительно подавляют пролиферацию специфичных для коллагена 2-го типа Т-клеток, выработку цитокинов Th1 и Th17-лимфоцитов [23, 24]. Влияние МСК на баланс клеток Th17/Treg было опосредовано различными растворимыми молекулами, включая индоламин-пиррол 2,3-диоксигеназу (IDO, indoleamine-pyrrole 2,3-dioxygenase), IL-10, простагландин E2 (PGE2, prostaglandin E2) и оксид азота (NO, nitric oxide), а также переносом органелл [23]. Например, после совместного культивирования МСК костного мозга здоровых мышей и Th17 из мононуклеарных клеток периферической крови пациентов (PBMC, peripheral blood mononuclear cells) с РА пролиферация клеток Th17 и выработка IL-17 были ингибированы путём трансфера митохондрий из МСК костного мозга здоровых мышей в клетки Th17. При этом переход митохондрий из МСК костного мозга здоровых доноров был выше, чем из МСК, полученных из синовиальной оболочки пациентов с РА [25]. Исходя из вышесказанного становится видно, что терапевтический эффект МСК имеет зависимость от механизмов взаимодействия с клетками-участниками патологического процесса. Нами рассмотрены взаимодействия МСК с некоторыми основными участниками процесса, что описано ниже.

Мезенхимальные стволовые клетки и Т-фолликулярные хелперы

Одна из субпопуляций $CD4^+$ Т-хелперов – Т-фолликулярные хелперы (Tfh, T follicular helper) – способствует активации плазматических клеток и В-клеток памяти, повышая сродство к иммуноглобулину [26]. Более того, количество Tfh увеличивается и положительно коррелирует с выраженностью симптомов заболевания, а также с уровнем АЦЦП у пациентов с РА [23]. В исследовании H. Liu и соавт. (2020), проведённом на МСК пуповинной крови, было отмечено, что последние могут подавлять пролиферацию и активность Tfh посредством продукции IDO, спровоцированной IFN-γ *in vivo* и *in vitro*, тем самым облегчая прогрессирование РА, индуцированного коллагеновыми антителами [25].

Мезенхимальные стволовые клетки и популяция В-клеток

В-клетки выполняют ключевые функции в патогенезе аутоиммунных заболеваний благодаря выработке аутоантител, включая РФ и АЦЦП, секретируют цитокины и действуют как антигенпрезентирующие клетки, способствуя активации естественных клеток-киллеров (NK, natural killers), макрофагов и Т-клеток при РА [27]. МСК подавляют активность В-клеток, снижая выработку цитокинов BAFF (B-cell activating factor) и APRIL (A proliferation-inducing ligand), а также уменьшают экспрессию их рецепторов на поверхности В-клеток.

Угнетение пролиферации В-клеток сохранялось в течение одного года после терапии МСК. Продукция РФ также снижалась при наблюдении через 1, 6 и 12 месяцев после введения МСК, причём более выраженные результаты отмечались уже через полгода после трансплантации клеток. Кроме того, уровень АЦЦП значительно снизился через 12 месяцев после начала введения МСК [28]. В одном из исследований у пациентов с РА по сравнению со здоровыми людьми было обнаружено, что популяция «наивных» В-клеток была значительно снижена [29]. МСК могут также ингибировать выработку иммуноглобулинов в совместной культуре МСК + В-лимфоциты периферической крови [30].

ДК, макрофаги и NK являются важными участниками врождённого иммунного ответа и регулируются МСК при различных заболеваниях [31]. Однако их взаимодействие с МСК в РА практически не изучено. M.M. Rosado и соавт. доказали, что МСК ингибируют активацию М1 и индуцируют М2-поляризацию с помощью активации циклооксигеназы 2-го типа (ЦОГ-2), опосредованной TNF-α. Это сопровождалось отрицательной регуляцией нуклеотид-связывающего домена, секрецией IL-1β, опосредованной NLRP3-инфламмасомой, и продукцией каспазы 1 в макрофагах через петлю обратной связи с IL-1β [32].

Мезенхимальные стволовые клетки и Т-клетки памяти

Для создания максимально адекватной схемы лечения РА нужно обратить особое внимание на специфические разновидности Т-клеток. S. Pianta и соавт. показали, что использование среды кондиционирования, полученной в результате культивирования мезенхимальных клеток амниотической мембраны человека, ингибирует центральную (TCM, central memory T cells; $CD45RO^+$ $CD62L^-$) и эффекторную (TEM, effector memory T cells; $CD45RO^+$ $CD62L^-$) Т-клеточную память [33]. Высокая устойчивость патогенных Т-клеток памяти может быть основной причиной отсутствия положительного результата иммуномодулирующей терапии [34, 35]. Использование PBMC, активированных фитогемагглютинином (PHA, phytohaemagglutinin), показало, что МСК усиленно ингибируют пролиферацию TCM, TEM и эффекторных $CD4^+$ Т-клеток, а МСК, полученные из костного мозга и плаценты, способны снижать пролиферацию Т-клеток памяти [36, 37]. Снижение пролиферации Т-клеток также уменьшало продуцирование TNF-α, IL-2 и IFN-γ [38]. У больных РА в синовиальной жидкости и периферической крови обнаруживается большое число эффекторных Т-клеток памяти Vγ9Vδ2, которые способны секретировать воспалительные факторы (IFN-γ и IL-17), а также презентировать антигены [39]. МСК обладают мощной способностью подавлять пролиферацию γδ Т-клеток, их цитолитическую активность и продукцию ими цитокинов. Данный эффект обусловлен влиянием МСК и PGE2, образующегося посредством ЦОГ2-зависимого пути, через ингибирующие рецепторы EP2 и EP4, экспрессируемые в Т-клетках Vγ9Vδ2 [40]. Результаты позволяют предположить, что МСК оказывают благотворное влияние при РА благодаря своей способности предотвращать дисфункцию иммунного ответа, опосредованную γδ Т-клетками, путём уменьшения продукции воспалительных цитокинов и улучшения противовоспалительного ответа. Таким образом, все эти исследования, направленные на оценку ингибирующей способности МСК в отношении $CD4^+$ Т-клеток памяти человека, демонстрируют более сильный иммуномодулирующий эффект на субпопуляцию TCM-клеток.

МСК создают противовоспалительное микроокружение, секретируя растворимые факторы и опосредуя ответы, осуществляемые как врождёнными, так и адаптивными иммунными клетками [41, 42].

Активированные МСК способствуют экспрессии IL-10 и IDO, ослабляя функцию макрофагов M1 и поддерживая переход макрофагов в M2-тип [43]. Также M2-поляризации способствует снижение уровня синтазы оксида азота (iNOS, nitric oxide syntase), индуцируемой макрофагами M1 [44] (рис. 2).

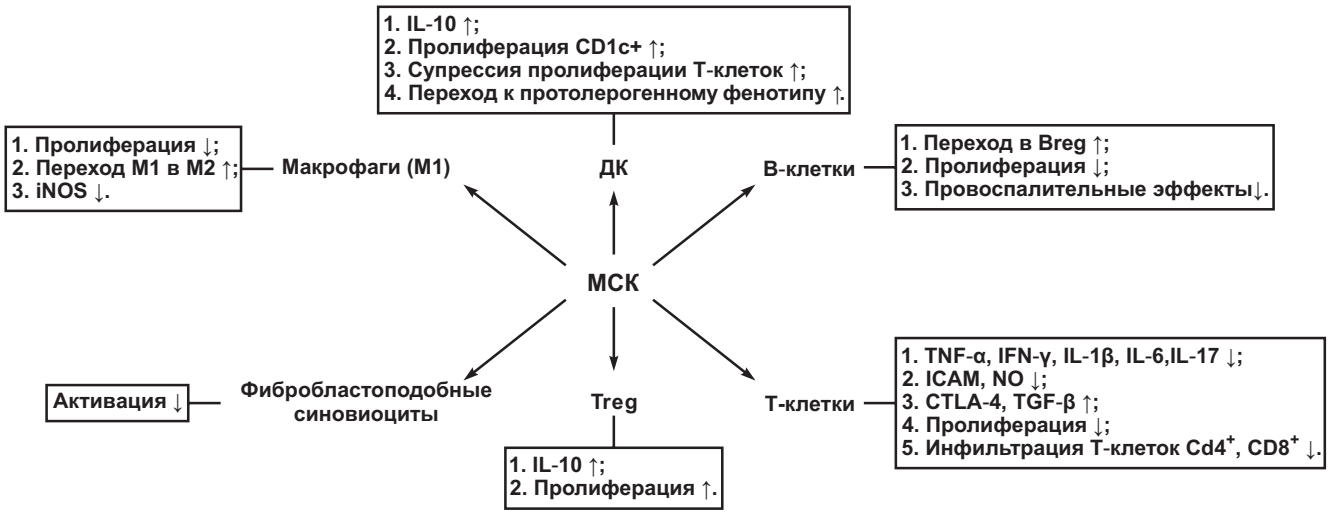


РИС. 2.

Иммунорегуляторные и регенеративные эффекты мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в лечении ревматических заболеваний: IL – *интерлейкин;* M1 – *макрофаг 1;* M2 – *макрофаг 2;* iNOS – *синтаза оксида азота;* ДК – *дендритные клетки;* Breg – *регуляторные B-клетки;* Treg – *регуляторные Т-клетки;* TNF-α – *фактор некроза опухоли α;* IFN – *интерферон;* ICAM-1 – *молекула клеточной адгезии 1, присутствует в низкой концентрации на мембранах лейкоцитов и эндотелиальных клеток, является лигандом интегринового рецептора LFA-1, обнаруживаемого на лейкоцитах, которые при активации связываются с эндотелием посредством комплекса ICAM-1/LFA-1 и проникают в ткань;* NO – *оксид азота;* CTLA-4 – *гликопротеин цитотоксических Т-лимфоцитов 4;* TGF-β – *трансформирующий фактор роста β*

FIG. 2.

Immunoregulatory and regenerative effects of mesenchymal stem cells (MCK) in the treatment of rheumatic disease: IL – *interleukin;* M1 – *macrophage 1;* M2 – *macrophage 2;* iNOS – *nitric oxide syntase;* ДК – *dendritic cells;* Breg – *regulatory B cells;* Treg – *regulatory T cells;* TNF-α – *tumor necrosis factor α;* IFN – *interferon;* ICAM-1 – *intracellular adhesion molecule 1, presents in low concentrations in the membranes of the leukocytes and endothelial cells, a ligand for LFA-1, found on leucocytes, which connect with endothelium by ICAM-1/LFA-1 complex and pass into the tissue;* NO – *nitric oxide;* CTLA-4 – *cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4;* TGF-β – *transforming growth factor β*

Толерогенные ДК ($CD1^+$) продуцируют высокие уровни IL-10 и подавляют пролиферацию Т-клеток. Обнаружено, что МСК пуповинной крови экспрессируют лиганд fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3L, fms-related tyrosine kinase 3 ligand), связанный с фибробластоподобными синовиоцитами (FLS, fibroblast-like synoviocyte), что способствует пролиферации толерогенных ДК и предотвращает их апоптоз, тогда как нокдаун FLT3L в МСК устраняет такой эффект. Это позволяет предположить необходимость присутствия FLT3L в МСК для осуществления иммуносупрессивной функции [45].

В адаптивных иммунных системах МСК ингибируют эффекторные Т- и В-клетки, повышают эффективность Tregs. МСК увеличивают соотношение Tregs/Th17 и подавляют накопление TNF-α, IFN-γ, IL-1β и IL-6. МСК опосредуют иммунорегуляторные реакции, частично регулируя ДК.

Также иммуносупрессивному эффекту МСК способствуют различные растворимые регуляторы. TNF-α является прайминговым фактором, запускающим иммуномодулирующий эффект МСК. Он в условиях воспаления стимулирует экспрессию молекулы клеточной адгезии 1 (ICAM-1, intracellular adhesion molecule 1), основного регулятора в МСК. TNFα-индуцированный белок 3 (TNFAIP3, TNFα-induced protein 3), фермент, модифицирующий убиквитин, участвует в поддержании иммунного гомеостаза и предотвращает аутоиммунные заболевания. TNFAIP3 в МСК ингибирует выработку TNF-α и способствует продукции IL-10 [46]. Обнаружено, что при РА экзосомы, полученные из МСК, подавляют активацию FLS, играющих ключевую роль в прогрессировании РА, через путь miR-143-3p/TNFAIP3/NF-κB, что подчёркивает значимость TNFAIP3 в угнетении провоспалительных реакций [46].

Фактор, индуцируемый гипоксией 1α (HIF-1α, hypoxia-inducible factor 1α) является метаболическим регулятором МСК. Выявлено, что подавление HIF-1α в МСК увеличивает соотношение Th17/Treg, что связано с метаболическими нарушениями и снижением количества иммуносупрессивных медиаторов (ICAM, IL-6 и NO) [47].

МСК также ограничивают воспалительные реакции посредством высвобождения митохондрий. Было доказано, что адоптивный перенос митохондрий, происходящий из МСК, увеличивает экспрессию транскрипционного фактора Т-клеток FOXP3 (forkhead box P3), CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4) и TGF-β (transforming growth factor β), которые участвуют в подавлении эффекторных Т-клеток. Кроме того, МСК оказывают подавляющую функцию на В-клетки. В исследовании, в ходе которого совместно культивировали МСК костного мозга и В-клетки, было обнаружено, что пролиферация последних ингибируется МСК за счёт остановки фазы G0/G1 клеточного цикла. МСК, угнетая функцию В-клеток, индуцируют выработку регуляторных В-клеток (Breg), которые секретируют IL-10 [48].

ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (МСК-ВВ)

Согласно современным исследованиям, терапевтическая эффективность МСК в значительной степени опосредована паракринными факторами, включая белки, липиды, микроРНК и матричные РНК (мРНК), высвобождаемые ВВ [49]. ВВ представляют собой наноразмерные сферические частицы липидной мембраны, содержащие белки, нуклеиновые кислоты, липиды и метаболиты, которые выполняют сложные функции в межклеточной коммуникации [50]. По происхождению, механизмам секреции и свойствам ВВ подразделяют на апоптотические тельца, микровезикулы (МВ) и экзосомы. Апоптотические тельца (50–5000 нм) высвобождаются умирающими клетками во внеклеточное пространство и содержат интактные органеллы, хроматин и небольшое количество гликозилированных белков. МВ (100–1000 нм) формируются из плазматических мембран. Экзосомы (30–150 нм) образуются внутрипросветными зачатками мультивезикулярных эндосом. ВВ могут быть выделены практически из всех типов клеток и обнаруживаются в жидкостях организма, таких как кровь, моча, слюна, амниотическая жидкость, а также спинномозговая жидкость и грудное молоко. Эти частицы также обнаруживаются в тканях и супернатантах клеточных культур. ВВ играют важную роль в различных биологических процессах, включая дифференцировку стволовых клеток, регуляцию иммунной системы, ангиогенеза, регенерации тканей и свёртывания крови, а также аутофагии и биологии репродуктивной системы [51]. Благоприятное терапевтическое воздействие МСК-ВВ доказано выявлением их антифибротических, антиапоптических, противовоспалительных и прогениторных действий. МСК-ВВ рассматриваются в рамках перспективной бесклеточной терапии из-за низкой иммуногенности [52]. Они более стабильны по своей природе, обладают большей способностью к прохождению через биологические барьеры по сравнению с МСК [53].

Биогенез экзосом осуществляется из эндосом: ранние эндосомы созревают в мультивезикулярные тельца и высвобождают свое содержимое в виде экзосом [22]. Экзосомы не имеют клеточной структуры и являются одновременно высокостабильными и неканцерогенными. Кроме того, к их преимуществам можно отнести клеточный и тканеспецифический хоуминг, отсутствие иммуногенности и тенденции к закупорке сосудов, что даёт им больше терапевтических преимуществ перед МСК. Поэтому бесклеточные методы лечения на основе экзосом широко изучаются в последнее время [54]. Керамиды, сфингомиелин, холестерин и различные липидные молекулы в изобилии присутствуют в экзосомных мембранах. Когда экзосомы высвобождаются в межклеточное пространство, они могут поглощаться клетками-реципиентами посредством эндоцитоза, либо взаимодействовать с ними с помощью лиганд-рецепторного комплекса, либо сливаться с их плазмолеммой.

Экзосомы состоят из таких молекул, как липиды, ферменты, нуклеиновые кислоты, белковые структуры и про- и противовоспалительные цитокины, которые могут предотвращать разложение микроРНК рибонуклеазами в жидкостях организма. Следовательно, микроРНК в экзосомах более многочисленны, чем в их родительских клетках и жидкостях организма [55].

После попадания экзосом в клетки-реципиенты высвобождаются микроРНК, целенаправленно подавляющие мРНК родственных белков, что меняет физиологические функции клеток-реципиентов [56]. Выявлено, что экзосомальная miR-320a, секретируемая из МСК костного мозга, может ингибировать активацию, миграцию и инвазию FLS *in vitro* путём угнетения лиганда CXCL9 [57, 58]. Уменьшение воспаления может осуществляться в том числе благодаря способности miR-34a, полученной из МСК-ВВ костного мозга, подавлять реализацию сигнального пути циклин I/ATM/ATR/p53. Также miR-34a может ингибировать пролиферацию FLS и активировать их апоптоз *in vitro* [59, 60]. Помимо этого, трансплантация miR-192-5p, полученной из МСК-ВВ костного мозга, может уменьшать деструкцию суставов и воспаление при РА у крыс и ингибировать воспалительные реакции *in vitro* [58]. Установлено, что *in vivo* экзосомальные miR-146a/miR-155, полученные из МСК костного мозга, стимулировали иммуномодулирующие эффекты у мышей с коллаген-индуцированным артритом за счёт повышения уровня Tregs и противовоспалительного действия цитокинов [59]. Высокая эффективность в лечении РА экзосомальных miR-150-5p, полученных из МСК костного мозга, была обусловлена подавлением ангиогенеза посредством влияния на матриксную металлопротеиназу (MMP) 14 и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, vasculare endothelial growth factor) *in vitro* [61, 62].

В исследовании, проведённом S. Cosenza и соавт., МСК-ВВ костного мозга оказывают иммуномодулирующие эффекты благодаря выраженному противовоспалительному действию на Т- и В-лимфоциты – снижение популяции $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток и увеличение количества Treg-клеток [63]. Таким образом, МСК-ВВ благодаря сочетанию своих свойств и противоревматическому действию являются привлекательным вариантом среди потенциальных способов лечения пациентов с РА.

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА (ЗА И ПРОТИВ)

Существует множество доклинических и клинических испытаний терапии РА на основе применения МСК. К примеру, сообщается, что внутривенная инфузия аллогенных МСК костного мозга и пуповины у небольшой группы пациентов с РА, резистентных к терапии моноклональными антителами против TNF-α, приводила к улучшению показателей по индексу DAS-28 (Disease Activity Score 28), снижению скорости оседания эритроцитов и уровня АЦЦП в сыворотке крови, что указывает на эффективность лечения МСК [54].

При сравнении результатов лечения РА у крыс с помощью МСК костного мозга, гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови человека и метотрексата первые оказались максимально эффективнее в снижении воспалительных реакций, что подтверждалось меньшей выраженностью отёка лап, окислительного стресса, более низким уровнем провоспалительных цитокинов, ядерного фактора-каппа B (NF-κB), экспрессии генов Толл-подобного рецептора 2-го типа, MMP-3 и хрящевого олигомерного матриксного белка 1 [64].

J.M. Álvaro-Gracia и соавт. оценили безопасность и переносимость внутривенного введения Cx611, препарата аллогенных стволовых клеток жировой ткани, у 53 пациентов с рефрактерным РА, где были получены предварительные данные об их клинической эффективности. Применение данного препарата в целом переносилось хорошо, без признаков дозозависимой токсичности в исследуемом периоде времени, с тенденцией к клиническому улучшению состояния пациентов [65]. В другом исследовании отмечались безопасность и эффективность применения МСК пуповины человека в лечении РА у большого числа пациентов [66]. В этом исследовании одновременное внутривенное введение МСК и противоревматических препаратов 172 пациентам с активным РА вызывало значительное увеличение процентного содержания Treg в крови вместе со значительным клиническим улучшением на срок до 6 месяцев. Более того, повторная инфузия МСК по истечении этого периода позволила увеличить терапевтическую эффективность клеток [66], что проявилось в снижении TNF-α и IL-6 в сыворотке крови уже после первого курса терапии и значительной ремиссии, согласно критериям Американского института ревматологии, а также по индексу DAS-28.

С увеличением числа исследований было обнаружено, что МСК играют иммуномодулирующую роль при многочисленных аутоиммунных заболеваниях посредством выработки растворимых факторов и переноса ВВ, содержащих молекулы-мессенджеры. В дополнение к иммунной регуляции МСК могут индуцировать остеогенную и хондрогенную дифференцировку и регулировать факторы воспаления, что делает их перспективными в терапии РА. В настоящее время большинство клинических испытаний МСК-терапии РА были сосредоточены на рефрактерных пациентах с РА, которые не реагировали на традиционную терапию противоревматическими препаратами. В последующем каких-либо серьёзных побочных эффектов, связанных с лечением МСК, у них обнаружено не было. Однако использование МСК в терапевтических процедурах всё ещё сталкивается со многими проблемами. В ряде исследований в экспериментах на животных было выявлено, что введение МСК приводит к повышению канцерогенного риска [65]. Более того, после внутривенной инфузии МСК могут выводиться периваскулярными макрофагами, что значительно ограничивает их персистенцию в тканях, а также может вызывать эмболию лёгочных артерий [66]. Кроме того, следует учитывать различный терапевтический потенциал МСК в зависимости от источника их получе-

ния. Так, сравнение влияния трёх различных типов МСК, введённых мышам с коллаген-индуцированным артритом, показало наибольшую терапевтическую эффективность МСК пуповинной крови, за которыми следовали МСК костного мозга [65].

Особенно важны исследования по определению дозировки и времени введения клеток. В настоящее время в большинстве исследований используются простые поэтапные методы для изучения взаимосвязи между эффективностью, дозой и временем. Факторы, включающие тип МСК, условия культивирования, время обработки, количество ввёденных клеток, способ инъекции и схему лечения, могут приводить к различным результатам.

По сравнению с лечением с помощью МСК, которые могут вызывать аномальную дифференцировку и образование опухоли, ВВ более эффективны, стабильны, безопасны в облегчении проявлений РА и обладают более широкими перспективами. Благодаря ряду преимуществ, включая способность проходить гематоэнцефалический барьер и их низкую иммуногенность, ВВ являются естественными переносчиками лекарственных средств и экзогенных нуклеиновых кислот, которые могут быть загружены в донорские клетки перед высвобождением во внеклеточную среду. Что ещё более важно, использование ВВ для переноса микроРНК может предотвратить их деградацию, позволяя микроРНК негативно регулировать экспрессию белка-мишени на посттранскрипционном уровне. МикроРНК, секретируемые МСК-ВВ, регулируют различные сигнальные пути, нацеливаясь на специфические белки, тем самым влияя на развитие РА, а следовательно, являются потенциальными биомаркерами для использования в новых бесклеточных терапевтических стратегиях при РА [67].

Хотя МСК-ВВ использовались в доклинических исследованиях РА, несколько вопросов всё ещё остаются нерешёнными. Во-первых, когда МСК из разных тканей находятся в различных состояниях дифференцировки, содержание и типы молекул, собранных в ВВ, могут отличаться, тем самым влияя на их функцию в клетках-реципиентах и вызывая изменения в физиологических

ТАБЛИЦА 1

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК И ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

TABLE 1

COMPARATIVE ASSESSMENT OF MESENCHYMAL STEM CELLS AND EXTRACELLULAR VESICLES OF MESENCHYMAL STEM CELLS FOR THERAPEUTIC APPLICATION

Свойства	Мезенхимальные стволовые клетки	Внеклеточные везикулы мезенхимальных стволовых клеток	Источники литературы
Безопасность			
Вероятность передачи инфекции	+++	+	[55, 66]
Иммуногенность (негативная)	++	-	[52]
Канцерогенность	+	-	[54, 66]
Тромбообразование и эмболизация сосудов	++	-	[54, 66]
Особенности производства			
Стандартизированные методы производства	+++	+	[54, 65, 66]
Сложность выделения и очистки	+	+++	[70]
Эффективность			
Стабильность и устойчивость к циклам замораживания-оттаивания	+	+++	[71]
Иммунорегуляторные свойства, модулирующие В-клетки, Т-клетки, дендритные клетки, макрофаги и т. д.	++	+++	[24, 31, 60, 61, 65, 72, 73]
Обмен органеллами	+++	–	[23, 25, 56]
Антионкогенный эффект (предотвращение онкогенеза хондроцитов)	+	+++	[74, 75]
Способность преодолевать гематоэнцефалический барьер	±	+++	[74, 75]
Регенерация повреждённых тканей при РА	+++	+	[76, 77]
Доставка лекарственных средств (как гидрофобных, так и гидрофильных веществ)	±	+++	[78]

процессах. Во-вторых, микроРНК не попадают случайным образом в ВВ, однако механизм сортировки, с помощью которого клетки корректируются и отбираются из материнских клеток, неизвестен. Как правило, сотни дифференциально экспрессируемых микроРНК могут быть обнаружены в МСК-ВВ путём секвенирования или анализа на микрочипах, однако ни в одном исследовании не проводилось профилирование экспрессии микроРНК на МСК-ВВ между РА и здоровыми индивидуумами [68]. В ходе исследования авторы обнаружили, что белки, факторы транскрипции и регуляторы трансляции, полученные из МСК-ВВ, вовлечены в механизм восстановления тканей в клетке-реципиенте. Необходимо дальнейшее изучение взаимодействий молекул, влияющих на РА. В-третьих, ВВ разделяют различными способами, без стандартов и с затратой времени [69].

Использование МСК-ВВ даёт несколько преимуществ: они обеспечивают стабильность и безопасность, предотвращая онкогенез, генетическую изменчивость и иммуногенность по сравнению с их родительскими клетками, а также допуская несколько модификаций их поверхности, что делает их перспективными в лечении РА (табл. 1). Кроме того, всё чаще исследуется возможность прекондиционирования МСК-ВВ фармакологическими препаратами и различными биомолекулами для увеличения таргетной терапевтической эффективности. В этом смысле некодирующие РНК (нкРНК) ВВ могут стать мощной стратегией в терапии РА, поскольку они регулируют многие биологические процессы и опосредуют межклеточную коммуникацию, регулируя экспрессию генов. Тем не менее, использование МСК-ВВ и их нкРНК всё ещё находится на начальной стадии исследований и разработок и сталкивается с серьёзными препятствиями и ограничениями. Основная задача, которую необходимо преодолеть, – это оптимизация методов стандартизации МСК-ВВ, крупномасштабного производства и очистки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Информация, собранная в данном обзоре, расширяет понимание картины механизмов терапевтического воздействия постнатальных прогениторных клеток и их внеклеточных везикул в лечении РА, что, в аспекте сравнения, раскрывает некоторые преимущества и недостатки каждого метода. На основании вышеизложенного можно судить о перспективности применения МСК и ВВ в лечении РА, однако необходимы дальнейшие исследования взаимодействий молекул, влияющих на звенья патогенеза РА, более детальное изучение дозировки, времени и способа введения. Также необходимы дополнительные исследования, построенные на патогенетически ранжированном подходе в терапии заболевания, позволяющем выявить закономерности эффектов каждого метода с последующей рекомендацией в выборе применения прогениторных клеток или, преимущественно, их секретома в персонифицированной терапии РА.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии потенциальных конфликтов интересов в отношении авторства и/или публикации этой статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lin YJ, Anzaghe M, Schülke S. Update on the pathomechanism, diagnosis, and treatment options for rheumatoid arthritis. *Cells.* 2020; 9(4): 880. doi: 10.3390/cells9040880

2. Jang S, Kwon EJ, Lee JJ. Rheumatoid arthritis: Pathogenic roles of diverse immune cells. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(2): 905. doi: 10.3390/ijms23020905

3. Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein GS, et al. Rheumatoid arthritis. *Nat Rev Dis Primers.*2018; 4: 18001. doi: 10.1038/nrdp.2018.1

4. Venetsanopoulou AI, Alamanos Y, Voulgari PV, Drosos AA. Epidemiology of rheumatoid arthritis: Genetic and environmental influences. *Expert Rev Clin Immunol.* 2022; 18(9): 923-931. doi: 10.1080/1744666X.2022.2106970

5. Edilova MI, Akram A, Abdul-Sater AA. Innate immunity drives pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Biomed J.* 2021; 44: 172-182. doi: 10.1016/j.bj.2020.06.010

6. Damerau A, Gaber T. Modeling rheumatoid arthritis *in vitro*: From experimental feasibility to physiological proximity. *Int J Mol Sci.* 2020; 21: 7916. doi: 10.3390/ijms21217916

7. Насонов Е.Л. Российские клинические рекомендации. Ревматология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020. [Nasonov EL. *Russian clinical guidelines. Rheumatology*. Moscow: GEOTAR-Media; 2020. (In Russ.)].

8. Клиппел Дж.Х., Стоун Дж.Х., Кроффорд Л.Дж., Уайт П.Х. (ред.). Ревматические заболевания: практическое руководство; в 3 т. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014; 2. [Klippel JH, Stone JH, Crofford LJ, White PH (eds). *Rheumatic diseases: practical guide;* 3 volumes. Moscow: GEOTAR-Media; 2014; 2. (In Russ.)].

9. Curran AM, Naik P, Giles JT, Darrah E. PAD enzymes in rheumatoid arthritis: Pathogenic effectors and autoimmune targets. *Nat Rev Rheumatol.* 2020; 16: 301-315. doi: 10.1038/s41584-020-0409-1

10. Aletaha D, Smolen JS. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis: A review. *JAMA.* 2018; 320(13): 1360-1372. doi: 10.1001/jama.2018.13103

11. Chemin K, Gerstner C, Malmström V. Effector functions of $CD4^+$ T cells at the site of local autoimmune inflammation-lessons from rheumatoid arthritis. *Front Immunol.* 2019; 10: 353. doi: 10.3389/fimmu.2019.00353

12. Kwon EJ, Ju JH. Impact of posttranslational modification in pathogenesis of rheumatoid arthritis: Focusing on citrullination, carbamylation, and acetylation. *Int J Mol Sci.* 2021; 22: 10576. doi: 10.3390/ijms221910576

13. Komatsu N, Win S, Yan M, Huynh NC, Sawa S, Tsukasaki M, et al. Plasma cells promote osteoclastogenesis and periarticular bone loss in autoimmune arthritis. *J Clin Investig.* 2021; 131: e143060. doi: 10.1172/JCI143060

14. Coutant F. Pathogenic effects of anti-citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis – role for glycosylation. *Joint Bone Spine.* 2019; 86(5): 562-567. doi: 10.1016/j.jbspin.2019.01.005

15. Jung SM, Kim KW, Yang CW, Park SH, Ju JH. Cytokine-mediated bone destruction in rheumatoid arthritis. *J Immunol Res.* 2014; 2014: 263625. doi: 10.1155/2014/263625

16. Robert M, Miossec P. IL-17 in rheumatoid arthritis and precision medicine: From synovitis expression to circulating bioactive levels. *Front Med (Lausanne)*. 2019; 14(5): 364. doi: 10.3389/fmed.2018.00364

17. Elshabrawy HA, Chen Z, Volin MV, Ravella S, Virupannavar S, Shahrara S. The pathogenic role of angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Angiogenesis.* 2015; 18(4): 433-448. doi: 10.1007/s10456-015-9477-2

18. Mueller AL, Payandeh Z, Mohammadkhani N, Mubarak SMH, Zakeri A, Alagheband Bahrami A, et al. Recent advances in understanding the pathogenesis of rheumatoid arthritis: New treatment strategies. *Cells.* 2021; 10(11): 3017. doi: 10.3390/cells10113017

19. Singh JA. Treatment guidelines in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am*. 2022; 48(3): 679-689. doi: 10.1016/j.rdc.2022.03.005

20. Debreova M, Culenova M, Smolinska V, Nicodemou A, Csobonyeiova M, Danisovic L. Rheumatoid arthritis: From synovium biology to cell-based therapy. 2022; 24: 365-375. doi: 10.1016/j.jcyt.2021.10.003

21. Jasim SA, Yumashev AV, Abdelbasset WK, Margiana R, Markov A, Suksatan W. Shining the light on clinical application of mesenchymal stem cell therapy in autoimmune diseases. *Stem Cell Ther*. 2022; 13(1): 101. doi: 10.1186/s13287-022-02782-7

22. Yang JH, Liu FX, Wang JH, Cheng M, Wang SF, Xu DH. Mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: Potential roles in rheumatic diseases. *World J Stem Cells.* 2020; 12(7): 688-705. doi: 10.4252/wjsc.v12.i7.688

23. Jiang Q, Yang G, Liu Q, Wang S, Cui D. Function and role of regulatory T cells in rheumatoid arthritis. *Front Immunol.* 2021; 12: 626193. doi: 10.3389/fimmu.2021.626193

24. Sarsenova M, Issabekova A, Abisheva S, Rutskaya-Moroshan K, Ogay V, Saparov A. Mesenchymal stem cell-based therapy for rheumatoid arthritis. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(21): 11592. doi: 10.3390/ijms222111592

25. Liu H, Li R, Liu T, Yang L, Yin G, Xie Q. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in rheumatoid arthritis. *Front Immunol.* 2020; 11: 1912. doi: 10.3389/fimmu.2020.01912

26. Luz-Crawford P, Hernandez J, Djouad F, Luque-Campos N, Caicedo A, Carrere-Kremer S, et al. Mesenchymal stem cell repression of Th17 cells is triggered by mitochondrial transfer. *Stem Cell Res Ther.* 2019; 10: 232. doi: 10.1186/s13287-019-1307-9

27. Vasilev G, Ivanova M, Ivanova-Todorova E, Tumangelova-Yuzeir K, Krasimirova E, Stoilov R, et al. Secretory factors produced by adipose mesenchymal stem cells downregulate Th17 and increase Treg cells in peripheral blood mononuclear cells from rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int.* 2019; 39: 819-826. doi: 10.1007/s00296-019-04296-7

28. Song W, Craft J. T follicular helper cell heterogeneity: Time, space, and function. *Immunol Rev.* 2019; 288: 85-96. doi: 10.1111/imr.12740

29. Yap HY, Tee SZY, Wong MMT, Chow SK, Peh SC, Teow SY. Pathogenic role of immune cells in rheumatoid arthritis: Implications in clinical treatment and biomarker development. Cells. 2018; 7: 161. doi: 10.3390/cells7100161

30. Gowhari Shabgah A, Shariati-Sarabi Z, Tavakkol-Afshari J, Ghasemi A, Ghoryani M, Mohammadi M. A significant decrease of BAFF, APRIL, and BAFF receptors following mesenchymal stem cell transplantation in patients with refractory rheumatoid arthritis. *Gene.* 2020; 732: 144336. doi: 10.1016/j.gene.2020.144336

31. Gaugler B, Laheurte C, Bertolini E, Pugin A, Wendling D, Saas P, et al. Peripheral blood B cell subsets and BAFF/APRIL levels and their receptors are disturbed in rheumatoid arthritis but not in ankylosing spondylitis. *J Clin Cell Immunol*. 2013; 4: 2. doi: 10.4172/2155-9899.1000163

32. Rosado MM, Bernardo ME, Scarsella M, Conforti A, Giorda E, Biagini S, et al. Inhibition of B-cell proliferation and antibody production by mesenchymal stromal cells is mediated by T cells. *Stem Cells Dev.* 2015; 24(1): 93-103. doi: 10.1089/scd.2014.0155

33. Pianta S, Bonassi Signoroni P, Muradore I, Rodrigues MF, Rossi D, Silini A, et al. Amniotic membrane mesenchymal cells-derived factors skew T cell polarization toward Treg and downregulate Th1 and Th17 cells subsets. *Stem Cell Rev Rep.* 2015; 11: 394-407. doi: 10.1007/s12015-014-9558-4

34. Zhou X, Jin N, Wang F, Chen B. Mesenchymal stem cells: A promising way in therapies of graft-versus-host disease. *Cancer Cell Int.* 2020; 20: 114. doi: 10.1186/s12935-020-01193-z

35. Liu H, Li R, Liu T, Yang LYi, Yin G, Xie QB. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in rheumatoid arthritis. *Front Immunol*. 2020; 11: 1912. doi: 10.3389/fimmu.2020.01912

36. Afzali B, Mitchell PJ, Scottà C, Canavan J, Edozie FC, Fazekasova H, et al. Relative resistance of human $CD4^+$ memory T cells to suppression by $CD4^+$, $CD25^+$ regulatory T cells: Memory cells as barriers to Treg-cell therapy. *Am J Transpl.* 2011; 11: 1734-1742. doi: 10.1111/j.1600-6143.2011.03635.x

37. Luque-Campos N, Contreras-López RA, Paredes-Martínez MJ, Torres MJ, Bahraoui S, Wei M, et al. Mesenchymal stem cells improve rheumatoid arthritis progression by controlling memory T cell response. *Front Immunol.* 2019; 10: 798. doi: 10.3389/fimmu.2019.00798

38. Ribeiro A, Laranjeira P, Mendes S, Velada I, Leite C, Andrade P, et al. Mesenchymal stem cells from umbilical cord matrix, adipose tissue and bone marrow exhibit different capability to suppress peripheral blood B, natural killer and T cells. *Stem Cell Res Ther.* 2013; 4: 125. doi: 10.1186/scrt336

39. Mareschi K, Castiglia S, Sanavio F, Rustichelli D, Muraro M, Defedele D, et al. Immunoregulatory effects on T lymphocytes by human mesenchymal stromal cells isolated from bone marrow, amniotic fluid, and placenta. *Exp Hematol.* 2016; 44: 138-150. doi: 10.1016/j.exphem.2015.10.009

40. Laranjeira P, Pedrosa M, Pedreiro S, Gomes J, Martinho A, Antunes B, et al. Effect of human bone marrow mesenchymal stromal cells on cytokine production by peripheral blood naive, memory and effector T cells. *Stem Cell Res Ther.* 2015; 6: 3. doi: 10.1186/scrt537

41. Hu C, Qian L, Miao Y, Huang Q, Miao P, Wang P, et al. Antigen-presenting effects of effector memory Vγ9Vδ2 T cells in rheumatoid arthritis. *Cell Mol Immunol.* 2012; 9: 245-254. doi: 10.1038/cmi.2011.50

42. Liu X, Feng T, Gong T, Shen C, Zhu T, Wu Q, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit the function of allogeneic activated V γδ T lymphocytes *in vitro*. *BioMed Res Int.* 2015; 2015: 317801. doi: 10.1155/2015/317801

43. Hu C, Li L. The immunoregulation of mesenchymal stem cells plays a critical role in improving the prognosis of liver transplantation. *J Transl Med.* 2019; 17: 412. doi: 10.1186/s12967-019-02167-0

44. Saad A, Dietz AB, Herrmann SMS, Hickson LJ, Glockner JF, McKusick MA, et al. Autologous mesenchymal stem cells increase cortical perfusion in renovascular disease. *J Am Soc Nephrol* 2017; 28: 2777-2785. doi: 10.1681/ASN.2017020151

45. Saldana L, Bensiamar F, Valles G, Mancebo FJ, García-Rey E, Vilaboa N. Immunoregulatory potential of mesenchymal stem cells following activation by macrophage-derived soluble factors. *Stem Cell Res Ther* 2019; 10: 58. doi: 10.1186/s13287-019-1156-6

46. Ren W, Hou J, Yang C, Wang H, Wu S, Wu Y, et al. Extracellular vesicles secreted by hypoxia pre-challenged mesenchymal stem cells promote non-small cell lung cancer cell growth and mobility as well as macrophage M2 polarization via miR-21-5p delivery. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019; 38: 62. doi: 10.1186/s13046-019-1027-0

47. Yuan X, Qin X, Wang D, Zhang Z, Tang X, Gao X, et al. Mesenchymal stem cell therapy induces FLT3L and CD1c$^+$ dendritic cells in systemic lupus erythematosus patients. *Nat Commun.* 2019; 10: 2498. doi: 10.1038/s41467-019-10491-8

48. Das T, Bergen IM, Koudstaal T, van Hulst JAC, van Loo G, Boonstra A, et al. DNGR1-mediated deletion of A20/Tnfaip3 in dendritic cells alters T and B-cell homeostasis and promotes autoimmune liver pathology. *J Autoimmun* 2019; 102: 167-178. doi: 10.1016/j.jaut.2019.05.007

49. Montesinos JJ, Lopez-Garcia L, Cortes-Morales VA, Arriaga-Pizano L, Valle-Ríos R, Fajardo-Orduña GR, et al. Human bone marrow mesenchymal stem/stromal cells exposed to an inflammatory environment increase the expression of ICAM-1 and release microvesicles enriched in this adhesive molecule: Analysis of the participation of TNF-alpha and IFN-gamma. *J Immunol Res* 2020; 2020: 8839625. doi: 10.1155/2020/8839625

50. Cho KA, Lee JK, Kim YH, Park M, Woo SY, Ryu KH. Mesenchymal stem cells ameliorate B-cell-mediated immune responses and increase IL-10-expressing regulatory B cells in an EBI3-dependent manner. *Cell Mol Immunol* 2017; 14: 895-908. doi: 10.1038/cmi.2016.59

51. Goradel NH, Jahangiri S, Negahdari B. Effects of mesenchymal stem cellderived exosomes on angiogenesis in regenerative medicine, *Curr. Regenerat. Med.* 2018; 7(1): 46-53. doi: 10.2174/2468244086661803151012 32

52. Abbaszadeh H, Ghorbani F, Derakhshani M, Movassaghpour A, Yousefi M. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: A novel therapeutic paradigm, *J Cell Physiol.* 2020; 235(2): 706-717. doi: 10.1002/jcp.29004

53. Jasim SA, Yumashev AV, Abdelbasset WK, Margiana R, Markov A, Suksatan W, et al. Shining the light on clinical application of mesenchymal stem cell therapy in autoimmune diseases. *Stem Cell Res Ther.* 2022; 13(1): 101. doi: 10.1186/s13287-022-02782-7

54. Fierabracci A, Del Fattore A, Luciano R, Muraca M, Teti A, Muraca M. Recent advances in mesenchymal stem cell immunomodulation: The role of microvesicles. *Cell Transplant.* 2015; 24: 133-149. doi: 10.3727/096368913X675728

55. Kalluri R, Lebleu VS. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. Science. 2020; 367(6478): 6977. doi: 10.1126/science.aau6977

56. Wang S, Lei B, Zhang E, Gong P, Gu J, He L, et al. Targeted therapy for inflammatory diseases with mesenchymal stem cells and their derived exosomes: From basic to clinics. *Int J Nanomedicine.* 2022; 17: 1757-1781. doi: 10.2147/IJN.S355366

57. Sun Z, Shi K, Yang S, Liu J, Zhou Q, Wang G, et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications. Mol Cancer. 2018; 17(1): 147. doi: 10.1186/s12943-018-0897-7

58. Meng Q, Qiu B. Exosomal microRNA-320a derived from mesenchymal stem cells regulates rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocyte activation by suppressing CXCL9 expression. *Front Physiol.* 2020; 11: 441. doi: 10.3389/fphys.2020.00441

59. Liu H, Chen Y, Yin G, Xie Q. Therapeutic prospects of microRNAs carried by mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles in autoimmune diseases. Life Sci. 2021; 277: 119458. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119458

60. Wu H, Zhou X, Wang X, Cheng W, Hu X, Wang Y, et al. miR-34a in extracellular vesicles from bone marrow mesenchymal stem cells reduces rheumatoid arthritis inflammation via the cyclin I/ATM/ATR/p53 axis. *J Cell Mol Med.* 2021; 25(4): 1896-1910. doi: 10.1111/jcmm.15857

61. Chen Z, Wang H, Xia Y, Yan F, Lu Y. Therapeutic potential of mesenchymal cell-derived miRNA-150-5p-expressing exosomes in rheumatoid arthritis mediated by the modulation of MMP14 and VEGF. *J Immunol.* 2018; 201(8): 2472-2482. doi: 10.4049/jimmunol.1800304

62. Huldani H, Jasim SA, Bokov DO, Abdelbasset WK, Shalaby MN, Thangavelu L, et al. Application of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells as potential therapeutic tools in autoimmune and rheumatic diseases. *Int Immunopharmacol.* 2022; 106: 108634. doi: 10.1016/j.intimp.2022.108634

63. Cosenza S, Toupet K, Maumus M, Luz-Crawford P, Blanc-Brude O, Jorgensen C, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes are more immunosuppressive than microparticles in inflammatory arthritis. *Theranostics.* 2018; 8(5): 1399-1410. doi: 10.7150/thno.21072

64. Abdelmawgoud H, Saleh A. Anti-inflammatory and antioxidant effects of mesenchymal and hematopoietic stem cells in a rheumatoid arthritis rat model. *Adv Clin Exp Med.* 2018; 27: 873-880. doi: 10.17219/acem/73720

65. Álvaro-Gracia JM, Jover JA, García-Vicu-a R, Carre-o L, Alonso A, Marsal S, et al. Intravenous administration of expanded allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells in refractory rheumatoid arthritis (Cx611): Results of a multicentre, dose escalation, randomised, single-blind, placebo-controlled phase Ib/IIa clinical trial. *Ann Rheum Dis.* 2017; 76: 196-202. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-208918

66. Wang L, Wang L, Cong X, Liu G, Zhou J, Bai B, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell therapy for patients with active rheumatoid arthritis: Safety and efficacy. *Stem Cells Dev.* 2013; 22: 3192-3202. doi: 10.1089/scd.2013.0023

67. Zhang Q, Li Q, Zhu J, Guo H, Zhai Q, Li B, et al.. Comparison of therapeutic effects of different mesenchymal stem cells on rheumatoid arthritis in mice. *Peer J.* 2019; 3: 7: e7023. doi: 10.7717/peerj.7023

68. Timin AS, Peltek OO, Zyuzin MV, Muslimov AR, Karpov TE, Epifanovskaya OS, et al. Safe and effective delivery of antitumor drug using mesenchymal stem cells impregnated with submicron carriers. ACS Appl Mater Interfaces. 2019; 11(14): 13091-13104. doi: 10.1021/acsami.8b22685

69. Vader P, Mol EA, Pasterkamp G, Schiffelers RM. Extracellular vesicles for drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016; 106: 148-156. doi: 10.1016/j.addr.2016.02.006

70. Kim KW, Kim HJ, Kim BM, Kwon YR, Kim HR, Kim YJ. Epigenetic modification of mesenchymal stromal cells enhances their suppressive effects on the Th17 responses of cells from rheumatoid arthritis patients. *Stem Cell Res Ther.* 2018; 9: 208. doi: 10.1186/s13287-018-0948-4

71. Thery C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): A position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles.* 2018; 7: 1535750. doi: 10.1080/20013078.2018.1535750

72. He X, Dong Z, Cao Y, Wang H, Liu S, Liao L, et al. MSC-derived exosome promotes M2 polarization and enhances cutaneous wound healing. *Stem Cells Int.* 2019; 2019: 7132708. doi: 10.1155/2019/7132708

73. Reis M, Mavin E, Nicholson L, Green K, Dickinson AM, Wang XN. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles attenuate dendritic cell maturation and function. *Front Immunol.* 2018; 9: 2538. doi: 10.3389/fimmu.2018.02538

74. Matheakakis A, Batsali A, Papadaki HA, Pontikoglou CG. Therapeutic implications of mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles in autoimmune diseases: From biology to clinical applications. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(18): 10132. doi: 10.3390/ijms221810132

75. Kahmini FR, Shahgaldi S. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles as novel cell-free therapy for treatment of autoimmune disorders. *Exp Mol Pathol.* 2021; 118: 104566. doi: 10.1016/j.yexmp.2020.104566

76. Lu Y, Zhou Y, Zhang R, Wen L, Wu K, Li Y, et al.. Bone mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote recovery following spinal cord injury via improvement of the integrity of the blood-spinal cord barrier. *Front Neurosci.* 2019; 13: 209. doi: 10.3389/fnins.2019.00209

77. Lopez-Santalla M, Fernandez-Perez R, Garin MI. Mesenchymal stem/stromal cells for rheumatoid arthritis treatment: An update on clinical applications. *Cells.* 2020; 9: 1852. doi: 10.3390/cells9081852

78. Nooshabadi VT, Mardpour S, Yousefi-Ahmadipour A, Allahverdi A, Izadpanah M, Daneshimehr F, et al. The extracellular vesicles-derived from mesenchymal stromal cells: A new therapeutic option in regenerative medicine. *J Cell Biochem*. 2018; 119: 8048-8073. doi: 10.1002/jcb.26726

Сведения об авторах

Такоева Елена Астановна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, Институт биомедицинских исследований – филиал ФГБУН ФНЦ «Владикавказский научный центр Российской академии наук»; старший преподаватель кафедры патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: elena_takoeva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7248-5244

Кокаев Ромеш Иванович – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией клеточных технологий, Институт биомедицинских исследований – филиал ФГБУН ФНЦ «Владикавказский научный центр Российской академии наук»; доцент кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: romeshkokaev@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-2326-1348

Ислаев Алтынбек Азраткулович – младший научный сотрудник отдела клеточных технологий, Институт биомедицинских исследований – филиал ФГБУН ФНЦ «Владикавказский научный центр Российской академии наук»; ассистент кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: altin_islaev91@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7800-8593

Information about the authors

Elena A. Takoeva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies, Institute of Biomedical Research – Branch of the Vladikavkaz Scientific Center, Russian Academy of Sciences; Senior Lecturer at the Department of Pathological Physiology, North Ossetian State Medical Academy, e-mail: elena_takoeva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7248-5244

Romesh I. Kokaev – Cand. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Cell Technologies, Institute of Biomedical Research – Branch of the Vladikavkaz Scientific Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor at the Department of Normal Physiology, North Ossetian State Medical Academy, e-mail: romeshkokaev@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-2326-1348

Altynbek A. Islaev – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies, Institute of Biomedical Research – Branch of the Vladikavkaz Scientific Center, Russian Academy of Sciences; Teaching Assistant at the Department of Normal Physiology, North Ossetian State Medical Academy, e-mail: altin_islaev91@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7800-8593

БИОХИМИЯ
BIOCHEMISTRY

К ВОПРОСУ О ЛИПОКСИНАХ КАК ЛИПИДНЫХ МЕДИАТОРАХ РАЗРЕШЕНИЯ ВОСПАЛЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Кытикова О.Ю.,
Новгородцева Т.П.,
Коваленко И.С.

Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения (690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Кытикова Оксана Юрьевна,
e-mail: kytikova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Бронхиальная астма (БА) представляет собой важнейшую медико-социальную проблему современности в связи с широкой распространённостью, хроническим течением и гетерогенностью, определяющими сложность лечения данного заболевания. Хроническое воспаление, характерное для БА, сопровождается развитием дисбаланса между провоспалительными, противовоспалительными и проразрешающими липидными медиаторами, продуцируемыми омега-3 (ω-3) и омега-6 (ω-6) полиненасыщенными жирными кислотами. Наибольший исследовательский интерес прикован к проразрешающим липидным медиаторам, в частности к липоксинам. С одной стороны, пути метаболизма и рецепторы липоксинов, такие как N-формилпептидный рецептор 2-го типа и ядерный рецептор ароматических углеводородов, могут стать основой для новых подходов к лечению БА, нацеленных на процессы разрешения воспаления. С другой стороны, данные медиаторы образуются в очень незначительном количестве и являются достаточно нестабильными в сравнении с другими липидными медиаторами разрешения воспаления. Сложности обнаружения липоксинов лимитируют их изучение, а также ставят под вопрос значимость их роли в разрешении воспаления при БА.

Цель обзора. *Обобщить современные представления о роли липидных медиаторов разрешения воспаления – липоксинов – в патогенезе бронхиальной астмы на основании анализа статей, опубликованных на английском языке до 2023 г. в базе данных PubMed.*

В настоящем обзоре обсуждаются противоречивость существующих взглядов на роль липоксинов в качестве проразрешающих медиаторов и потенциальные терапевтические преимущества нацеливания на рецепторы липоксинов.

Ключевые слова: *бронхиальная астма, липоксины, липиды, воспаление, разрешение, медиаторы воспаления*

Статья поступила: 29.01.2024
Статья принята: 07.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Кытикова О.Ю., Новгородцева Т.П., Коваленко И.С. К вопросу о липоксинах как липидных медиаторах разрешения воспаления на примере бронхиальной астмы. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 38-49. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.4

IN REGARDS TO LIPOXINS AS LIPID MEDIATORS FOR THE RESOLUTION OF INFLAMMATION USING THE EXAMPLE OF ASTHMA

Kytikova O.Yu.,
Novgorodtseva T.P.,
Kovalenko I.S.

Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment (Russkaya str. 73G, Vladivostok 690105, Russian Federation)

Corresponding author:
Oxana Yu. Kytikova,
e-mail: kytikova@yandex.ru

ABSTRACT

Asthma is the most important medical and social problem of our time due to its widespread prevalence, chronic course and heterogeneity, which determines the complexity of treating this disease. Chronic inflammation, characteristic of asthma, is accompanied by the development of an imbalance between pro-inflammatory and pro-resolving lipid mediators produced by omega-3 (ω-3) and omega-6 (ω-6) polyunsaturated fatty acids (PUFAs).

The aim of the study. *To summarize modern ideas about the role of lipid mediators of inflammation resolution – lipoxins in the pathogenesis of asthma based on an analysis of articles published in English until 2023 in the PubMed database.*

These mediators are formed in very small quantities and are quite unstable in comparison with other lipid mediators of inflammation resolution, so the difficulty of their detection limits the study of the role of lipoxins as mediators of inflammation resolution, including in asthma. At the same time, a significant number of works have been published describing the anti-inflammatory and pro-resolving properties of lipoxins. To block the inflammatory response and trigger the processes of its resolution, lipoxins interact with the N-formyl peptide receptor type 2 and the nuclear receptor for aromatic hydrocarbons.

This review discusses the controversy surrounding the role of lipoxins as pro-resolving mediators and the potential therapeutic benefits of targeting lipoxin receptors.

Key words: *asthma, lipoxins, lipids, inflammation, resolution, inflammation mediators*

Received: 29.01.2024
Accepted: 07.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Kytikova O.Yu., Novgorodtseva T.P., Kovalenko I.S. In regards to lipoxins as lipid mediators for the resolution of inflammation using the example of asthma. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 38-49. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.4

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AhR	ядерный рецептор ароматических углеводородов (nuclear aryl hydrocarbon receptor)
ALX	рецептор липоксина A4 (lipoxin A4 receptor)
ATL	липоксины, активируемые аспирином (aspirin-triggered lipoxins)
ARA	арахидоновая кислота (arachidonic acid)
ARNT	ядерный транслокатор AhR (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator)
COX	циклооксигеназа (cyclooxygenase)
COVID-19	коронавирусная болезнь 2019 года (coronavirus disease 2019)
CYP450	цитохром P-450 (cytochrome P-450)
DAMPs	молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением (damage-associated molecular patterns)
DHA	докозагексаеновая кислота (docosahexaenoic acid)
DPA	докозапентаеновая кислота (docosapentaenoic acid)
EPA	эйкозапентаеновая кислота (eicosapentaenoic acid)
FLAP	белок, активирующий 5-липоксигеназу (5-lipoxygenase activating protein)
FPR2	N-формилпептидный рецептор 2-го типа (N-formyl peptide receptor 2)
GPCR	рецепторы, связанные с G-белком (G-protein coupled receptors)
IL	интерлейкин (interleukin)
LOX	липоксигеназа (lipoxygenase)
LX	липоксины (lipoxin)
MAPK	митоген-активируемы протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase)
MaR	марезины (maresin)
PAMPs	молекулярные паттерны, ассоциированнык с микробными патогенами (pathogen-associated molecular patterns)
PG	простагландин (prostaglandin)
PD	протектины (protectin)
Rv	резольвины (resolving)
SAA	сывороточный амилоид A (serum amyloid A)
SPMs	специализированные проразрешающие медиаторы (specialized pro resolving mediators)
TSLP	тимический стромальный лимфопоэтин (epithelium-derived thymic stromal lymphopoietin)
БА	бронхиальная астма
ММП	матриксные металлопротеиназы
ПНЖК	полиненасыщенные жирные кислоты
ПМЯ	полиморфно-ядерные клетки
ХОБЛ	хроническая обструктивная болезнь лёгких

ВВЕДЕНИЕ

Разрешение воспаления является эндогенным процессом, направленным на завершение острого и предотвращение развития длительного или чрезмерного воспаления [1]. Нарушение процесса разрешения воспаления является ключевым патологическим механизмом, запускающим прогрессирование многочисленных хронических воспалительных заболеваний [2]. Так, хроническое, персистирующее воспаление низкой интенсивности играет ведущую роль в этиопатогенезе различных социально значимых заболеваний, в частности бронхолёгочных заболеваний, включающих бронхиальную астму (БА), муковисцидоз, острый респираторный дистресс-синдром, коронавирусную болезнь 2019 года (COVID-19).

Являясь хроническим, гетерогенным, многофакторным, и трудноконтролируемым воспалительным заболеванием, БА представляет тяжёлое бремя для системы здравоохранения, что ставит её в ранг приоритетных направлений для научных исследований [3]. В настоящее время активно изучаются механизмы разрешения хронического воспаления в бронхолёгочной системе, связанные с нарушениями метаболизма омега-3 (ω-3) и омега-6 (ω-6) полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) [4–7].

Оксигенация ω-3 и ω-6 ПНЖК осуществляется при участии циклооксигеназ (COX, cyclooxygenase), липоксигеназ (LOX, lipoxygenase) и цитохрома P-450 (CYP450, cytochrome P450) с образованием провоспалительных, противовоспалительных и эндогенных специализированных проразрешающих медиаторов (SPMs, specialized pro resolving mediators) [8, 9].

Если роль провоспалительных и противовоспалительных медиаторов в патогенезе БА достаточно полно охарактеризована, то вклад SPMs только начинает детализироваться [10, 11]. Появляется всё больше свидетельств того, что хронические иммунные нарушения характеризуются недостаточностью механизма разрешения воспаления, а SPMs обладают мощным терапевтическим потенциалом для предотвращения и лечения хронического воспаления и нарушений иммунной системы [2, 12, 13].

К SPMs относятся резольвины (Rv, resolvins), липоксины (LX, lipoxins; LXA4, LXA5, LXB4), протектины серии D (PD, protectins D) и марезины (MaR, maresins) [14, 15]. По состоянию на 29.11.2023 PubMed предоставляет доступ к 1391 публикации о SPMs. Наибольшее число публикаций посвящено PD и LX, однако относительно степени проявляемого интереса к роли SPMs в патогенезе БА лидируют LX (табл. 1).

Поскольку LX продемонстрировали важную роль в иммунорегуляции и не только обладают противовоспалительной активностью, но и вовлечены в механизмы восстановления тканей после повреждения, интерес к существующей взаимосвязи между LX и хроническим воспалительным процессом, сопровождающим БА, понятен [16–19]. В настоящее время изучаются эндогенные LX (LXA4, LXB4) и аспирин-активируемые LX или эпилипоксины (15-эпи-LXA4 и 15-эпи-LXB4), так как аналоги LX синтезируются на основе их структуры [20–22].

В организме LX образуются в ничтожно малом количестве и являются достаточно нестабильными, поэтому ряд авторов указывает на сложности их обнаружения и ставит вопрос о значимости их роли в разрешении воспаления [14]. Несмотря на противоречивость мнений, LX являются фармакологическими мишенями для эффективной и безопасной противовоспалительной терапии [23, 24]. Пути метаболизма и рецепторы SPMs могут стать основой для новых подходов к лечению хронических воспалительных заболеваний современности, нацеленных на процессы разрешения воспаления [1, 13].

ТАБЛИЦА 1
КОЛИЧЕСТВО ПУБЛИКАЦИЙ О SPMS ПО СОСТОЯНИЮ НА 29.11.2023

TABLE 1
NUMBER OF PUBLICATIONS ON SPECIALIZED PRO RESOLVING MEDIATORS AS OF NOVEMBER 29, 2023

Ключевые слова	Количество публикаций на 29.11.2023
Specialized pro resolving mediators	1391
Resolvins	1719
Lipoxins	2459
Protectins	2618
Maresins	498
Resolvins, asthma	68
Lipoxins, asthma	159
Protectins, asthma	35
Maresins, asthma	24

Если рецепторы для LXB4 не обнаружены, то для LXA4 описано два рецептора. Ключевым рецептором для LXA4 является N-формилпептидный рецептор 2-го типа/рецептор липоксина A4 (FPR2/ALX, N-formyl peptide receptor 2/lipoxin A4 receptor), относящийся к рецепторам, связанным с G-белком (GPCR, G-protein coupled receptors) [25]. Интересно, что активация FPR2/ALX может быть связана с провоспалительными и проразрешающими реакциями в зависимости от агониста [26].

LXA4 также может взаимодействовать с ядерным рецептором ароматических углеводородов (AhR, nuclear aryl hydrocarbon receptor). AhR вовлечён в модуляцию иммунных и воспалительных реакций, а также играет важную роль в разрешении воспаления путём индукции LXA4 и интерлейкина (IL) 22 [27–29].

Защитная роль LX, обусловленная снижением их выработки, характерна для сердечно-сосудистых и неврологических патологий [19]. Однако при других патологиях, таких как БА, наблюдается повышенный уровень LX, что предполагает сбой этого регуляторного пути [19]. Поэтому необходимы дальнейшие исследования для оценки роли LX в патогенезе воспалительных заболеваний с целью разработки терапевтических методов воздействия на рецепторы LX [20].

В настоящем обзоре обсуждается противоречивость существующих в научном мире взглядов на роль LX в качестве проразрешающих медиаторов, сложности их обнаружения, а также рассматривается возможный вклад LX в патофизиологию БА и потенциальные терапевтические преимущества нацеливания на рецепторы LX.

Стратегия поиска включала PubMed. Поиск информации проводился по выбранным критериям включения.

ЛИПОКСИНЫ И ХРОНИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ

К началу 80-х годов патогенез острого воспаления был достаточно полно охарактеризован работами лауреатов Нобелевской премии B. Samuelsson и J.R. Vane, а также работами J.C. Houck, G. Weissmann и соавт. [30–33]. Однако только в 1994 г. R.S. Cotran и соавт. описали процесс полного разрешения воспаления как оптимальный результат воспалительной реакции, ведущий к восстановлению гомеостаза, впервые связав развитие хронического воспаления с нарушением процессов разрешения острого воспаления [34].

Роль липидных медиаторов в процессе разрешения воспаления привлекла внимание научных коллективов благодаря исследованиям B. Samuelsson и соавт. производных арахидоновой кислоты (ARA, arachidonic acid; 20:4ω6) [30]. Первыми из обнаруженных липидных медиаторов были LX [16].

В 2000 г. была признана не только их выраженная противовоспалительная активность, но и проразрешающая способность, что привлекло интерес к их участию в восстановлении тканей после острого воспаления, вызванного цитокинами, и разрешении хронического воспаления [35].

После провоспалительной фазы запускается процесс разрешения воспаления через запуск процессов апоптоза и эфероцитоза полиморфно-ядерных клеток (ПМЯ) и высвобождение SPMs из апоптотических ПМЯ [2]. Хроническое воспаление запускает иммунный процесс, характеризующийся постоянным рекрутированием Т-, В-клеток и провоспалительных макрофагов и выработкой ими провоспалительных медиаторов при недостаточном биосинтезе противовоспалительных липидов. Таким образом, хроническое воспаление возникает в результате нарушения регуляции его разрешения, однако роль отдельных SPM и их рецепторов в данном процессе не выяснена.

LX модулируют как врожденный, так и адаптивный иммунитет, регулируя движение полиморфноядерных лейкоцитов и эозинофилов [16, 36], функцию Т-лимфоцитов [37] и дендритных клеток [38]. Было установлено, что LXA4 и LXB4 не только ингибируют рекру-

тирование нейтрофилов в очаг воспаления, но и являются мощными стимуляторами миграции моноцитов для осуществления фагоцитоза и регенерации тканей [17]. В фазе разрешения прекращение инфильтрации иммунных клеток происходит в ответ на хемотаксические сигналы, апоптоз ПМЯ и активное удаление апоптотических клеток и мусора макрофагами [36].

После обнаружения того факта, что аспирин способствует образованию 15(R)-HETE из ARA и проведения дальнейших исследований, были открыты эпилипоксины: 15-эпилипоксин A4 (15-эпи-LX A4) и 15-эпилипоксин B4 (15-эпи-LX B4), называемые LX, активируемые аспирином (ATL, aspirin-triggered lipoxins) [39]. Эпилипоксины представляют собой тригидрокси-метаболиты ARA.

ПУТИ ОБРАЗОВАНИЯ ЛИПОКСИНОВ ИЗ АРАХИДОНОВОЙ И ЭЙКОЗАПЕНТАЕНОВОЙ КИСЛОТ

SPMs образуются из ω-3 и ω-6 ПНЖК: докозагексаеновой (DHA, docosahexaenoic acid; 22:6ω3)), эйкозапентаеновой (EPA, eicosapentaenoic acid; 20:5ω3), докозапентаеновой кислот (DPA, docosapentaenoic acid; 22:5ω3), а также ARA [1, 10, 14, 15, 40, 41] (табл. 2).

ТАБЛИЦА 2

ω-3 И ω-6 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ, ВОВЛЕЧЁННЫЕ В СИНТЕЗ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОРАЗРЕШАЮЩИХ МЕДИАТОРОВ

TABLE 2

ω-3 AND ω-6 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS INVOLVED IN THE SYNTHESIS OF SPECIALIZED PRO RESOLVING MEDIATORS

Субстрат	SPMs
ARA (20:4ω6)	LXs, эпилипоксины
EPA (20:5ω3)	LXs, RvE
DHA (22:6 ω3)	RvD, PD, MaR
DPA (22:5ω3)	RvT

LX представляют собой тип SPMs с мощными противовоспалительными и проразрешающими свойствами, продуцируемые макрофагами и нейтрофилами по пути ARA или EPA посредством липоксигеназ, а также ацетилированной аспирином COX-2 (aspirin-acetylated cyclooxygenase-2). Образование LX у людей обычно происходит при участии 5-, 12- и 15-липооксигеназ (5-LOX, 12-LOX, 15-LOX), у мышей – при участии 5-LOX и 12-/15-LOX (аналог человеческой 15-LOX) [42].

Первый путь синтеза LX происходит при последовательном участии 5-LOX и 12/15-LOX (5-LOX/12/15-LOX путь), второй – при участии 12/15-LOX и 5-LOX (12/15-LOX/5-LOX путь). Третий путь синтеза LX приводит к образованию их аналогов – эпилипоксинов или ATL [39]. Данный путь активируется аспирином и осуществляется при участии 5-LOX и ацетилированной аспирином COX-2 (COX-2/5-LOX путь). Другие пути активируются пиоглитазоном и аторвастатином [43] или ловастатином [44].

Образование LX из ARA происходит как через 5-LOX/12/15-LOX путь, так и через 12/15-LOX/5-LOX путь, который считается основным [36, 45, 46].

Так, в 5-LOX/12/15-LOX пути 5-LOX метаболизирует ARA до 5(S)-H(p)ETE, который превращается либо в 5(S)-HETE, либо в нестабильный промежуточный продукт LTA4 – субстрат для LTC4 и LTB4, которые образуются при участии гидролазы LTA4H и синтазы LTC4 соответственно. LTA4, высвобождаемый лейкоцитами, может поглощаться тромбоцитами и при участии 12/15-LOX превращаться в 5,6-ероху-15(S)-HEPE и далее в LXA4 и LXB4. 5(S)-H(p)ETE также может при участии 12/15-LOX превращаться в 5(S),15(S)-diH(p)ETE и далее в 5,6-ероху-15(S)-HEPE, LXA4 и LXB4.

В 12/15-LOX/5-LOX пути при участии 12/15-LOX из ARA образуется 15-(S)-H(p)ETE, который под влиянием 5-LOX далее преобразуется в 15(S)-diH(p)ETE, 5,6-ероху-15(S)-HETE и наконец – в LXA4 и LXB4.

В этот путь биосинтеза вовлечены ПМЯ, эозинофилы, альвеолярные макрофаги [9]. Данный путь, вероятно, преобладает в бронхолёгочной системе [47].

Образование LX из EPA происходит только через 5-LOX/12/15-LOX путь [36]. Так, 5-LOX катализирует превращение EPA в LTA5. LTA5 при участии гидролазы LTA4H превращается в LTB5 или поглощается тромбоцитами, которые экспрессируют 12/15-LOX и через образование 5,6-ероху-15(S)-HETE и 5,6-ероху-15(S)-HEPE и их последующий гидролиз приводят к образованию LXA5.

Образование эпилипоксинов из ARA происходит через COX-2/5-LOX путь [48]. Аспирин ингибирует биосинтез простагландинов (PG, prostaglandin) ацетилированием COX-2, что переключает каталитическую активность PG-синтазы на 15-LOX и приводит к производству 15(R)-HETE [39]. Благодаря превращению 15(R)-HETE с помощью 5-LOX в промежуточный продукт 5(S),6(S)-15(R)-epoxytetraene, образуются 15-эпи-LXA4 и 15-эпи-LXB4.

LXA4 и его аналог 15-эпи-LXA4 биологически активны и обладают противовоспалительным и проразрешающим действиями.

ОБРАЗОВАНИЕ И ОБНАРУЖЕНИЕ ЛИПОКСИНОВ В ЛЕЙКОЦИТАХ

Лейкоциты человека считаются основным источником SPM [16, 36]. Интересно, что в 12/15-LOX/5-LOX пути синтеза LX при отсутствии белка, активирующего 5-липоксигеназу (FLAP, 5-lipoxygenase activating protein), скорость образования данного проразрешающего липидного медиатора под действием 5-LOX крайне низкая, то есть активности LTA4 недостаточно для действия 5-LOX *in vitro* [49]. Однако образование LX с помощью 5-LOX можно обнаружить в лейкоцитах человека [16, 36]. Данные различия можно объяснить FLAP-зависимым механизмом [50]. По данным A.S. Kahnt и соавт., даже

в присутствии FLAP образование LX в лейкоцитах крайне незначительно, поэтому только 5S,15S-diHETE, 5S,15S-diHEPE как представители SPMs могут быть обнаружены в лейкоцитах [14]. Низкое образование LX в лейкоцитах и в биологических образцах ставят под сомнение их роль в качестве эндогенных медиаторов в разрешении воспаления [14].

Нейтрофилы экспрессируют FLAP и 5-LOX, однако экспрессия 12/15-LOX снижена, поэтому в стимулированных ионофором $Ca2^+$ (A23187) нейтрофилах не было обнаружено значимых количеств SPMs [50].

В то же время при совместной инкубации тромбоцитов с лейкоцитами, обработанных ионофором $Ca2^+$ или N-формилметионин-лейцил-фенилаланином *in vitro*, наблюдается активное образование LX по пути 5-LOX/12/15-LOX. Однако у мышей с нокаутом 12-LOX уровни LX низкие при отсутствии проблем с разрешением воспаления [42]. Вероятно, этот путь также не играет существенной роли в разрешении воспаления.

М2-поляризованные макрофаги человека экспрессируют 5-LOX, 15-LOX (15-LOX1, 15-LOX2) и FLAP [51], однако их способность продуцировать SPMs через 5-LOX/12/15-LOX и 12/15-LOX/5-LOX ограничена. Так, A.S. Kahnt и соавт. не обнаружили SPMs в стимулированных М2-подобных макрофагах [14]. Ряд других исследований также показывает, что в стимулированных макрофагах продукция тригидроксилированных LXA4 крайне низка или совсем не обнаруживается [23, 24].

В то же время J. Dalli и соавт. сообщили о высоком уровне LXB4 в апоптотических нейтрофилах и LXA4 в М2-поляризованных макрофагах человека [52].

Таким образом, большинство исследований способности гранулоцитов и агранулоцитов образовывать SPMs *in vitro* показали, что эти клетки или не производят вовсе, или производят лишь незначительное количество LXA4 и LXB4.

ЛИПОКСИНЫ И ИХ РЕЦЕПТОРЫ

LXA4 и 15-эпи-LXA4 действуют путём связывания и активации рецепторов, связанных с G-белком, таких как FPR2/ALX, а также с AhR. Для LXB4 рецепторы пока что не установлены.

FPR2/ALX

Ключевым рецептором для LXA4 и AT-LXA4 является FPR2/ALX [25, 53], представленный на клетках иммунной системы (нейтрофилы, эозинофилы, моноциты, макрофаги, натуральные клетки-киллеры, дендритные клетки, врождённые лимфоидные клетки 2-го типа, наивные $CD4^+$ Т-клетки, Th1-, Th2- и Th17-клетки), вовлечённых в разрешение воспаления [54]. FPR играют ведущую роль во врождённых иммунных реакциях посредством распознавания молекулярных паттернов, ассоциированных с микробными патогенами (PAMPs, pathogen-associated molecular patterns) и молекулярными паттернами, ассоциированными с повреждением (DAMPs, damage-associated molecular patterns) [26].

Стоит отметить, что FPR2/ALX экспрессируется также на неиммунных клетках (эндотелиальные, эпителиальные клетки, кератиноциты, мезенхимальные стволовые клетки, клетки гиппокампа и префронтальной области коры головного мозга) [55]. FPR2/ALX с разной степенью аффинности может связывать большое число лигандов при наибольшей степени сродства для AT-LXA4.

Литературные данные указывают не только на противоспалительные эффекты, инициируемые в результате активации данного рецептора, но и на провоспалительные [56]. Так, FPR2 запускает провоспалительный каскад, связывая белок сывороточного амилоида А (SAA, serum amyloid A) который входит в группу белков острой фазы воспаления [57]. Очевидно, что спектр ответов после активации FPR2 сложен, так как данный рецептор может активировать провоспалительный и проразрешающие фенотипы, при этом он вовлечён в переключение данных фенотипов в зависимости от клетки-мишени для запуска процессов разрешения воспаления [26, 58].

По данным M. Perretti и соавт., FPR2 активирует практически все процессы, характеризующие разрешение воспаления, включая блокирование процесса привлечения нейтрофилов, индуцирование их апоптоза и последующего поглощения макрофагами (эфероцитоз), что инициирует продукцию цитокинов и факторов роста, способствующих репарации [26]. Также важно, что экспрессия FPR2 практически отсутствует в макрофагах, которые уже вступили в режим запуска процессов репарации [58]. Эти данные указывают на существование механизма, защищающего от риска чрезмерного подавления воспаления.

N.H. Schebb и соавт. на основании анализа современной литературы поставили под сомнение передачу сигналов тригидроксилированных SPM через их рецепторы [42]. Если в одних работах LXA4 имеет высокое сродство к FPR2/ALX [59], то исследования других авторов опровергают эту связь [60]. A.S. Kahnt и соавт. также считают, что данные об отсутствии передачи сигналов LX их рецепторами ставят под сомнение их роль в качестве вероятных медиаторов разрешения воспаления [14].

AhR

AhR впервые был идентифицирован благодаря его вовлечённости в формирование ответа на экзогенные химические вещества, однако позже была идентифицирована его основная роль в качестве модулятора иммунных и воспалительных реакций [27–29].

Существуют классический (канонический) и неканонический путь активации данного рецептора. AhR способен регулировать экспрессию различных генов после связывания с лигандом [61]. До связывания лиганда AhR находится в цитоплазме в виде комплекса с белком теплового шока 90, рекомбинантным белком человека p23 и Src-киназой. После связывания с лигандом AhR высвобождается из цитоплазмы и транспортируется в ядро, где образует гетеродимер с ядерным транслокатором AhR (ARNT, aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator). Данный гетеродимер регулирует экспрессию нижестоящих генов, таких как *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*, путём свя-

зывания с ДНК [62]. Помимо данного канонического сигнального пути, AhR может также действовать через неканонические или ARNT-независимые пути, задействуя посттранскрипционные механизмы, такие как стабилизация мРНК [63].

AhR широко экспрессируется в организме, однако наиболее выраженно – в лёгких и плаценте [27, 64]. Поскольку большинство экзогенных химических веществ являются агонистами AhR, в последние годы изучается роль AhR при различных лёгочных заболеваниях, включая БА, хроническую обструктивную болезнь лёгких (ХОБЛ), лёгочный фиброз и рак лёгких [63, 64].

Несмотря на некоторые сомнения в отношении достаточности образования лейкоцитами такого небольшого количества LXA4 и LXB4 для разрешения воспаления и сомнения в отношении передачи сигналов рецепторами LX, опубликовано значительное количество работ, описывающих противовоспалительные и проразрешающие свойства LX при добавлении их в терапевтических концентрациях, превышающих их эндогенные уровни образования [23, 24, 36]. В настоящее время также рассматривается фармакологическая регуляция уровня продукции SPMs, использование эндогенных или синтетических аналогов SPMs, а также выборочная стимуляция экспрессии рецепторов SPMs [54, 65]. Если первые два направления активно развиваются, то последнее практически не изучается, несмотря на его очевидную перспективность.

РЕЦЕПТОРЫ ЛИПОКСИНОВ КАК ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ АКТИВАЦИИ МЕХАНИЗМОВ РАЗРЕШЕНИЯ ВОСПАЛЕНИЯ

FPR2/ALX

Основная мишень для фармакологической регуляции продукции SPMs – FPR2/ALX [20, 66]. Последние достижения в разработке агонистов FPR2/ALX в качестве проразрешающих агентов суммированы в недавней работе M. Maciuszek и соавт. [20]. Здесь можно ознакомиться с информацией о низкомолекулярных агонистах и синтетических миметиках FPR2/ALX. Ограничение использования эндогенных агонистов FPR2/ALX базируется на их нестабильности в условиях *in vivo*, поэтому синтетические миметики могут быть более полезными в этом случае [20]. Аналоги LX синтезируются на основе структуры эндогенных LX и эпилипоксинов. LX первого поколения обладали ограниченным терапевтическим потенциалом и крайней нестабильностью в условиях *in vivo*, что привело к разработке LX второго поколения, лишённых этих недостатков [67]. Совсем недавно были разработаны имидазолсодержащие аналоги [22] и аналоги бензо-LX [21] (табл. 3).

Применение агонистов FPR2/ALX в пульмонологии активно разрабатывается как направление современных исследований. Например, агонист FPR2/ALX – вещество AR234245 – в эксперименте подавляло гиперреактивность воздухоносных путей и уменьшало смертность мышей с фиброзом лёгких, что позволило авторам данного исследования заключить, что AR234245, как и другие агонисты рецепторов FPR2/ALX, могут быть перспективными для лечения больных БА и ХОБЛ [66]. Так, перспективным может оказаться и применение бензо-LXA4-аналогов, которые обладали противовоспалительной активностью и протективным действием при лёгочном поражении, вызванном ишемией в эксперименте [21]. Синтетические аналоги LXA4 и синтетические агонисты рецептора LXA4 также показали свою эффективность у больных БА в исследовании X. Kong и соавт. [68]. Авторами данного исследования была изучена эффективность и безопасность ингаляционных форм синтетических аналогов LXA4 (5(S),6(R)-LXA4 метилового эфира) и синтетического агониста LXA4-рецептора (BML-111) в сравнении с действием пульмикорта или вентолина. Эффективность 5(S),6(R)-LXA4 метилового эфира и BML-111 оказалась выше, чем эффективность пульмикорта, но ниже, чем эффективность вентолина.

Что касается других агонистов рецептора FPR2/ALX, то, например, I фаза клинических испытаний ACT-389949 показала хорошую переносимость препарата, однако его эффективность была кратковременной [69].

Краткий обзор современного состояния вопроса показал, что агонисты FPR2/ALX должны быть в фокусе пристального внимания исследователей, так как они могут быть достаточно эффективны при заболеваниях, где воспаление играет важную роль, например, при БА. Кроме того, сегодня разрабатывается новое направление фармакологии – фармакология разрешения воспаления, где агонисты FPR2/ALX могут быть основными игроками [26]. Данная отрасль направлена на открытие лекарств на основе проразрешающих медиаторов и действующих на проразрешающие рецепторы для стимулирования репаративных процессов в повреждён-

ТАБЛИЦА 3
ПОКОЛЕНИЯ АНАЛОГОВ ЛИПОКСИНА

TABLE 3
GENERATIONS OF LIPOXIN ANALOGUES

Аналоги LX	Название
LX первого поколения	16-phenoxy-LXA413, 15 (R/S)-methyl-LXA4, 15-epi-16-(p-fluoro)-phenoxy LXA4102
LX второго поколения	ZK-996, ZK-990, ZK-994, and ZK-142
Бензо-LX Имидазол-LX	o-[9,12]-benzo-15-epi-LXA4 methyl ester (1R),2-dimethylimidazole-LXA4

ном органе или ткани [26]. По мнению авторов данного направления исследований, лекарственные препараты должны быть агонистами, так как активация их рецепторов запустит перепрограммирование генов клеткимишени для обеспечения длительного репаративного и регенеративного эффекта. Это крайне важно для сохранения нового статуса клеток в течение некоторого времени. Основная задача современных исследований, по мнению M. Perretti и соавт., состоит в том, чтобы использовать активацию рецептора FPR2 для разработки лекарств, способствующих разрешению воспаления и восстановлению гомеостаза [26].

AhR

Появляется всё больше доказательств того, что AhR является важной лекарственной мишенью в терапии хронического воспаления благодаря его способности связывать фармацевтические препараты, фитопрепараты и эндогенные биохимические вещества [27, 28]. AhR играет важную роль в аллерген-индуцированной дегрануляции и IgE-опосредованной активации тучных клеток [70]. AhR также контролирует экспрессию цитокинов (IL-10, IL-12, IL-17 и трансформирующий фактор роста β1) [61]. Роль данного рецептора, его агонисты, антагонисты и лиганды при хронической бронхолегочной патологии активно изучаются в настоящее время.

Так, M.J. Tsai и соавт. продемонстрировали, что AhR играет роль в модуляции экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММП) и в патогенезе ремоделирования дыхательных путей при БА [63]. Было обнаружено, что агонисты AhR влияют на увеличение экспрессии и активности ММП-1, ММП-2 и ММП-9 через ARNT-независимые пути и способствуют развитию многих заболеваний дыхательных путей, в частности БА [63]. Авторы описали новый, неканонический сигнальный путь, с помощью которого агонисты AhR увеличивают экспрессию ММП-1 в клетках бронхиального эпителия. Так, агонисты AhR увеличивали экспрессию ММП-1 за счёт активации митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK, mitogen-activated protein kinase), повышения внутриклеточного уровня свободных ионов кальция и активации кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы II. MAPK фосфорилируют белки c-Jun, c-Fos, что приводит к их связыванию с белком-активатором 1 промоторной области ММП. Этот регуляторный путь может быть мишенью для разработки методов лечения ремоделирования дыхательных путей при БА.

Тимический стромальный лимфопоэтин (TSLP, epithelium-derived thymic stromal lymphopoietin), IL-33 и IL-25, а также медиаторы воспаления, продуцируемые эпителиальными клетками дыхательных путей, участвуют в развитии нарушений регуляции иммунного ответа при тяжёлой аллергической БА [71]. Активация AhR загрязнителями окружающей среды опосредует выработку IL-33, IL-25 и TSLP с активацией Th2, что связано с развитием тяжёлой аллергической БА. Антагонист AhR CH223191 или клетки с нокдауном AhR блокировали экспрессию активных форм кислорода, TSLP и IL-33 при аллергической БА [72].

Существуют экзогенные или типичные ксенобиотические лиганды AhR (выхлопы дизельных двигателей, промышленные загрязнения, продукты питания) и эндогенные или атипичные лиганды (метаболиты индола, триптофана, гема, арахидоновой кислоты, омепразол, лансопразол, тиабендазол, примахин, кверцетин, β-нафтофлавон) [27].

Например, омепразол является одним из лигандов AhR с низкой токсичностью, поэтому рассматривается в качестве клинически значимой терапевтической мишени при хронических воспалительных заболеваниях лёгких. Омепразол является ингибитором протонной помпы – группы одних из наиболее широко используемых препаратов во всём мире для лечения нарушений кислотности желудочного сока. Интересно, что омепразол также активирует AhR и ослабляет гипероксическое повреждение клеток лёгких *in vitro* [73], что указывает на то, что данный препарат можно использовать в качестве агониста AhR при заболеваниях лёгких, опосредованных гипероксией [73, 74]. Существуют данные, что лечение омепразолом улучшило контроль БА у 84,8 % детей с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью [75]. В то же время длительное использование ингибиторов протонной помпы связано с повышенным риском развития БА как у детей, так и у взрослых [76].

Лиганды AhR представляют собой селективные модуляторы AhR, которые проявляют агонистическую и антагонистическую активность [77]. В этой связи разработка селективных модуляторов AhR сталкивается со сложностями, так как опосредованная данными рецепторами экспрессия генов и их функции в качестве агонистов или антагонистов трудно предсказуемы из-за сложной регуляции их активности [73]. Тем не менее, поскольку AhR вовлечён в патогенез различных заболеваний лёгких, разработка препаратов, воздействующих на сигнальный путь AhR, не теряет актуальности [74].

Если типичные ксенобиотические лиганды AhR способствуют развитию заболеваний лёгких, атипичные лиганды данного рецептора, такие как омепразол, могут защищать лёгкие от окислительного воздействия. Дальнейшие исследования необходимы для выбора и разработки наиболее эффективных лигандов AhR в качестве методов лечения заболеваний лёгких [74]. Кроме того, AhR стимулирует разрешение воспаления путём индукции выработки липоксина A4 и IL-22 [29].

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ЛИПОКСИНОВ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

Поскольку LXs могут регулировать как воспаление, так и реактивность дыхательных путей, снижение активности этих медиаторов может быть патогенетическим звеном БА. Достоверно известно, что уровни LXs снижаются в крови людей с тяжёлой БА [78] и аспирин-индуцированной БА [79].

Так, снижение выработки LXs в цельной крови больных тяжёлой БА, наблюдаемое в результате нарушения регуляции 15-LOX, рассматривается как патогенетиче-

ский механизм тяжёлой БА, отличающий её от БА средней степени тяжести [78]. Так, B.D. Levy и соавт. показали, что уровень продуктов, катализируемых 15-LOX, включая 15-HETE и LXA4, снижался в образцах цельной крови пациентов с тяжёлой БА по сравнению с пациентами с БА более лёгкого течения [78]. Авторы также показали, что производные 5-LOX, включая 5-HETE, LTB4 и CysLT, увеличиваются у пациентов с тяжёлой БА. Более того, обнаруженные авторами исследования корреляции между значениями объёма форсированного выдоха за 1-ю секунду манёвра форсированного выдоха и уровнями LXA4 и CysLT позволили им предположить наличие связи между данными липидными медиаторами и обструкцией воздушного потока, характерной для БА. Очевидно, что снижение генерации LXs и увеличение продукции CysLT в результате нарушения регуляции 15-LOX вовлечены в развитие дисбаланса про- и противоспалительных медиаторов, способствующих хроническому воспалению и обструкции дыхательных путей при БА [78].

Поскольку для больных с аспирин-индуцированной БА также характерно длительное и тяжёлое течение заболевания, снижение способности генерировать LX может представлять собой механизм, предрасполагающий к утяжелению БА [79]. Это обусловлено дефицитом механизма проразрешающего ответа при БА, что приводит к ухудшению прогноза заболевания. Вероятно, снижение образования эндогенных противовоспалительных медиаторов не препятствует действию бронхоконстрикторных агентов, таких как CysLT, на гладкую мускулатуру бронхов.

H. Yamaguchi и соавт. впервые продемонстрировали, что концентрация 15-эпи-LXA4 в моче больных аспирин-индуцированной БА и аспирин-толерантных пациентов снижена, однако значительно превышает концентрацию LXA4 [80]. Сравнение концентраций 15-эпи-LXA4 у пациентов с тяжёлой и средней степени тяжести БА в группах больных аспирин-индуцированной БА и аспирин-толерантных пациентов показало, что снижение концентрации 15-эпи-LXA4 связано с непереносимостью аспирина, но не с тяжестью БА. Дисбаланс между провоспалительными CysLT и противовоспалительным 15-эпи-LXA4 может быть вовлечён в патогенез аспирин-индуцированной БА.

В то же время существуют данные исследований о том, что при БА наблюдается повышенный уровень LX, что предполагает сбой этого регуляторного пути [19]. Поэтому необходимы дальнейшие исследования для оценки роли LX в патогенезе БА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном обзоре обобщены современные взгляды на роль LX как проразрешающих медиаторов и их вовлечённость в патогенез БА.

LX образуются в очень незначительном количестве и являются достаточно нестабильными в сравнении с другими липидными медиаторами разрешения воспаления, поэтому сложности их обнаружения лимитируют изучение их проразрешающей роли и даже ставят её под сомнение.

Сигнальная молекула способна активировать соответствующий рецептор и действовать как эндогенный медиатор разрешения воспаления при условии её образования в достаточной концентрации в месте воспаления. Ряд in vitro исследований по способности гранулоцитов и агранулоцитов образовывать SPMs показал, что эти клетки не производят или производят лишь незначительное количество LXA4 и LXB4, в то время как образование 5S,15S-diHETE в этих клетках происходит постоянно и в достаточной концентрации. Несмотря на некоторые сомнения в отношении достаточности образования лейкоцитами такого небольшого количества LXA4 и LXB4 для разрешения воспаления, функциональной передачи сигналов их рецепторами, фармакологического воздействия, данные липидные медиаторы представляет интерес для разработки эффективной и безопасной противовоспалительной терапии. К настоящему времени опубликовано значительное количество работ, описывающих противовоспалительные и проразрешающие свойства LX.

Хроническое воспаление и обструкция дыхательных путей при БА могут быть результатом снижения уровня LX, которые способны предотвращать развитие бронхоконстрикции и сдерживать чрезмерное воспаление, или результатом повышения уровня LX, что предполагает нарушение пути разрешения воспаления. Результаты проанализированных литературных источников демонстрируют наличие взаимосвязи между синтезом LX, механизмами развития БА и степенью её тяжести. Кроме того, имеются доказательства нарушения регуляции LOX как причины снижения продукции LX при тяжёлой БА. Представленные результаты исследований формируют новую стратегию нацеливания на естественные пути разрешения хронического воспалительного процесса.

Финансирование

Исследование проводилось за счёт средств федерального бюджета в рамках государственного задания фундаментальных научных исследований.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи декларируют отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Panigrahy D, Gilligan MM, Serhan CN, Kashfi K. Resolution of inflammation: An organizing principle in biology and medicine. *Pharm Ther.* 2021; 227: 107879. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.107879

2. Park J, Langmead CJ, Riddy DM. New advances in targeting the resolution of inflammation: Implications for specialized pro-resolving mediator GPCR drug discovery. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2020; 3: 88-106. doi: 10.1021/acsptsci.9b00075

3. Global Initiative for Asthma. (GINA). *Global strategy for asthma management and prevention.* 2020. URL: http://ginasthma.com [date of access: 29.11.2023].

4. Xu X, Li J, Zhang Y, Zhang L. Arachidonic acid 15-lipoxygenase: Effects of its expression, metabolites, and genetic and epigenetic variations on airway inflammation. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2021; 13(5): 684-696. doi: 10.4168/aair.2021.13.5.684

5. Bayani A, Dunster JL, Crofts JJ, Nelson MR. Mechanisms and points of control in the spread of inflammation: A mathematical investigation. *Bull Math Biol*. 2020; 82(4): 45. doi: 10.1007/s11538-020-00709-y

6. Venter C, Meyer RW, Nwaru BI, Roduit C, Untersmayr E, Adel-Patient K, et al. EAACI position paper: Influence of dietary fatty acids on asthma, food allergy, and atopic dermatitis. *Allergy*. 2019; 74(8): 1429-1444. doi: 10.1111/all.13764

7. Zhu Z, Camargo CA Jr, Hasegawa K. Metabolomics in the prevention and management of asthma. *Expert Rev Respir Med*. 2019; 13(12): 1135-1138. doi: 10.1080/17476348.2019.1674650

8. Ni KD, Liu JY. The functions of cytochrome P450 omega-hydroxylases and the associated eicosanoids in inflammation-related diseases. *Front Pharmacol*. 2021; 12: 716801. doi: 10.3389/fphar.2021.716801

9. Vishnupriya P, Aparna A, Viswanadha VP. Lipoxygenase (LOX) pathway: A promising target to combat cancer. *Curr Pharm Des*. 2021; 27(31): 3349-3369. doi: 10.2174/1381612826666210101153216

10. Kytikova OY, Novgorodtseva TP, Antonyuk MV, Denisenko YK, Gvozdenko T. Pro-resolving lipid mediators in the pathophysiology of asthma. *Medicina (Kaunas)*. 2019; 18(55): 284. doi: 10.3390/medicina55060284

11. Margină D, Ungurianu A, Purdel C, Nițulescu GM, Tsoukalas D, Sarandi E, et al. Analysis of the intricate effects of polyunsaturated fatty acids and polyphenols on inflammatory pathways in health and disease. *Food Chem Toxicol*. 2020; 143: 111558. doi: 10.1016/j.fct.2020.111558

12. Julliard WA, Myo YPA, Perelas A, Jackson PD, Thatcher TH, Sime PJ. Specialized pro-resolving mediators as modulators of immune responses. *Semin Immunol*. 2022; 59: 101605. doi: 10.1016/j.smim.2022.101605

13. Cagnina RE, Duvall MG, Nijmeh J, Levy BD. Specialized pro-resolving mediators in respiratory diseases. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2022; 25(2): 67-74. doi: 10.1097/MCO.0000000000000805

14. Kahnt AS, Schebb NH, Steinhilber D. Formation of lipoxins and resolvins in human leukocytes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2023; 166: 106726. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2023.106726

15. Krishnamoorthy N, Abdulnour RE, Walker KH, Engstrom BD, Levy BD. Specialized proresolving mediators in innate and adaptive immune responses in airway diseases. *Physiol Rev*. 2018; 98(3): 1335-1370. doi: 10.1152/physrev.00026.2017

16. Serhan CN. The resolution of inflammation: The devil in the flask and in the details. *FASEB J*. 2011; 25(5): 1441-1448. doi: 10.1096/fj.11-0502ufm

17. Jordan PM, Werz O. Specialized pro-resolving mediators: Biosynthesis and biological role in bacterial infections. *FEBS J*. 2022; 289(14): 4212-4227. doi: 10.1111/febs.16266

18. Powell WS. Eicosanoid receptors as therapeutic targets for asthma. *Clin Sci (Lond)*. 2021; 135(16): 1945-1980. doi: 10.1042/CS20190657

19. Serna MF, Mosquera Escudero M, García-Perdomo HA. Lipoxins and their relationship with inflammation-associated diseases. A systematic review. *Obes Res Clin Pract*. 2023; 17(4): 298-307. doi: 10.1016/j.orcp.2023.06.001

20. Maciuszek M, Cacace A, Brennan E, Godson C, Chapman TM. Recent advances in the design and development of formyl peptide receptor 2 (FPR2/ALX) agonists as pro-resolving agents with diverse therapeutic potential. *Eur J Med Chem*. 2021; 213: 113167. doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113167

21. Ismael A, Zeeshan M, Hansen JH. Synthesis of aromatic lactone analogues of lipoxin A4. *BMC Res Notes*. 2022; 15(1): 30. doi: 10.1186/s13104-022-05917-4

22. De Gaetano M, Butler E, Gahan K, Zanetti A, Marai M, Chen J, et al. Asymmetric synthesis and biological evaluation of imidazole- and oxazole-containing synthetic lipoxin A_4 mimetics (sLXms). *Eur J Med Chem*. 2019; 162: 80-108. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.10.049

23. Rao Z, Caprioglio D, Gollowitzer A, Kretzer C, Imperio D, Collado JA, et al. Rotational constriction of curcuminoids impacts 5-lipoxygenase and mPGES-1 inhibition and evokes a lipid mediator class switch in macrophages. *Biochem Pharmacol*. 2022; 203: 115202. doi: 10.1016/j.bcp.2022.115202

24. Werner M, Jordan PM, Romp E, Czapka A, Rao Z, Kretzer C, et al. Targeting biosynthetic networks of the proinflammatory and proresolving lipid metabolome. FASEB J. 2019; 33(5): 6140-6153. doi: 10.1096/fj.201802509R

25. Han YH, Lee K, Saha A, Han J, Choi H, Noh M, et al. Specialized proresolving mediators for therapeutic interventions targeting metabolic and inflammatory disorders. *Biomol Ther (Seoul)*. 2021; 29(5): 455-464. doi: 10.4062/biomolther

26. Perretti M, Godson C. Formyl peptide receptor type 2 agonists to kick-start resolution pharmacology. *Br J Pharmacol*. 2020; 177(20): 4595-600. doi: 10.1111/bph.15212

27. Avilla MN, Malecki KMC, Hahn ME, Wilson RH, Bradfield CA. The Ah receptor: Adaptive metabolism, ligand diversity, and the xenokine model. *Chem Res Toxicol*. 2020; 33: 860-879. doi: 10.1021/acs.chemrestox.9b00476

28. Larigot L, Benoit L, Koual M, Tomkiewicz C, Barouki R, Coumoul X. Aryl hydrocarbon receptor and its diverse ligands and functions: An exposome receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2022; 62: 383-404. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-052220-115707

29. Bock KW. Aryl hydrocarbon receptor (AHR)-mediated inflammation and resolution: Non-genomic and genomic signaling. *Biochem Pharmacol*. 2020; 182: 114220. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114220

30. Samuelsson B. From studies of biochemical mechanism to novel biological mediators: Prostaglandin endoperoxides, thromboxanes, and leukotrienes. Nobel Lecture, 1982. *Biosci Rep*. 1983; 3(9): 791-813. doi: 10.1007/BF01133779

31. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol*. 1971; 231(25): 232-235. doi: 10.1038/newbio231232a0

32. Houck JC. *Chemical messengers of the inflammatory process.* Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press; 1979.

33. Weissmann G, Smolen JE, Korchak HM. Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. *N Engl J Med*. 1980; 303(1): 27-34. doi: 10.1056/ NEJM198007033030109

34. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL, Schoen FJ. *Robbins pathologic basis of disease;* 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994.

35. Levy BD, Clish CB, Schmidt B, Gronert K, Serhan CN. Lipid mediator class switching during acute inflammation: Signals in resolution. *Nat Immunol*. 2001; 2(7): 612-619. doi: 10.1038/89759

36. Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin biosynthesis: An update and role in anti-inflammation and pro-resolution. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2002; 68-69: 433-455. doi: 10.1016/s0090-6980(02)00047-3

37. Derada Troletti C, Enzmann G, Chiurchiù V, Kamermans A, Tietz SM, Norris PC, et al. Pro-resolving lipid mediator lipoxin A(4) attenuates neuro-inflammation by modulating T cell responses and modifies the spinal cord lipidome. *Cell Rep.* 2021; 35(9): 109201. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109201

38. Boff D, Oliveira VLS, Queiroz Junior CM, Galvão I, Batista NV, Gouwy M. Lipoxin A(4) impairs effective bacterial control and potentiates joint inflammation and damage caused by *Staphylococcus aureus* infection. *FASEB J*. 2020; 34(9): 11498-11510. doi: 10.1096/fj.201802830RR

39. Lecomte M, Laneuville O, Ji C, DeWitt DL, Smith WL. Acetylation of human prostaglandin endoperoxide synthase-2 (cyclooxygenase-2) by aspirin. *J Biol Chem*. 1994; 269(18): 13207-13215.

40. Chiang N, Serhan CN. Specialized pro-resolving mediator network: An update on production and actions. *Essays Biochem*. 2020; 64: 443-462. doi: 10.1042/EBC20200018

41. Werz O. Introduction to the lipid mediators special issue. *Biochem Pharmacol*. 2023; 207: 115375. doi: 10.1016/j.bcp.2022.115375

42. Schebb NH, Kühn H, Kahnt AS, Rund KM, O'Donnell VB, Flamand N, et al. Formation, signaling and occurrence of specialized pro-resolving lipid mediators – What is the evidence so far? *Front Pharmacol.* 2022; 13: 838782. doi: 10.3389/fphar.2022.838782

43. Birnbaum Y, Ye Y, Lin Y, Freeberg SY, Nishi SP, Martinez JD, et al. Augmentation of myocardial production of 15-epi-lipoxin-a4 by pioglitazone and atorvastatin in the rat. *Circulation*. 2006; 114(9): 929-935. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.629907

44. Planagumà A, Pfeffer MA, Rubin G, Croze R, Uddin M, Serhan CN, et al. Lovastatin decreases acute mucosal inflammation via 15-epi-lipoxin A4. *Mucosal Immunol.* 2010; 3(3): 270-279. doi: 10.1038/mi.2009.141

45. Biringer RG. The enzymology of human eicosanoid pathways: The lipoxygenase branches. *Mol Biol Rep.* 2020; 47(9); 7189-7207. doi: 10.1007/s11033-020-05698-8

46. Kulkarni JL, Nadler RG, Mirmira I. Regulation of tissue inflammation by 12-lipoxygenases. *Biomolecules*. 2021; 11(5): 717. doi: 10.3390/biom11050717

47. Romano M. Lipoxin and aspirin-triggered lipoxins. *Sci World J*. 2010; 10: 1048-1064. doi: 10.1100/tsw.2010.113

48. Claria J, Serhan CN. Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92: 9475-9479. doi: 10.1073/pnas.92.21.9475

49. Green AR, Freedman C, Tena J, Tourdot BE, Liu B, Holinstat M, et al. 5S,15S-dihydroperoxyeicosatetraenoic acid (5,15-diHpETE) as a lipoxin intermediate: Reactivity and kinetics with human leukocyte 5-lipoxygenase, platelet 12-lipoxygenase, and reticulocyte 15-lipoxygenase-1. *Biochemistry.* 2018; 57(48): 6726-6734. doi: 10.1021/acs.biochem.8b00889

50. Mainka M, George S, Angioni C, Ebert R, Goebel T, Kampschulte N, et al. On the biosynthesis of specialized pro-resolving mediators in human neutrophils and the influence of cell integrity. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2022; 1867(3) :159093. doi: 10.1016/j.bbalip.2021.159093

51. Rådmark O. Formation of eicosanoids and other oxylipins in human macrophages. *Biochem Pharmacol.* 2022; 204: 115210. doi: 10.1016/j.bcp.2022.115210

52. Dalli J, Serhan CN. Specific lipid mediator signatures of human phagocytes: Microparticles stimulate macrophage efferocytosis and pro-resolving mediators. *Blood*. 2012; 120(15): e60-e72. doi: 10.1182/blood-2012-04-423525

53. Tylek K, Trojan E, Leśkiewicz M, Regulska M, Bryniarska N, Curzytek K, et al. Time-dependent protective and pro-resolving effects of FPR2 agonists on lipopolysaccharide-exposed microglia cells involve inhibition of NF-κB and MAPKs pathways. *Cells*. 2021; 10(9): 2373. doi: 10.3390/cells10092373

54. Barnig C, Frossard N, Levy BD. Towards targeting resolution pathways of airway inflammation in asthma. *Pharmacol Ther.* 2018; 186: 98-113. doi: 10.1016/j.pharmthera.2018.01.004

55. Ho CF, Ismail NB, Koh JK, Gunaseelan S, Low YH, Ng YK, et al. Localisation of formyl-peptide receptor 2 in the rat central nervous system and its role in axonal and dendritic outgrowth. *Neurochem Res.* 2018; 43(8): 1587-1598. doi: 10.1007/s11064-018-2573-0

56. Filep JG, Sekheri M, Kebir DE. Targeting formyl peptide receptors to facilitate the resolution of inflammation. *Eur J Pharmacol*. 2018; 833: 339-348. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.06.025

57. Chen T, Xiong M, Zong X, Ge Y, Zhang H, Wang M, et al. Structural basis of ligand binding modes at the human formyl peptide receptor 2. *Nat Commun.* 2020; 11(1): 1208. doi: 10.1038/s41467-020-15009-1

58. McArthur S, Juban G, Gobbetti T, Desgeorges T, Theret M, Gondin J, et al. Annexin A1 drives macrophage skewing to accelerate muscle regeneration through AMPK activation. *J Clin Invest*. 2020; 130(3): 1156-1167. doi: 10.1172/JCI124635

59. Qin CX, Norling LV, Vecchio EA, Brennan EP, May LT, Wootten D, et al. Formylpeptide receptor 2: Nomenclature, structure, signalling and translational perspectives: IUPHAR review 35. *Br J Pharmacol*. 2022; 179(19): 4617-4639. doi: 10.1111/bph.15919

60. Merlin J, Park J, Vandekolk TH, Fabb SA, Allinne J, Summers RJ, et al. Multipathway *in vitro* pharmacological characterization of specialized proresolving G protein-coupled receptors. *Mol Pharmacol.* 2022; 101(4): 246-256. doi: 10.1124/molpharm.121.000422

61. Quintana FJ. Regulation of central nervous system autoimmunity by the aryl hydrocarbon receptor. *Semin Immunopathol*. 2013; 35: 627-635. doi: 10.1007/s00281-013-0397-1

62. Stockinger B, Di Meglio P, Gialitakis M, Duarte JH. The aryl hydrocarbon receptor: Multitasking in the immune system. *Annu Rev Immunol*. 2014; 32: 403-432. doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120245

63. Tsai MJ, Hsu YL, Wang TN, Wu LY, Lien CT, Hung CH, et al. Aryl hydrocarbon receptor (AhR) agonists increase airway epithelial matrix metalloproteinase activity. *J Mol Med (Berl)*. 2014; 92(6): 615-628. doi: 10.1007/s00109-014-1121-x

64. Chiba T, Uchi H, Yasukawa F, Furue M. Role of the arylhydrocarbon receptor in lung disease. *Int Arch Allergy Immuno*. 2021; l(155): 129-134. doi: 10.1159/000327499

65. Körner A, Zhou E, Müller C, Mohammed Y, Herceg S, Bracher F, et al. Inhibition of Δ24-dehydrocholesterol reductase activates pro-resolving lipid mediator biosynthesis and inflammation resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019; 116(41): 20623-20634. doi: 10.1073/pnas.1911992116

66. Corminboeuf O, Leroy X. FPR2/ALXR agonists and the resolution of inflammation. *J Med Chem*. 2015; 58(2): 537-559. doi: 10.1021/jm501051x

67. Godson C, Guiry P, Brennan E. Lipoxin mimetics and the resolution of inflammation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2023; 63: 429-448. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-051921-085407

68. Kong X, Wu SH, Zhang L, Chen XQ. Pilot application of lipoxin A4 analog and lipoxin A4 receptor agonist in asthmatic children with acute episodes. *Exp Ther Med*. 2017; 14(3): 2284-2290. doi: 10.3892/etm.2017.4787

69. Lind S, Sundqvist M, Holmdahl R, Dahlgren C, Forsman H, Olofsson P. Functional and signaling characterization of the neutrophil FPR2 selective agonist Act-389949. *Biochem Pharmacol*. 2019; 166: 163-173. doi: 10.1016/j.bcp.2019.04.030

70. Wang H, Do DC, Liu J, Wang B, Qu J, Ke X, et al. Functional role of kynurenine and aryl hydrocarbon receptor axis in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol.* 2018; 141(2): 586-600.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2017.06.013

71. Weng CM, Wang CH, Lee MJ, He JR, Huang HY, Chao MW, et al. Aryl hydrocarbon receptor activation by diesel exhaust particles mediates epithelium-derived cytokines expression in severe allergic asthma. *Allergy.* 2018; 73(11): 2192-2204. doi: 10.1111/all.13462

72. Wang E, Liu X, Tu W, Do DC, Yu H, Yang L, et al. Benzo(a) pyrene facilitates dermatophagoides group 1 (Der f 1)-induced epithelial cytokine release through aryl hydrocarbon receptor in asthma. *Allergy.* 2019; 74(9): 1675-1690. doi: 10.1111/all.13784

73. Shivanna B, Chu C, Welty SE, Jiang W, Wang L, Couroucli XI, et al. Omeprazole attenuates hyperoxic injury in H441 cells via the aryl hydrocarbon receptor. *Free Radic Biol Med.* 2011; 51(10): 1910-1917. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.013

74. Shivanna B, Chu C, Moorthy B. The aryl hydrocarbon receptor (AHR): A novel therapeutic target for pulmonary diseases? *Int J Mol Sci*. 2022; 23(3): 1516. doi: 10.3390/ijms23031516

75. Yagoubi A, Laid Y, Smati L, Nafissa Benhalla K, Benhassine F. Does omeprazole improve asthma-control in poorly-controlled asthmatic children with gastro-esophageal reflux. *J Asthma*. 2022; 59(6): 1169-1176. doi: 10.1080/02770903.2021.1917606

76. Wang WT, Li CY, Chang YT, Bai YM, Tsai SJ, Chen TJ, et al. Proton-pump inhibitors are associated with an increased risk of asthma: A nationwide nested case-control study. *Allergy Asthma Proc*. 2023; 44(5): 345-353. doi: 10.2500/aap.2023.44.230035

77. Safe S, Jin UH, Park H, Chapkin RS, Jayaraman A. Aryl hydrocarbon receptor (AHR) ligands as selective AHR modulators (SAhRMs). *Int J Mol Sci*. 2020; 21(18): 6654. doi: 10.3390/ijms21186654

78. Levy BD, Bonnans C, Silverman ES, Palmer LJ, Marigowda G, Israel E, et al. Diminished lipoxin biosynthesis in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172(7): 824-830. doi: 10.1164/rccm.200410-1413OC

79. Tattersfield AE, Knox AJ, Britton JR, Hall IP. Asthma. *Lancet*. 2002; 360: 1313-1322. doi: 10.1016/s0140-6736(02)11312-2

80. Yamaguchi H, Higashi N, Mita H, Ono E, Komase Y, Nakagawa T, et al. Urinary concentrations of 15-epimer of lipoxin A(4) are lower in patients with aspirin-intolerant compared with aspirin-tolerant asthma. *Clin Exp Allergy.* 2011; 41(12): 1711-1718. doi: 10.1111/j.1365-2222.2011.03839.x

Сведения об авторах

Кытикова Оксана Юрьевна – доктор медицинских наук, научный сотрудник лаборатории восстановительного лечения, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, e-mail: kytikova@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5018-0271

Новгородцева Татьяна Павловна – доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по научной работе, главный научный сотрудник лаборатории биомедицинских исследований, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, e-mail: nauka@niivl.ru, https://orcid.org/0000-0002-6058-201X

Коваленко Иван Сергеевич – аспирант лаборатории биомедицинских исследований, Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, e-mail: dr.kovalenko.is@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-7404-7501

Information about the authors

Oxana Yu. Kytikova – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Rehabilitation Treatment, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, e-mail: kytikova@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-5018-0271

Tatyana P. Novgorodtseva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for Science, Chief Research Officer at the Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, e-mail: nauka@niivl.ru, https://orcid.org/0000-0002-6058-201X

Ivan S. Kovalenko – Postgraduate at the Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Institute of Medical Climatology and Rehabilitative Treatment, e-mail: dr.kovalenko.is@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-7404-7501

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ
INTERNAL DISEASES

СЛОЖНОСТИ ДИАГНОСТИКИ БОЛЕЗНИ ФАБРИ В РЕАЛЬНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Петрухина А.А. [1],
Насонова С.Н. [1],
Жиров И.В. [1, 2],
Осмоловская Ю.Ф. [1],
Терещенко С.Н. [1, 2],
Палеев Ф.Н. [1]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России (121552, г. Москва, ул. Академика Чазова, 15а, Россия)
[2] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (125993, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Петрухина Ангелина Анатольевна,
e-mail: Angelina-heart@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Актуальность. *Болезнь Фабри (БФ) – это генетически обусловленное заболевание, при котором формируется дефицит или полное отсутствие активности α-галактозидазы А (GLA/AGAL, galactosidase alpha/alpha-galactosidase). Диагностика данного заболевания сопряжена с определёнными сложностями, особенно при позднем дебюте, с преимущественным поражением сердца.*

Цель исследования. *Оценка специально разработанных алгоритмов скрининга болезни Фабри в реальной клинической практике.*

Материалы и методы. *Анализ проводился ретроспективно на основе медицинской документации. Было проанализировано 91 848 медицинских заключений. Сформированы два алгоритма для формирования базы данных. Первый алгоритм включал пациентов 25–60 лет с утолщением стенки левого желудочка (ЛЖ) до 13 мм и более по данным эхокардиографии (ЭхоКГ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ), имеющих нарушения ритма, проводимости сердца или укорочение интервала PQ. Критериями исключения являлись гипертоническая болезнь или артериальная гипертензия, амилоидоз сердца, болезнь Гоше. Второй алгоритм включал пациентов 25–60 лет с утолщением стенки ЛЖ до 13 мм и более по данным ЭхоКГ и МРТ в сочетании с артериальной гипертензией, нарушениями ритма, проводимости сердца или укорочением интервала PQ. Критериями исключения являлись амилоидоз сердца и болезнь Гоше.*

Результаты. *В результате применения двух алгоритмов были сформированы группы: 1-я группа – 46 пациентов, из них 17 пациентов с нарушением ритма или проводимости сердца; 2-я группа – 31 пациент, из них 24 пациента с нарушением ритма или проводимости сердца. Пациенты были приглашены на приём для проведения генетического исследования и измерения активности α-D-галактозы. У всех обследованных пациентов уровень активности фермента α-D-галактозы был в пределах нормальных значений, а генетический тест показал отрицательный результат.*

Вывод. *Частота встречаемости БФ в кардиологической популяции является низкой. Однако применение специализированных алгоритмов для скрининга пациентов с данной патологией позволит выявлять пациентов на ранних стадиях заболевания для своевременного начала терапии.*

Ключевые слова: *дефицит α-галактозидазы А, болезнь Фабри, гипертрофическая кардиомиопатия, диагноз*

Статья поступила: 14.08.2024
Статья принята: 03.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Петрухина А.А., Насонова С.Н., Жиров И.В., Осмоловская Ю.Ф., Терещенко С.Н., Палеев Ф.Н. Сложности диагностики болезни Фабри в реальной клинической практике. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 50-58. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.5

DIFFICULTIES IN THE DIAGNOSIS OF FABRY DISEASE IN REAL CLINICAL PRACTICE

Petrukhina A.A. [1],
Nasonova S.N. [1],
Zhirov I.V. [1, 2],
Osmolovskaya Yu.F. [1],
Tereshchenko S.N. [1, 2],
Paleev F.N. [1]

[1] National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov (Akademika Chazova str. 15A, Moscow 121552, Russian Federation)
[2] Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Barrikadnaya str. 2/1, build. 1, Moscow 125993, Russian Federation)

Corresponding author:
Angelina A. Petrukhina,
e-mail: Angelina-heart@yandex.ru

ABSTRACT

Background. *Fabry disease is a genetically determined disease in which deficiency or complete absence of α-galactosidase A (GLA/AGAL) activity is formed. Diagnosis of this pathology is difficult, especially in late onset, with predominant cardiac involvement.*

The aim. *Evaluation of specially designed screening algorithms for Fabry disease in real clinical practice.*

Materials and methods. *The analysis was conducted retrospectively on the basis of medical documentation. 91 848 medical reports were analyzed. Two algorithms have been developed for the creation of the database. The first algorithm included patients aged 25–60 years with a left ventricle wall thickness of 13 mm or more, as indicated by echocardiography and magnetic resonance imaging, and exhibiting disturbances in cardiac rhythm, cardiac conduction, or a reduction in the PQ interval, as determined by echocardiography. Exclusion criteria included hypertension, aortic aneurysm, cardiac amyloidosis, and Gaucher disease. The second algorithm included patients aged 25–60 years with a left ventricle wall thickness of 13 mm or more, in conjunction with hypertension, disturbances in cardiac rhythm, cardiac conduction, or reduction of PQ interval. The exclusion criteria were cardiac amyloidosis and Gaucher disease.*

Results. *As a result of applying two algorithms, the following groups were formed: Group 1 – 46 patients, including 17 patients with cardiac rhythm or conduction disorders; Group 2 – 31 patients, including 24 patients with cardiac rhythm or conduction disorders. Patients were invited to an appointment for genetic testing and measurement of α-D-galactose activity. All patients tested had α-D-galactose enzyme activity levels within normal limits and the genetic test was negative.*

Conclusion. *The incidence of Fabry disease in the cardiac population is low. However, the use of specialized algorithms for screening patients with this pathology will allow identifying patients at early stages of the disease for timely initiation of therapy.*

Key words: *α-galactosidase A deficiency, Fabry disease, hypertrophic cardiomyopathy, diagnosis*

Received: 14.08.2024
Accepted: 03.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Petrukhina A.A., Nasonova S.N., Zhirov I.V., Osmolovskaya Yu.F., Tereshchenko S.N., Paleev F.N. Difficulties in the diagnosis of Fabry disease in real clinical practice. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 50-58. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.5

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Фабри (БФ) – это генетически обусловленное заболевание, при котором формируется дефицит или полное отсутствие активности α-галактозидазы А (GLA/AGAL, galactosidase alpha/alpha-galactosidase) [1].

Данное заболевание относится к Х-сцепленным лизосомальным заболеваниям. Фермент α-галактизада А отщепляет терминальный остаток α-галактозы олигосахаридной центральной цепи гликосфинголипидов.

Снижение активности данного фермента приводит к накоплению лизосомального глоботриаозилцерамида (Gb3) и родственного ему глоботриаозилсфингозина (лизо-Gb3) в эндотелиальных клетках сосудов, подоцитах, кардиомиоцитах, клетках периферической нервной системы, ввиду чего происходит прогрессирующее внутриклеточное накопление гликофосфолипидов, что обуславливает соответствующую клиническую картину заболевания [1, 2]. В зависимости от локализации поражения в клинической картине могут встречаться такие проявления, как нейропатическая боль, ангиокератомы, гипогидроз, желудочно-кишечные нарушения. Для возрастной группы 20–40 лет наиболее характерно поражение почек (протеинурия и снижение скорости клубочковой фильтрации), сердца (гипертрофия миокарда, утолщение створок клапанов и нарушения ритма сердца) и центральной нервной системы (транзиторные ишемические атаки, инсульты).

БФ относится к группе орфанных заболеваний. Точная распространённость данного заболевания в РФ неизвестна. В настоящее время в РФ зарегистрировано 230 пациентов с БФ, однако предполагаемая расчётная распространённость составляет 1 случай на 50–100 тыс. населения. Зарубежные авторы указывают на более низкую распространённость БФ – от 1 на 117 000 до 1 на 476 000 населения [3]. По частоте встречаемости БФ занимает 2-е место после болезни Гоше среди лизосомных болезней накопления [2].

Первые описания БФ относятся к 1898 г. Это были случаи с крайне тяжёлым течением, манифестирующие в раннем детском и подростковом возрасте, характеризующиеся полиорганной недостаточностью и летальными исходами. Такое «классическое течение» было описано у пациентов мужского пола.

Очевидно, что данное заболевание развивается ввиду отсутствия α-галактидазы А и выраженного накопления Gb3 [4]. Именно Х-сцепленное наследование и объясняет «классическое течение» у лиц мужского пола [4, 5].

Клинические проявления БФ представлены широким спектром неспецифических симптомов, которые не патогномоничны и часто схожи с симптомами других заболеваний. Сюда относятся почечная недостаточность, кардиомиопатия, нарушения ритма сердца, рецидивирующие инсульты в возрасте до 50 лет, желудочно-кишечные боли, нейропатические боли в конечностях, гипогидроз и ангиокератомы [1].

Ключевым фактором ухудшения прогноза и качества жизни пациентов с БФ является развитие патологического процесса в сердце, что приводит к развитию гипертрофического фенотипа кардиопатии [5, 6]. Это может приводить к развитию хронической сердечной недостаточности (ХСН) с сохранной фракцией выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) и желудочковым нарушениям ритма сердца. Манифестация заболевания приходится на молодой возраст пациентов: женщины старше 40 лет и мужчины старше 30 лет [7].

При проведении дифференциального диагноза с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) и её фенокопиями необходимо опираться следующие на маркеры: укорочение интервала PQ; инверсия зубца Т; AV-блокада на поздних стадиях; блокада пучка Гиса; перенесённые острые нарушения мозгового кровообращения; транзиторные ишемические атаки [8].

Основным методом диагностики как поражения сердца при БФ, так и других видов кардиомиопатий является эхокардиография (ЭхоКГ). Типичным, но не специфическим признаком БФ является концентрическая гипертрофия миокарда ЛЖ без обструкции выносящего тракта ЛЖ в покое, частота встречаемости которой среди мужчин достигает 50 %, среди женщин – одной трети [9]. Прогрессирование заболевания сопряжено с формированием фиброза миокарда, что приводит к истончению задней и нижней стенки ЛЖ и появлению зон нарушения локальной сократимости миокарда в виде участков гипо- и акинеза. Дополнительными эхокардиографическими признаками являются гипертрофия папиллярных мышц и утолщение стенки правого желудочка [10]. На начальных стадиях заболевания сократительная способность миокарда ЛЖ остаётся длительное время сохранённой, однако по мере прогрессирования заболевания появляются зоны фиброза в миокарде, а также в случае развития ишемической болезни сердца или нарушений ритма сердца ФВ прогрессивно снижается [11]. Кроме того, диастолическая функция миокарда на ранних стадиях заболевания также остаётся нормальной, однако достаточно быстро отмечается её нарушение. Оценка диастолической функции должна основываться на комплексной интеграции допплеровских диастолических индексов и объёма левого предсердия и интерпретироваться в контексте клинических и лабораторных данных.

Створки митрального и аортального клапанов часто утолщены, с лёгкой или умеренной регургитацией. У небольшой части пациентов наблюдается пролапс митрального клапана или тяжёлая митральная регургитация из-за дегенерации створок [12]. Однако золотым стандартом диагностики БФ является магнитно-резонансная томография (МРТ) сердца с использованием контрастных веществ на основе гадолиния, обеспечивающая точную оценку размера, массы и геометрии ЛЖ и возможность визуализировать фиброз миокарда, обычно распределённый в среднем слое миокарда заднебоковой стенки. Наличие обширного фиброза связано с уменьшением ответа на фермент-заместительную терапию и с повышенным риском нарушений ритма сердца [13]. У некоторых пациентов, особенно у женщин, заместительный фиброз может опережать развитие значительной гипертрофии ЛЖ (ГЛЖ).

С помощью МРТ сердца можно выявить апикальную ГЛЖ, что затруднено при проведении ЭхоКГ, а также гипертрофию папиллярных мышц. Эти проявления являются маркерами раннего поражения сердца [14]. За последнее время широкое применение в диагностике БФ находит МРТ с нативным (неконтрастным) Т1-картированием, при котором сниженные значения Т1 отражают накопление гликосфинголипидов в миокарде, что происходит гораздо раньше выявления значительной ГЛЖ [15].

Эндомиокардиальную биопсию с электронной микроскопией можно рассмотреть для диагностики ФД у пациентов с вариантами неизвестной значимости и низкими уровнями лизо-Gb3.

Основная цель лечения БФ – замедление прогрессирования заболевания и предотвращение необратимых повреждений жизненно важных органов. Мультидисциплинарный подход – основа для ведения данной категории пациентов с участием врачей разных специальностей [7].

Основными стратегическими направлениями являются: 1) внедрение в клиническую практику заместительной терапии; 2) раннее выявление пациентов с БФ; 3) дифференциальная диагностика от других причин ГЛЖ [16]. Оценка влияния заместительной терапии проводится по таким параметрам, как функциональный класс ХСН, класс стенокардии, толщина стенки ЛЖ, индекс массы миокарда и ФВ ЛЖ. При помощи физиотерапии можно достичь следующих терапевтических эффектов: стабилизация функции почек или замедление прогрессирования терминальной почечной недостаточности; стабилизация толщины и функции сердечной стенки или уменьшение гипертрофии левого желудочка; купирование нейропатической боли и уменьшение желудочно-кишечных расстройств; улучшение потоотделения [17–20]. Краеугольным камнем в стратегии является своевременное выявление пациентов с подозрением на БФ для постановки диагноза и назначения патогенетической терапии на ранних этапах.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка специально разработанных алгоритмов скрининга болезни Фабри в реальной клинической практике.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами была проанализирована выборка медицинской документации пациентов, госпитализированных в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России в период с 2018 по 2022 г.

В результате отбора была сформирована первичная база данных, состоящая из 1 044 892 медицинских заключений. В число инструментальных методов обследования, доступных для анализа, вошли: протоколы кардиоверсии – 130 939; протоколы МРТ – 4 681; протоколы стресс-ЭхоКГ – 17 415; протоколы чреспищеводного ЭхоКГ – 6 277; протоколы трансторакальной ЭхоКГ – 21 233.

Для решения дальнейших задач были выбраны два алгоритма анализа базы данных. В первом случае дополнительному анализу подвергались документы пациентов в возрасте 25–60 лет с утолщением стенки ЛЖ 13 мм и более по данным ЭхоКГ/МРТ, нарушениями ритма, проводимости сердца или укорочением интервала PQ и отсутствием ранее установленных диагнозов гипертонической болезни/артериальной гипертензии (АГ), амилоидоза сердца, болезни Гоше и иных болезней накопления или инфильтративной патологии сердца.

Во второй алгоритм включались медицинские документы пациентов в возрасте 25–60 лет с утолщением стенки ЛЖ 13 мм и более по данным ЭхоКГ/МРТ в сочетании с АГ, нарушениями ритма, проводимости сердца или укорочением интервала PQ и отсутствием диагнозов амилоидоза сердца и болезни Гоше.

После анализа медицинской документации при помощи программ математического моделирования методом с применением систем искусственного интеллекта пациентам с высокой вероятностью наличия БФ предлагался визит в стационар, во время которого брался анализ крови (метод «сухой капли») для медико-генетического подтверждения данного заболевания и определения уровня активности α-D-галактозы.

Все пациенты были приглашены на приём для проведения генетического исследования и определения уровня активности α-D-галактозы. 16 пациентам, проживающим в других населённых пунктах, была отправлена информация о возможности проведения исследования в своём регионе.

При подозрении на БФ у лиц мужского пола, как правило, сначала проводят ферментативный тест и в случае его положительного результата выполняют генетическое тестирование. У женщин вначале выполняется генетическое тестирование и при положительном тесте проводится определение ферментативной активности. В нашем исследовании всем проводились генетический тест и оценка активности фермента α-D-галактозы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлен перечень медицинской документации, включённой в анализ для выявления указанных выше индексных показателей.

На рисунке 1 представлены данные по выявлению пациентов с подозрением на БФ по результатам использования первого алгоритма. В результате применения первого алгоритма выбрано 46 пациентов, имеющих гипертрофию стенки левого желудочка 13 мм и более по данным инструментальных методов обследования. Однако в данной группе выявлено 17 пациентов с нарушением ритма сердца.

На рисунке 2 представлены данные по выявлению пациентов с подозрением на БФ по результатам исполь-

ТАБЛИЦА 1

ПЕРЕЧЕНЬ МЕДИЦИНСКОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ, ВКЛЮЧЁННОЙ В ИССЛЕДОВАНИЕ

TABLE 1

LIST OF MEDICAL RECORDS USED IN THE STUDY

Наименование документа	Количество документов по годам				
	2018	2019	2020	2021	2022
Эпикризы					
Внутрибольничный переводной эпикриз	8151	8088	10004	9945	4880
Выписной эпикриз	11636	11109	7999	10041	7168
Выписной эпикриз (дневной стационар)	21	41	43	512	479
Выписной эпикриз (хирургия)	382	397	303	377	170
Переводной эпикриз (в другое ЛПУ)	116	94	136	96	71
Эпикриз-выписка из медицинской карты амбулаторного больного	22268	26603	17188	10346	631
Этапный эпикриз	4280	4714	4111	3879	2361
Осмотры					
Дневная запись	135966	141373	140746	127772	86110
Консультация (внешняя)	2182	1293	677	696	507
Осмотр врача в приёмном отделении	3061	3106	1488	723	289
Осмотр кардиолога поликлинический	32298	35360	21690	23020	12212
Осмотр кардиолога/хирурга	6491	6238	3504	5220	3414
Инструментальные исследования					
Протокол кардиоверсии	130	205	181	305	248
Протокол МРТ	904	1041	0	1563	1173
Протокол МСКТ	1845	1190	3131	2056	1919
Протокол нагрузочной ЭхоКГ (стресс-ЭхоКГ)	3236	4327	3283	3948	2621
Ультразвуковое исследование сердца (чреспищеводная ЭхоКГ)	995	1443	1144	1646	1049
Ультразвуковое исследование сердца (ЭхоКГ)	193	274	589	1400	18777
Всего	**234155**	**246896**	**216217**	**203545**	**144079**

Примечание. ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение; МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография.

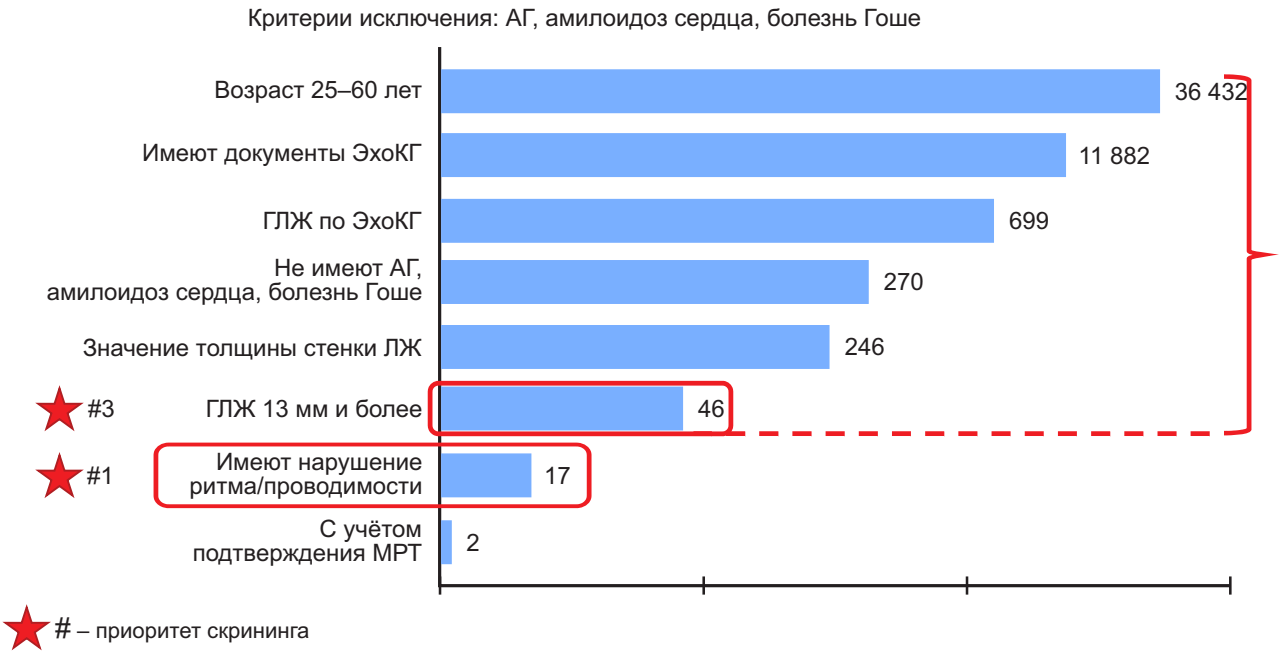


РИС. 1.

Этапы и результаты обработки данных по критериям алгоритма № 1

FIG. 1.

Stages and results of data processing according to the criteria of the algorithm No. 1

зования второго алгоритма. В результате применения второго алгоритма, куда включались пациенты, имеющие гипертрофию стенки ЛЖ 13 мм и более, и пациенты с диагнозом АГ, выявлен 31 пациент. Среди них имели нарушения ритма и проводимости 24 пациента.

Распределение пациентов с высоким риском БФ (всего 77 человек) представлено на рисунке 3.

Все 77 пациентов были приглашены для проведения генетического теста и оценки активности фермента α-D-галактозы. 16 пациентам была предоставлена возмож-

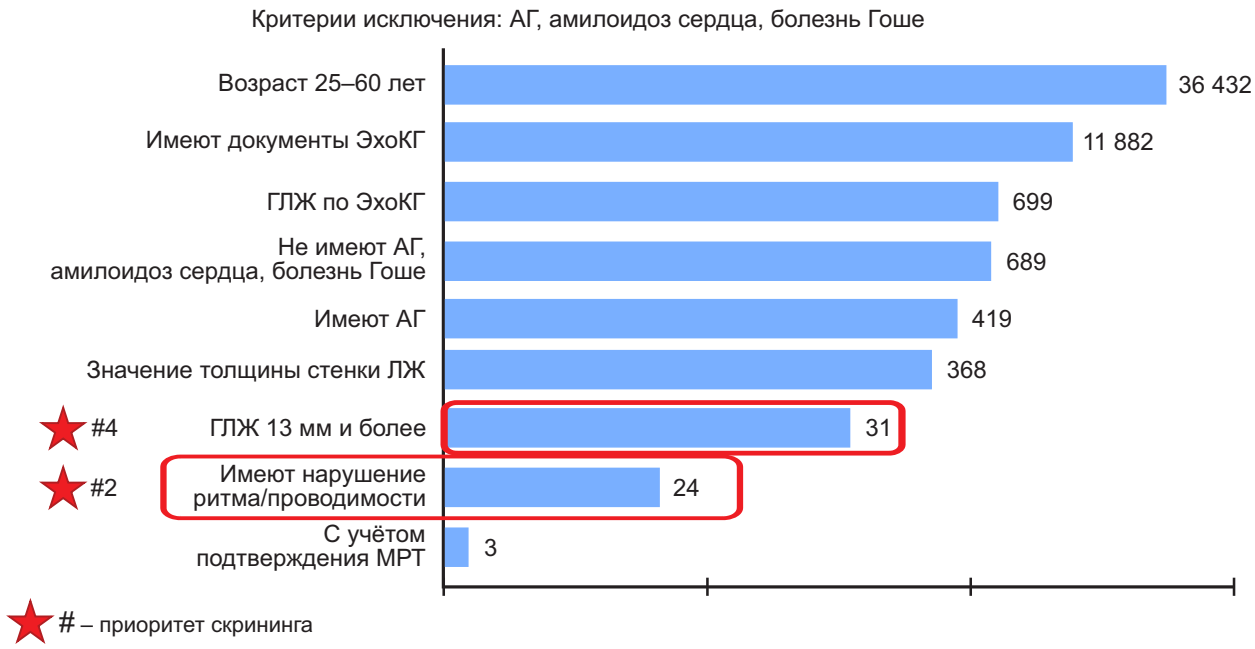


РИС. 2.
Этапы и результаты обработки данных по критериям алгоритма № 2

FIG. 2.
Stages and results of data processing according to the criteria of the algorithm No. 2

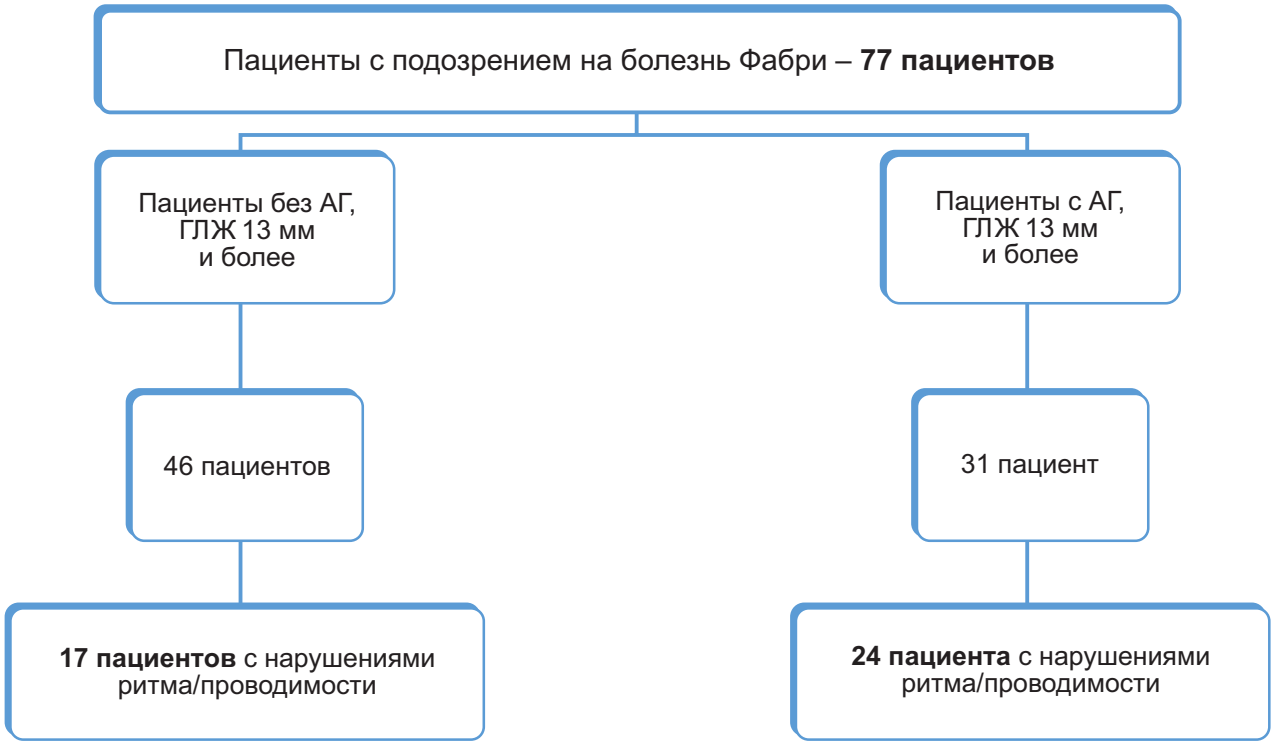


РИС. 3.
Распределение пациентов по группам для проведения скрининга

FIG. 3.
Distribution of patients by groups for screening

ность прохождения данного обследования в своём регионе, но ни один из них его не прошёл.

По различным причинам 29 пациентов отказались от проведения генетического исследования. Один пациент умер; 4 пациентам пришли результаты генетического тестирования во время участия в исследовании – им был поставлен диагноз амилоидоз; с 5 пациентами не удалось установить связь.

В итоге обследование было выполнено 22 пациентам. Во всех случаях как генетический, так и биохимический тест на определение БФ были отрицательными.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Ранняя диагностика болезни Фабри затруднена по ряду причин. Во-первых, низкая насторожённость специалистов первичного звена, включая педиатров, приводит к установлению диагноза уже на далеко зашедших стадиях заболевания, при которой эффективность патогенетической терапии заметно снижена. Вторая проблема – низкая специфичность общеклинической симптоматики и данных рутинных методов исследования, таких как электрокардиография (ЭКГ) и ЭхоКГ. Следует почеркнуть, что именно прогрессирование патологии со стороны сердца без проведения специфической терапии остаётся основной причиной плохого прогноза у пациентов с БФ. Всё это делает актуальными разработку и внедрение в широкую практику новых диагностических алгоритмов, а также блока образовательных мероприятий, касающихся данной патологии.

Применение искусственного интеллекта (ИИ) становится фактором, который может внести значимые изменения в диагностический поиск. В мировой литературе представлены исследования с обнадёживающими результатами, которые посвящены использованию ИИ в диагностике болезней накопления и инфильтративных заболеваний, таких как амилоидоз. Некоторые программы могут обнаруживать предсимптомную стадию амилоидной кардиомиопатии, в то время как другие могут предсказывать токсичность лёгких цепей при AL-амилоидозе по данным биопсии и гистологического исследования [21]. Показано, что программы ИИ дополняют обнаружение амилоидной кардиомиопатии и помогают в диагностике и стратификации риска у пациентов с ГКМП [22]. Следует отметить, что основным недостатком метода является размер выборки, особенно в одноцентровых проектах. Это вызывает опасения относительно возможности экстраполирования и обобщаемости результатов для более широких и разнообразных популяций [23, 24]. Потенциальный подход к возможности масштабирования является многоцентровое обучение ИИ, которое подразумевает использование данных из различных учреждений. Такой подход продемонстрировал значительный успех в разработке программы ИИ для диагностики ГКМП [23]. По данным литературы, в ряде исследований ИИ использовали для проведения скрининга. Скрининг проводился по результатам эхокардиографии пациентов с гипертрофией стенки ЛЖ для раннего выявления БФ [25, 26]. К примеру, использование ИИ для эффективного выявления гипертрофии стенки ЛЖ и проведения дифференциальной диагностики между многими возможными этиологиями является многообещающей областью для дальнейших исследований. Было показано, что подход ИИ, основанный на 12-канальной ЭКГ, имеет 87 % чувствительности и 90 % специфичности при выявлении гипертрофической кардиомиопатии [27]. Также было показано, что полностью автоматизированная эхокардиографическая интерпретация способна обнаруживать ГКМП и амилоидоз сердца с чувствительностью и специфичностью 93 % и 87 % соответственно [28]. Применение ИИ в МРТ-диагностике, основанное на паттернах позднего усиления гадолиния (LGE) при проведении МРТ сердца, продемонстрировало 88 % диагностической точности при обнаружении амилоидной кардиомиопатии [29]. Таким образом, использование ИИ в диагностике ГКМП и её фенокопий является перспективным направлением. Существует проблема объёма выборки для точности разработки программ диагностики данных заболеваний с помощью ИИ. Если учесть, что частота встречаемости как ГКПМ, так и амилоидной кардиомиопатии гораздо выше по сравнению с БФ, то проблема объёма выборки становится ещё более актуальной. Данный факт подчёркивает необходимость объединения усилий всего медицинского сообщества по созданию регистров, на базе которых можно разрабатывать более точные диагностические подходы с использованием ИИ. Кроме того, в свете практического применения ИИ в диагностике любых фенотипов ГКМП необходимо рутинное использование электронных медицинских карт с автоматизированным анализом данных инструментальных методов диагностики. Следовательно, всё вышеизложенное свидетельствует о необходимости дальнейших исследований для определения потенциальной роли ИИ в диагностике БФ. Понимание патофизиологии, диагностики и лечения БФ продолжает стремительно развиваться. Таким образом, у нас есть не только возможность более эффективно диагностировать БФ с использованием различных лабораторных и визуализирующих методов, но и своевременно начинать патогенетическую терапию.

В нашем исследовании, кроме объёма выборки, мы столкнулись с проблемой отказа пациентов от прохождения скрининга на БФ. Отказ, как правило, был обусловлен низкой осведомлённостью о БФ как среди пациентов, так и врачей общей практики, непонимание важности ранней диагностики и необходимости начала своевременной патогенетической заместительной терапии, преодолеть которую при помощи телефонного контакта оказалось трудной задачей.

Промедление с диагностикой и своевременным началом лечения остаются критическими проблемами для многих пациентов с БФ, особенно с поздним стартом кардиологического фенотипа заболевания. В результате эффект от терапии может быть более ограниченным. В связи с этим наиболее важным представляется мультидисциплинарный подход к скринингу пациентов на БФ. Важное значение имеет понимание клинических прояв-

лений БФ и рассмотрение их как части дифференциальной диагностики при необъяснимом увеличении толщины стенки ЛЖ. При выявлении пациента с БФ необходимо провести генетический скрининг членов семей, входящих в группу риска. В обзорном исследовании родословной было показано, что в среднем по крайней мере у пяти членов семьи была диагностирована болезнь Фабри после постановки диагноза пробанду [30]. Эти члены семьи могут быть диагностированы на относительно ранних стадиях заболевания.

Таким образом, необходимы дальнейшие исследования с целью обеспечения обобщаемости результатов, полученных при использовании различных алгоритмов, оценки реального влияния на результаты скрининга, диагностики и лечения пациентов. Кроме того, новые исследования смогут безусловно повысить доверие к использованию специальных программ среди медицинских специалистов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем исследовании было показано, насколько редко можно встретить БФ в реальной клинической практике у пациентов, госпитализированных в кардиологический стационар, что подчёркивает важность консолидации медицинского сообщества с целью решения столь важной и сложной задачи, как диагностика БФ.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sarate YuA, Hopkin RJ. Fabry's disease. *The* Lancet. 2008; 372: 1427-1435. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61589-5

2. Моисеев С.В., Новиков П.И., Фомин В.В. Лечение болезни Фабри. *Клиническая фармакология и терапия.* 2016; 25(4): 63-70. [Moiseev SV, Novikov PI, Fomin VV. Treatment of Fabry disease. *Clinical Pharmacology and Therapy*. 2016; 25(4): 63-70. (In Russ.)].

3. Schiffmann R, Hughes DA, Linthorst GE, Ortiz A, Svarstad E, Warnock DG, et al. Screening, diagnosis, and management of patients with Fabry disease: Conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO). *Controversies Conference. Kidney Int.* 2017; 91(2): 284-293. doi: 10.1016/j.kint.2016.10.004

4. Wanner C, Ortiz A, Wilcox WR, Hopkin RJ, Johnson J, Ponce E, et al. Global reach of over 20 years of experience in the patient-centered Fabry Registry: Advancement of Fabry disease expertise and dissemination of real-world evidence to the Fabry community. *Mol Genet Metab*. 2023; 139(3): 107603. doi: 10.1016/j.ymgme.2023.107603

5. Ortiz A, Germain DP, Desnik RJ, Politei J, Mauer M, Burlina A, et al. Once again about Fabry's disease: Recommendations for the management and treatment of adult patients. *Mol Genet Metab*. 2018; 123(4): 416-427. doi: 10.1016/j.ymgme.2018.02.014

6. Ortiz A, Abioz A, Bichet DG, Cabrera G, Charrow J, Germain DP, et al. Time to start treatment in adult patients with Fabry's disease receiving agalsidase β: Data from the Fabry Registry. *J Med Genet*. 2016; 53(7): 495-502. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103486

7. Linhart A, Germain DP, Olivoto I, Akhtar MM, Anastasakis A, Hughes D, et al. Expert consensus document on the treatment of cardiovascular manifestations of Fabry disease. *Eur J Heart Fail*. 2020; 22(7): 1076-1096. doi: 10.1002/ejhf.1960

8. Perry R, Shah R, Sayedi M, Patil S, Ganesan A, Linhart A, et al. The role of cardiac imaging in the diagnosis and treatment of Anderson – Fabry disease. *J Am Coll Cardiol Img*. 2019; 12(7): 1230-1242. doi: 10.1016/j.jcmg.2018.11.039

9. Fuertes Kenneally L, García-Álvarez MI, Feliu Rey E, García Barrios A, Climent-Payá V. Fabry disease cardiomyopathy: A review of the role of cardiac imaging from diagnosis to treatment. *Rev Cardiovasc Med*. 2022; 23(6): 192. doi: 10.31083/j.rcm2306192

10. Niemann M, Liu D, Hu K, Herrmann S, Breinig F, Strotmann J, et al. Protruding papillary muscles in Fabry's disease: A diagnostic marker? *Ultrasound Med Biol.* 2011; 37(1): 37-43. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2010.10.017

11. Marek J, Palecek T, Magne J, Lavergne D, Boulogne C, Fadel BM, et al. Comparison of echocardiographic parameters in Fabry cardiomyopathy and amyloidosis of the pulmonary circuits of the heart. *Echocardiography*. 2018; 35(11): 1755-1763. doi: 10.1111/echo.14144

12. Weidemann F, Strotmann JM, Niemann M, Herrmann S, Wilke M, Beer M, et al. Heart valve damage in Fabry cardiomyopathy. *Ultrasound Med Biol.* 2009; 359(5): 730-735. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2008.10.010

13. Linhart A, Paleček T. Narrative review on Morbus Fabry: Diagnosis and management of cardiac manifestations. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2021; 11(2): 650-660. doi: 10.21037/cdt-20-593

14. Kozor R, Callaghan F, Chan M, Hamilton-Craig K, Figtree GA, Grieve SM. The disproportionate contribution of papillary muscles and trabeculae to the total mass of the left ventricle makes the choice of the method of analysis of cardiovascular magnetic resonance imaging critically important in Fabry's disease. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2015; 17(1): 22. doi: 10.1186/s12968-015-0114-4

15. Sado DM, White SK, Piechnik SK, Banipersad SM, Treibel T, Kaptur G, et al. Detection and assessment of Anderson – Fabry disease using non-contrast T1-mapping of the myocardium using cardiovascular magnetic resonance imaging. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2013; 6(3): 392-398. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.112.000070

16. Germain DP, Elliott PM, Falissard B, Fomin VV, Hilz MJ, Jovanovic A, et al. The effect of enzyme replacement therapy on clinical outcomes in male patients with Fabry disease: A systematic review of the literature conducted by a European expert group. *Mol Genet Metab Rep*. 2019; 6(19): 100454. doi: 10.1016/j.ymgmr.2019.100454

17. Lenders M, Brand E. Effects of enzyme replacement therapy and anti-drug antibodies in patients with Fabry's disease. *J Am Soc Nephrol*. 2018; 29: 2265-2278. doi: 10.1681/ASN.2018030329

18. Germain DP, Charrow J, Desnik RJ, Gouffon N, Kempf J, Lachmann RH, et al. A ten-year result of enzyme replacement therapy with agalsidase beta in patients with Fabry's disease. *Jay Med Genet*. 2015; 52: 353-358. doi: 10.1136/jmedgenet-2014-102797

19. Kampmann S, Perrin A, Beck M. The effectiveness of the replacement of the enzyme agalsidase alpha in Fabry disease: Cardiac consequences after 10 years of treatment. *Orphanet J Rare Dis*. 2015; 29(10): 125. doi: 10.1186/s13023-015-0338-2

20. Schiffmann R, Swift S, Van H, Blankenship D, Rice M. A prospective 10-year study of individualized enhanced enzyme replacement therapy in advanced Fabry disease. *J Inherit Metab Dis*. 2015; 38: 1129-1136. doi: 10.1007/s10545-015-9845-5

21. Wang AY, Sharma V, Saini H, Tingen JN, Flores A, Liu D, et al. Quantitative assessment of amyloid deposits on histological images of the yellow ligament using machine learning. *J Pathol Inform.* 2022; 8(13): 100013. doi: 10.1016/j.jpi.2022.100013

22. Barros-Gomes S, Williams B, Nhola LF, Grogan M, Maalouf JF, Dispenzieri A, et al. Prediction of light chain amyloidosis with preserved left ventricular ejection fraction: The added value of two-dimensional speckle-tracking echocardiography to the current prognostic staging system. *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2017; 10: 398-407. doi: 10.1016/j.jcmg.2016.04.008

23. Goto S, Solanki D, John JE, Yagi R, Homilius M, Ichihara G, et al. A multinational federated learning approach to train ECG and echocardiogram models for the detection of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 2022; 146: 755-769. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.058696

24. Kagiyama N, Shrestha S, Farjo PD, Sengupta PP. Artificial intelligence: A practical textbook on clinical research of cardiovascular diseases. *J Am Heart Assoc.* 2019; 8: e012788. doi: 10.1161/JAHA.119.012788

25. Fabregat-Andrés O, Pina-Buded S, Valverde-Navarro AA. Feasibility and diagnostic effectiveness of including ultrasound at the place of medical care (POCUS) in pre-match screening of young athletes. *Cardiol. Young*. 2020; 30: 1970-1972. doi: 10.1017/S1047951120003145

26. Moulson N, Jaff Z, Wiltshire V, Taylor T, O'Connor HM, Hopman WM, et al. Feasibility and reliability of non-expert POCUS for pre-competitive screening of cardiovascular diseases in university team athletes: Protocol SHARP. *Can J Cardiol*. 2019; 35: 35-41. doi: 10.1016/j.cjca.2018.11.003

27. Ko WY, Siontis KC, Attia ZI, Carter RE, Kapa S, Ommen SR, et al. Detection of hypertrophic cardiomyopathy using an electrocardiogram using a convolutional neural network. *J Am Coll Cardiol.* 2020; 75: 722-733. doi: 10.1016/j.jacc.2019.12.030

28. Zhang J, Deo RC. Zhang and Deo's response to a letter regarding the article "Fully automated interpretation of an echocardiogram in clinical practice: Feasibility and diagnostic accuracy". *Circulation.* 2019; 139: 1648-1649. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.039291

29. Martini N, Aimo A, Barison A, Della Latta D, Vergaro G, Aquaro GD, et al. Deep learning for the diagnosis of cardiac amyloidosis using cardiovascular magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2020; 22(1): 84. doi: 10.1186/s12968-020-00690-4

30. Laney DA. Prime Minister Fernhoff diagnosis of Fabry's disease by analyzing family history. *J Genet Counters.* 2008; 17(1): 79-83. doi: 10.1007/s10897-007-9128-x

Сведения об авторах

Петрухина Ангелина Анатольевна – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России, e-mail: Angelina-heart@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4570-3258

Насонова Светлана Николаевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России, e-mail: dr.nasonova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0920-7417

Жиров Игорь Витальевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России; профессор кафедры кардиологии, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: izhirov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4066-2661

Осмоловская Юлия Фаильевна – кандидат медицинских наук, заведующая 8-м клиническим отделением отдела заболеваний миокарда и сердечной недостаточности, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России, e-mail: yuliaosm@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7827-2618

Терещенко Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела заболеваний миокарда сердечной недостаточности, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России; заведующий кафедрой кардиологии, ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: stereschenko@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9234-6129

Палеев Филипп Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, первый заместитель генерального директора по научной работе, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России, e-mail: FNPaleev@cardio.ru, https://orcid.org/0000-0001-9481-9639

Information about the authors

Angelina A. Petrukhina – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Myocardial Diseases and Heart Failure, National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov, e-mail: Angelina-heart@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4570-3258

Svetlana N. Nasonova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Department of Myocardial Diseases and Heart Failure, National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov, e-mail: dr.nasonova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0920-7417

Igor V. Zhirov – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Department of Myocardial Diseases and Heart Failure, National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov; Professor at the Department of Cardiology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: izhirov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4066-2661

Yulia F. Osmolovskaya – Cand. Sc. (Med.), Head of the 8th Clinical Unit of the Department of Myocardial Diseases and Heart Failure, National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov, e-mail: yuliaosm@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7827-2618

Sergey N. Tereshchenko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Myocardial Diseases and Heart Failure, National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov; Head of the Department of Cardiology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: stereschenko@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9234-6129

Filipp N. Paleev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of the RAS, First Deputy CEO, National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov, e-mail: FNPaleev@cardio.ru, https://orcid.org/0000-0001-9481-9639

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА
GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ СОБЫТИЙ РЕКОМБИНАЦИИ В БЕЛОК-КОДИРУЮЩЕЙ ОБЛАСТИ CRISPR-CAS ЛОКУСОВ В ГЕНОМАХ РАЗНЫХ СЕРОВАРИАНТОВ *SALMONELLA ENTERICA* МЕТОДАМИ *IN SILICO*

Арефьева Н.А. [1, 2, 3],
Букин Ю.С. [4],
Эрдынеев С.В. [2],
Джиоев Ю.П. [2],
Мирошниченко Л.А. [5]

[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)
[3] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, Россия)
[4] ФГБУН Лимнологический институт СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3, Россия)
[5] ФГБУН Институт математики им. С.Л. Соболева СО РАН (630090, Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Арефьева Надежда Александровна,
e-mail: arefieva.n4@gmail.com

Статья поступила: 07.04.2024
Статья принята: 27.12.2024
Статья опубликована: 13.03.2025

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Исследование процессов гомологичной рекомбинации в области cas-генов у Salmonella enterica позволит выяснить фундаментальные механизмы эволюции CRISPR-Cas систем, что важно для изучения возникновения у данного патогена резистентности к фагам.*

Цель работы*. Исследование процессов рекомбинации в белок-кодирующей части CRISPR-Cas локусов в геномах сероваров Salmonella Enteritidis, Infantis и Typhimurium, используя методы in silico.*

Материалы и методы. *Геномные последовательности сероваров Salmonella Enteritidis, Infantis и Typhimurium были скачаны из базы данных NCBI GenBank. Кодирующие последовательности cas-генов были извлечены из геномов и выровнены с учётом позиции кодона. В полученном выравнивании был выполнен поиск событий рекомбинации. Проведена верификация событий рекомбинации.*

Результаты. *Найдено 7683 потенциальных события рекомбинации в области cas-локуса в геноме S. enterica. Среди них верифицировано 810 (10,54 %) событий; 45 (0,59 %) событий были идентифицированы как результаты конвергентной эволюции. События рекомбинации детектируются чаще между штаммами, принадлежащими разным сероварианам, чем между штаммами, принадлежащими одному сероварианту. Все сероварианты могут рекомбинировать друг с другом, однако чаще всего рекомбинация происходит между штаммами Enteritidis и Infantis и между Typhimurium и Infantis. Не было найдено ни одного события рекомбинации между штаммами серовариата Enteritidis. События конвергентной адаптивной эволюции в основном локализованы в генах эффекторного модуля: cas5, cas6, cas7.*

Заключение*. Показано, что гомологичная рекомбинация часто происходит в геноме S. enterica в области cas-генов. Биоинформатические алгоритмы находят больше событий рекомбинации между эволюционно более отдалёнными штаммами, что не согласуется с известными исследованиями, проведёнными in vitro.*

Ключевые слова: *гомологичная рекомбинация, CRISPR-Cas, Salmonella enterica, методы in silico*

Для цитирования: Арефьева Н.А., Букин Ю.С., Эрдынеев С.В., Джиоев Ю.П., Мирошниченко Л.А. Исследование потенциальных событий рекомбинации в белок-кодирующей области CRISPR-Cas локусов в геномах разных сероварианов *Salmonella enterica* методами *in silico*. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 59-68. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.6

THE STUDY OF POTENTIAL RECOMBINATION EVENTS IN THE PROTEIN-CODING REGIONS OF CRISPR-CAS LOCI IN THE GENOMES OF DIFFERENT *SALMONELLA ENTERICA* SEROVARIANTS USING *IN SILICO* METHODS

Arefieva N.A. [1, 2, 3], **Bukin Yu.S.** [4], **Erdyneev S.V.** [2], **Dzhioev Yu.P.** [2], **Miroshnichenko L.A.** [5]

[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)
[3] Irkutsk State University (Karla Marksa str. 1, Irkutsk 664004. Russian Federation)
[4] Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Ulan-Batorskaya str. 3, Irkutsk 664033, Russian Federation)
[5] Sobolev Institute of Mathematics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Akademika Koptyuga Ave. 4, Novosibirsk 630090, Russian Federation)

Corresponding author:
Nadezhda A. Arefieva,
e-mail: arefieva.n4@gmail.com

ABSTRACT

Background. *The study of recombination processes in the CRISPR-Cas loci of Salmonella enterica can help investigate the fundamental evolutionary mechanisms of the CRISPR-Cas system to better understand the acquisition of phage resistance.*

The aim of the study. *To investigate the recombination processes in the protein-coding regions of CRISPR-Cas loci in the genomes of Salmonella enterica serovars Enteritidis, Infantis, and Typhimurium using in silico methods.*

Materials and methods. *The genomic sequences of the Salmonella serovars Enteritidis, Infantis, and Typhimurium were downloaded from the NCBI GenBank database. The coding sequences of cas genes were extracted from the genomes and aligned according to codon position. Recombination events were identified in the resulting alignment using multiple algorithms. Verification of recombination events was performed.*

Results. *A total of 7683 potential recombination events were identified. Among these, 810 (10.54 %) were verified, and 45 (0.59 %) were recognized as results of convergent evolution. Recombination events are detected more frequently between strains belonging to different serovariants than between those of the same serovariant. All serovariants can recombine with each other; however, recombination primarily occurs between Enteritidis and Infantis strains, as well as between Typhimurium and Infantis strains. Infantis and Typhimurium serovariants also exhibit recombination within themselves. No recombination events were found between strains of the Enteritidis serovariant. The events of convergent adaptive evolution were mainly found in the effector module genes: cas5, cas6, cas7.*

Conclusion. *It has been shown that homologous recombination often occurs in the S. enterica genome in the region of the cas genes. Bioinformatic algorithms detect more recombination events between evolutionarily more distant strains, which are inconsistent with known in vitro studies.*

Key words: *homologous recombination, CRISPR-Cas, Salmonella enterica, in silico methods*

Received: 07.04.2024
Accepted: 27.12.2024
Published: 13.03.2025

For citation: Arefieva N.A., Bukin Yu.S., Erdyneev S.V., Dzhioev Yu.P., Miroshnichenko L.A. The study of potential recombination events in the protein-coding regions of CRISPR-Cas loci in the genomes of different *Salmonella enterica* serovariants using *in silico* methods. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 59-68. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.6

ВВЕДЕНИЕ

Salmonella enterica является одним из наиболее часто выявляемых кишечных патогенов как по количеству инфекций среди людей, так и по тяжести заболевания [1]. Чаще всего сальмонеллёз связывают с несоблюдением гигиенических стандартов при производстве продуктов питания птицеводческого происхождения [2]. По некоторым оценкам, инфекции, вызываемые сальмонеллой, ежегодно становятся причиной более 300 тысяч смертей – в основном в развивающихся странах [3].

В роде *Salmonella* выделяют два вида – *S. bongori* и *S. enterica*, которые включают более 2600 охарактеризованных различных сероваринтов, многие из которых способны вызывать заболевания как у людей, так и у животных. При этом вид *S. enterica* имеет шесть подвидов: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* и *indica* [1, 3]. Среди них доминирующим этиологическим агентом заболеваемости как в мире, так и в России является *S. enterica* subsp. *enterica* с преобладанием сероваринтов Enteritidis, Typhimurium и Infantis в период 2011–2019 гг. [4].

Лечение инфекций, вызываемых этими сероваринтами сальмонелл, бывает затруднено в связи с появлением у них устойчивости к антибиотикам. Одним из перспективных способов борьбы с патогенными бактериями является фаготерапия, однако бактерии также способны приобретать резистентность к фаговым препаратам посредством системы CRISPR-Cas. Для разработки и повышения эффективности фаготерапии против *S. enterica* необходимо изучить особенности функционирования и эволюции CRISPR-Cas систем. Согласно базе данных CRISPRCasdb [5], *Salmonella enterica* содержит CRISPR-Cas систему класса 1 подтипа I-E (включает белки Cas3, Cse1, Cse2, Cas7, Cas5, Cas6, Cas1, Cas2). В классификации CRISPR-Cas систем принято выделять два класса, различающихся структурно и функционально. По своей структуре CRISPR-Cas система представляет собой рибонуклеопротеиновый комплекс, состоящий из дух функциональных модулей – адаптационного и эффекторного. Первый отвечает за встраивание новых спейсеров в массив CRISPR, а второй – за распознавание и уничтожение чужеродной ДНК или РНК. Основным отличием систем первого класса является у них наличие комплексного адаптационного модуля, состоящего из нескольких Cas-белков, в то время как у систем второго класса адаптационный модуль представлен одним белком. Адаптационный модуль системы I-E стандартно состоит из белков Cas1 и Cas2. Эффекторный модуль включает белки Cse1, Cse2, Cas7, Cas5, Cas6. Разрезание ДНК-мишени осуществляет эндонуклеаза Cas3 [6, 7].

Гомологичная рекомбинация играет важную роль в эволюционной адаптации бактерий [8]. Следствием событий рекомбинации могут являться такие адаптации, как: появление новых штаммов и видов; расширение круга хозяев; повышение вирулентности; появление новых механизмов уклонения от иммунитета хозяина; возникновение резистентности к антибактериальным препаратам. Считается, что гомологичная рекомбинация оказывает влияние главным образом на гены, которые являются общими для большинства штаммов в популяции, в то время как остальные геномные области приобретают дополнительный контент посредством горизонтального переноса [9]. Исследование процессов рекомбинации в области CRISPR-cas локусов у наиболее часто выделяемых у человека штаммов *S. enterica* позволит изучить особенности приобретения у *S. enterica* резистентности к фагам посредством гомологичной рекомбинации в белок-кодирующей части локусов CRISPR-Cas систем.

Таким образом, **целью** данной работы являлось проведение исследования процессов гомологичной рекомбинации в белок-кодирующей части CRISPR-Cas локусов в геномах штаммов *Salmonella enterica* сероваринтов Enteritidis, Infantis и Typhimurium, используя методы *in silico*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка набора геномных данных

В работе были использованы кодирующие последовательности *cas*-генов штаммов *Salmonella* Enteritidis (297 геномов), Infantis (87 геномов) и Typhimurium (167 геномов), скачанные из базы данных NCBI GenBank. Штаммы выбирались с учётом наличия всех *cas*-генов, необходимых для функционирования CRISPR-Cas системы подкласса I-E (*cas3*, *cse1*, *cse2*, *cas7*, *cas5*, *cas8*, *cas1*, *cas2*).

Для извлечения последовательностей *cas*-генов из полных геномов был использован алгоритм BLASTn с параметром «-outfmt 6 qseq». В качестве затравок были использованы *cas*-гены штамма *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium str. LT2 (номер в NCBI GenBank AE006468.2). Массивы полученных последовательностей *cas*-генов были собраны в fasta-файлы для дальнейшего анализа. В итоге было получено 8 массивов для каждого из *cas*-генов исследуемых сероваринтов. К названию последовательностей генов было добавлено название сероварианта для удобства анализа.

Далее было проведено выравнивание последовательностей *cas*-генов с учётом позиции кодона (первых двух или третьей позиций соответственно) при помощи программы TranslatorX (США) [10], установленной локально. В качестве параметров было выбрано автоматическое транслирование нуклеотидных последовательностей в аминокислотные, в качестве метода выравнивания был поставлен алгоритм MAFFT. Остальные параметры были оставлены по умолчанию.

Полученные выравнивания с учётом позиции кодона были соединены в одну общую кодирующую последовательность из *cas*-генов с учётом их расположения в CRISPR-*cas* локусе: *cas3*, *cse1*, *cse2*, *cas7*, *cas5*, *cas8*, *cas1*, *cas2*. Длинные гэпы были удалены из выравнивания.

Поиск событий рекомбинации

Полученное выравнивание было проанализировано при помощи нескольких методов программы RDP5 (RDP, Geneconv, Chimaera, BootScan, SiScan, 3Seq), которая в настоящее время является одной из наиболее часто используемых [11]. Метод MaxChi не был использован в исследовании, поскольку его улучшенной модификацией

является алгоритм Chimaera. Отличия методов RDP5 заключаются главным образом в расчёте *P*-value и определении границ участка рекомбинации. Каждый из этих алгоритмов адаптирован для сканирования триплетов последовательностей (A, B, C) на наличие сигналов рекомбинации в выравнивании нуклеотидных последовательностей. Из каждого триплета в выравнивании удаляются участки, которые либо идентичны, либо отличаются во всех трёх последовательностях. Потенциальные рекомбинантные участки идентифицируются как области, в которых процент идентичности между последовательностями A и C (донор – рекомбинант) в участке рекомбинации и между B и C (акцептор – рекомбинант) в остальной части выравнивания значительно выше, чем между последовательностями A и B (донор – акцептор) (рис. 1). Далее проверяется нулевая гипотеза о том, что сходство в потенциальном рекомбинантном участке появилось случайно. Подробно принцип работы каждого из методов описан в руководстве к RDP5, доступном на официальном сайте программы [12].

Все методы программы RDP5 запускались с расслабленными параметрами, позволяющими получить большее число потенциальных событий рекомбинации. Параметры, с которыми был проведён запуск программы, представлены в таблице 1. Алгоритм данного исследования представлен на рисунке 2.

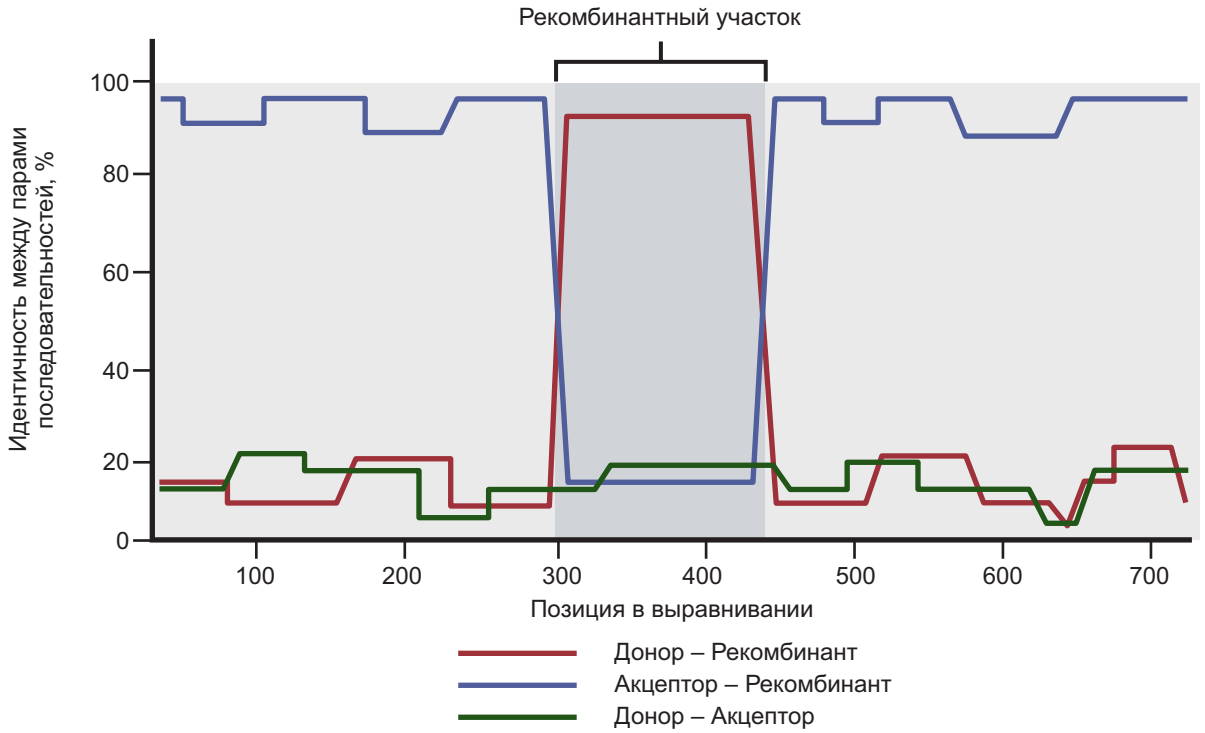


РИС. 1.
График идентичности между попарно выровненными последовательностями донора, акцептора и рекомбинанта

FIG. 1.
The identity plot for pairwise aligned sequences of donor, acceptor and recombinant

ТАБЛИЦА 1
ПАРАМЕТРЫ АЛГОРИТМОВ ПРОГРАММЫ RDP5

TABLE 1
THE PARAMETERS OF THE RDP5 PROGRAM ALGORITHMS

Алгоритмы	Параметры
Общие настройки	– Отключить поправку на множественную проверку гипотез (No multiple comparison correction) – Показывать события, найденные хотя бы одним методом (List all events) – Порог *P*-value ≤ 0,05
RDP	No reference (по умолчанию)
Geneconv	По умолчанию
Bootscan	Window size = 100, step size = 10
Chimaera	Variable site per window = 40
SiScan	Window size = 100, step size = 10
3seq	По умолчанию

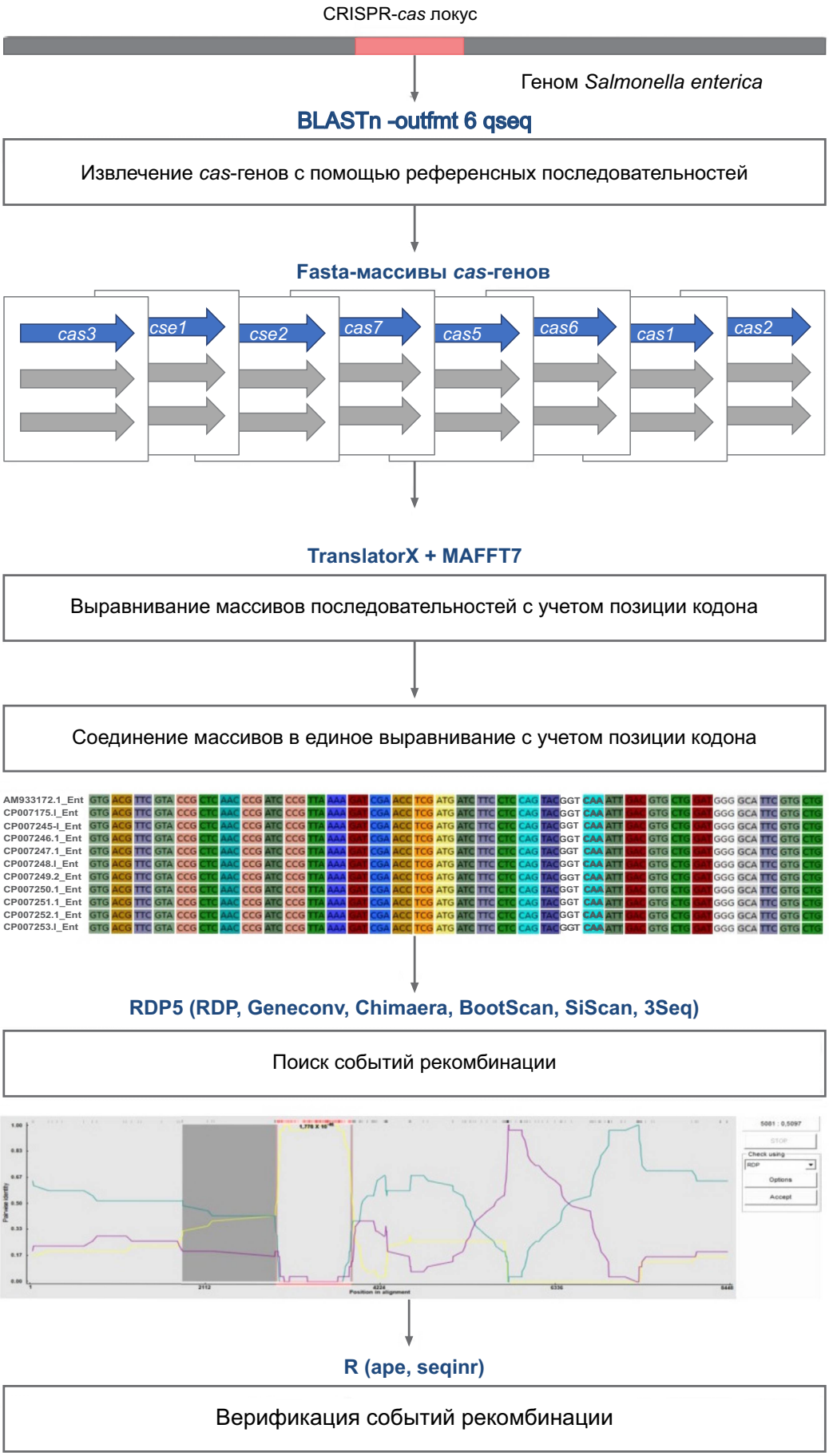


РИС. 2.
Дизайн исследования

FIG. 2.
Research design

Верификация результатов

Несмотря на то, что алгоритмы RDP5 проверяют тот факт, могла ли схожесть в потенциальном рекомбинантном участке возникнуть в результате эволюционных процессов, не связанных с рекомбинацией, каждый из них имеет свои недостатки, что приводит к появлению в выходных данных ложноположительных результатов. Таким образом, необходима дополнительная верификация с использованием иного подхода.

В белок-кодирующих последовательностях третья позиция кодона, как правило, эволюционирует гораздо быстрее, чем первая и вторая позиции. Мутации в третьей позиции часто являются синонимичными, в то время как мутации в первой и второй позициях с большей вероятностью приводят к несинонимичным заменам [13]. Адаптивная конвергентная эволюция чаще всего сопровождается несинонимичными заменами в белок-кодирующих последовательностях. Это связано с тем, что такие мутации меняют аминокислотную последовательность и, соответственно, фенотип, что может быть полезно для адаптации. При этом в третьей позиции кодона, которая склонна к синонимичным заменам, можно ожидать меньшее количество изменений. Рекомбинация сопровождается обменом протяжёнными участками, что делает различия в частотах синонимичных и несинонимичных замен в участке рекомбинации между донором и рекомбинантом менее отличимыми. На основе этих данных был разработан алгоритм верификации событий рекомбинации в белок-кодирующих последовательностях. Алгоритм написан на языке программирования R 4.3.3 с использованием пакетов ape 5.7-1 и seqinr 4.2-36.

Написанный скрипт использует для анализа следующие входные данные:

- выравнивание белок-кодирующих последовательностей, в котором был осуществлён поиск событий рекомбинации;
- координаты участка рекомбинации в выравнивании;
- номера последовательностей рекомбинанта и донора в выравнивании.

Для верификации события рекомбинации достаточно последовательностей донора и рекомбинанта, которые преобразуются алгоритмом в равные по длине вектора. Затем исходные векторы разбиваются на две пары: первая содержит нуклеотиды и гэпы первых и вторых позиций кодона последовательностей донора и рекомбинанта, а вторая – нуклеотиды и гэпы их третьих позиций. Для верификации события рекомбинации алгоритм обрабатывает эти пары векторов, рассчитывая попарную дистанцию между нуклеотидами первых и вторых позиций и между нуклеотидами третьих позиций в участке рекомбинации. Порог для рассчитанных $P\text{-value}_{1+2}$ (для первых двух позиций) и $P\text{-value}_3$ (для третьих позиций) был равен 0,05.

Для проверки гипотез алгоритм рассчитывает k-мерные дистанции для первых и вторых позиций векторных последовательностей донора и рекомбинанта, за исключением нуклеотидов рекомбинантного участка, и, аналогично, для векторов, содержащих нуклеотиды третьих позиций. Длина k-меров соответствует количеству нуклеотидов первых и вторых позиций в участке рекомбинации для первой пары векторов или количеству нуклеотидов третьих позиций для второй пары. На основе полученных данных рассчитывается статистика распределения попарных дистанций между k-мерами, равными по длине количеству нуклеотидов первых и вторых позиций (или третьих позиций) в участке рекомбинации. *P*-value рассчитывается как удвоенное минимальное значение долей, которые соответствуют числу случаев; попарные дистанции в случайных участках оказались больше или меньше наблюдаемой дистанции в рекомбинационном участке. На основе рассчитанных значений *P*-value делаются выводы о тестируемом участке:

1) если $P\text{-value}_{1+2} \leq 0{,}05$ и $P\text{-value}_3 \leq 0{,}05$, а также количество замен в первых, вторых и третьих позициях в тестируемом участке меньше, чем количество замен в первых, вторых и третьих позициях в среднем по геному, то тестируемый участок является рекомбинантным;

2) если $P\text{-value}_{1+2} \leq 0{,}05$ и $P\text{-value}_3 > 0{,}05$, а также количество замен в первых и вторых позициях в тестируемом участке меньше, чем количество замен в первых и вторых позициях в среднем по геному, то сходство между последовательностями донора и рекомбинанта в участке появилось в результате конвергентной адаптивной эволюции.

Остальные случаи считались ложноположительными результатами, либо сходство между последовательностями возникло в результате других эволюционных процессов, которые в данной работе не были исследованы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При помощи разработанного алгоритма найдено 7683 потенциальных события гомологичной рекомбинации в области локуса *cas*-генов. Среди них количество верифицированных с помощью разработанного алгоритма событий рекомбинации составило 810 (10,54 %). Средняя длина рекомбинантного участка – 1477 нуклеотидов, 45 (0,59 %) событий были идентифицированы как результаты конвергентной адаптивной эволюции (см. табл. 4), также приводящей к сходству соответствующих участков генома, из-за чего события конвергентной адаптивной эволюции ошибочно определяются программами как события рекомбинации.

Все найденные события рекомбинации можно разделить на две группы: происходящие между штаммами, принадлежащими разным сероварианам, и между штаммами, принадлежащими одному сероварианту (табл. 2). В первой группе рекомбинация в области *cas*-локуса чаще всего детектируется между штаммами Enteritidis и Infantis и между штаммами Typhimurium и Infantis. Штаммы серовара Infantis чаще, чем другие, являются донорами рекомбинантного участка, а штаммы Typhimurium в основном определяются как рекомбинанты. Во второй группе рекомбинация чаще обнару-

живается между сероварианта Typhimurium. Следует отметить то, что не было найдено ни одного события рекомбинации между штаммами Enteritidis, даже среди ложноположительных результатов, несмотря на значительный объём геномных последовательностей данного сероварианта в выборке (297 геномов).

В целом события рекомбинации гораздо чаще детектируется между штаммами, принадлежащими разным сероварианта, чем между штаммами, принадлежащими одному сероварианту, что не согласуется с известными исследованиями, проведёнными *in vitro*. Например, в исследовании X. Didelot и соавт. показано, что рекомбинация в геноме *S. enterica* происходит чаще между штаммами одного серовара. Авторы выдвинули гипотезу о том, что серовары сальмонеллы ограничены конкретными видами-хозяевами [14]. Также было доказано, что шансы на гомологичную рекомбинацию между донором и акцептором снижаются экспоненциально с увеличением генетического расстояния между ними вследствие различий систем репарации ДНК [14, 15].

Причина данного несоответствия заключается в том, что события рекомбинации легче детектируются программами между геномными последовательностями, обладающими большим полиморфизмом. Большинство биоинформатических программ для поиска участков рекомбинации выполняют поиск аномально схожих участков в выравнивании, используя технику скользящего окна, методы распределения замен, статистические тесты, а также филогенетические методы [8–11]. Такие схожие гомологичные участки программа будет считать рекомбинантными, что не всегда верно, поскольку сходству гомологичных участков генома могут способствовать другие эволюционные процессы. Чувствительность подобных алгоритмов будет снижаться пропорционально увеличению сходства последовательностей. Таким образом, чем более близкородственны последовательности, тем сложнее обнаружить в них участки рекомбинации.

Большая часть найденных участков рекомбинации локализована в гене *cse1*, кодирующем белок, который в комплексе CRISPR-Cas участвует в распознавании у ДНК-мишени последовательности PAM (protospacer adjacent motif – мотив, смежный с протоспейсером), позволяющей отличить бактериальную ДНК от целевой [16]. Рекомбинации в области гена *cse1* могут привести к изменению структуры белка Cse1, что может повлиять на его способность распознавать последовательности PAM. Это может привести как к увеличению, так и к снижению эффективности защиты бактерии от фагов. В некоторых случаях рекомбинации в области данного гена могут быть выгодными, если они приводят к адаптации системы CRISPR-Cas для борьбы с новыми видами фагов. Например, изменение структуры Cse1 может привести к расширению диапазона последовательностей PAM, что позволит системе распознавать большее количество фагов. В случае неудачных рекомбинаций возможна полная потеря функции гена *cse1*, что приведёт к нефункциональности всей CRISPR-Cas системы I-E, поскольку Cse1 необходим для инициации взаимодействия с чужеродной ДНК.

Реже события рекомбинации детектируются в других генах эффекторного модуля (*cse2, cas6, cas5, cas6, cas7*). Меньше всего верифицированных участков рекомбинации найдено в гене адаптационного модуля *cas*2 (рис. 3). Ген *cas2* является высококонсервативным, имеющим небольшое количество полиморфизмов. Мно-

ТАБЛИЦА 2

КОЛИЧЕСТВО СОБЫТИЙ РЕКОМБИНАЦИИ, НАЙДЕННЫХ В ГЕНОМАХ *SALMONELLA* ENTERITIDIS, INFANTIS, TYPHIMURIUM

TABLE 2

THE NUMBER OF RECOMBINATION EVENTS FOUND IN THE *SALMONELLA* ENTERITIDIS, INFANTIS AND TYPHIMURIUM GENOMES

Рекомбинант (акцептор)	Донор	Количество рекомбинаций	Всего событий найдено
События рекомбинации между штаммами разных сероварианта			
Enteritidis	Infantis	283	745
	Typhimurium	56	
Infantis	Enteritidis	5	
	Typhimurium	32	
Typhimurium	Enteritidis	113	
	Infantis	256	
События рекомбинации между штаммами одного сероварианта			
Enteritidis	Enteritidis	0	65
Infantis	Infantis	16	
Typhimurium	Typhimurium	49	

Примечание. Представлены верифицированные события рекомбинации, для которых $P\text{-value}_{1+2} \leq 0{,}05$ и $P\text{-value}_{3} \leq 0{,}05$.

гие методы поиска рекомбинационных событий полагаются на наличие в последовательностях вариабельных участков [9, 11], что делает обнаружение в консервативных генах событий рекомбинации более сложным. Кроме того, рекомбинации в консервативных генах обычно устраняются естественным отбором. Если же рекомбинация происходит, то она может не давать явных адаптивных преимуществ.

События конвергентной адаптивной эволюции в основном обнаружены у штаммов серовариантa Typhimurium (табл. 3). Конвергентная адаптивная эволюция в большей степени затрагивает гены эффекторного модуля: *cas5, cas6, cas7* (табл. 4). В генах *cse1*, *cse2* и *cas1*, *cas2* событий конвергентной эволюции найдено не было.

Некоторые ложноположительные результаты могут являться истинными событиями рекомбинации, которые из-за накопления мутаций не могут быть подтверждены нашим алгоритмом верификации. Следовательно, с помощью данного алгоритма можно верифицировать только события, которые произошли относительно недавно. В некоторых случаях высокая эволюционная консервативность генов объясняет их сходство, поэтому много ложноположительных результатов приходится на область генов адаптационного комплекса, особенно на область гена *cas1*

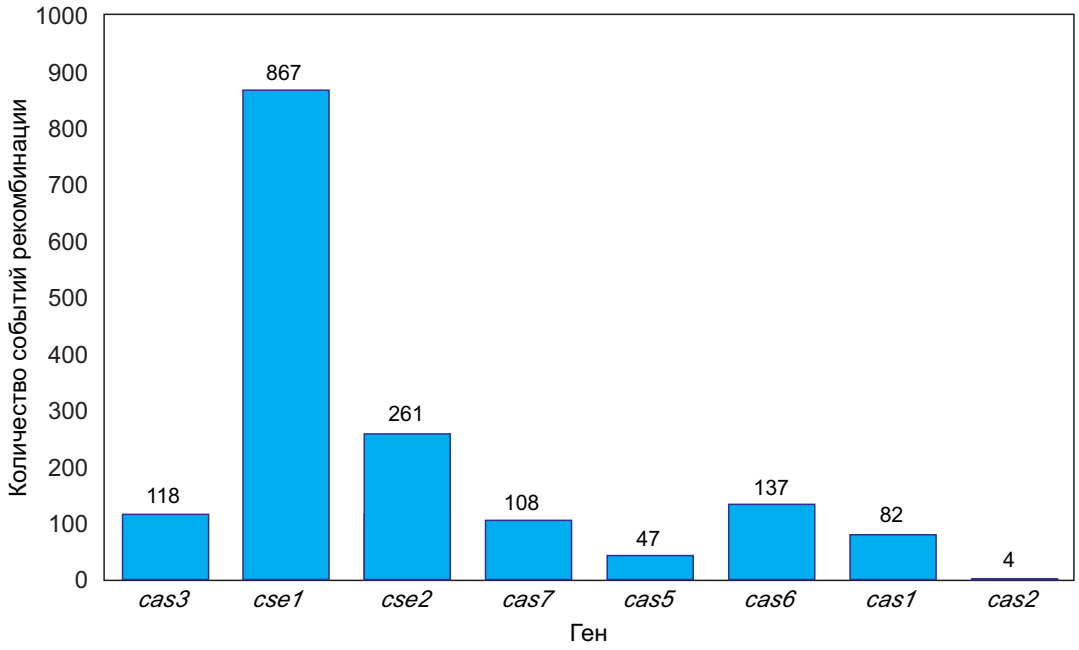


РИС. 3.
Cas-гены, в которых расположены горячие точки рекомбинации

FIG. 3.
Cas-genes where recombination hotspots are located

ТАБЛИЦА 3
СОБЫТИЯ КОНВЕРГЕНТНОЙ ЭВОЛЮЦИИ

TABLE 3
CONVERGENT EVOLUTION EVENTS

Штамм 1	Штамм 2	Количество событий	Всего событий для генома
Enteritidis	Enteritidis	0	
Enteritidis	Infantis	0	0
Enteritidis	Typhimurium	0	
Infantis	Infantis	0	
Infantis	Enteritidis	0	22
Infantis	Typhimurium	22	
Typhimurium	Typhimurium	22	
Typhimurium	Enteritidis	1	23
Typhimurium	Infantis	0	
Всего событий – **45**			

Примечание. Представлены верифицированные события рекомбинации, для которых $P_{1+2} \leq 0{,}05$ и $P_3 > 0{,}05$.

ТАБЛИЦА 4
УЧАСТКИ С КОНВЕРГЕНТНОЙ ЭВОЛЮЦИЕЙ

TABLE 4
CONVERGENT EVOLUTION REGIONS

Начало	Конец	Гены на участке	Количество
7006	7986	*cas6*	1
5714	6502	*cas7, cas5*	7
5223	6875	*cas7, cas5, cas6*	1
5614	6582	*cas7, cas5, cas6*	36
Всего событий – **45**			

Примечание. Представлены верифицированные события рекомбинации, для которых $P_{1+2} \leq 0{,}05$ и $P_3 > 0{,}05$.

(1305 ложноположительных событий), который является самым консервативным геном CRISPR-Cas систем [5, 6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведённом исследовании показано, что гомологичная рекомбинация часто происходит в районе белок-кодирующей части CRISPR-Cas локуса как между штаммами разных сероваринтов (Enteritidis, Infantis, Typhimurium), так и между штаммами одного сероварианта. Исключение составил сероварианта Enteritidis, между штаммами которого не было идентифицировано ни одного события рекомбинации. События рекомбинации чаще детектируются программами между штаммами, принадлежащими разным сероварианта, чем между штаммами, принадлежащими одному сероварианту, что не согласуется с известными исследованиями, проведёнными *in vitro* и связано со спецификой работы программных алгоритмов поиска. Большое количество ложноположительных результатов обнаружено в области высококонсервативных генов адаптационного модуля. Такие «старые» события рекомбинации программам сложнее обнаружить вследствие высокого накопления мутаций в участке рекомбинации. Найденные горячие точки рекомбинации в области *cas*-генов указывают на участки генома, которые часто подвержены изменениям и, вероятно, влияют на адаптацию сальмонелл к бактериофагам. Это знание может быть важным при разработке новых стратегий борьбы с инфекциями, вызываемыми сальмонеллами.

Финансирование

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект № 23-25-00520).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Jajere SM. A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet World*. 2019; 12(4): 504-521. doi: 10.14202/vetworld.2019.504-521

2. Семина А.Н. Подбор генов для идентификации *Salmonella* Enteritidis. *Международный научно-исследовательский журнал.* 2018; 10-1(76): 108-110. [Semina AN. Selecting genes for *Salmonella enteritidis* identification. *International Research Journal*. 2018; 10-1(76): 108-110. (In Russ.)]. doi: 10.23670/IRJ.2018.76.10.023

3. Galán JE. *Salmonella* Typhimurium and inflammation: A pathogen-centric affair. *Nat Rev Microbiol*. 2021; 19(11): 716-725. doi: 10.1038/s41579-021-00561-4

4. Рожнова С.Ш., Кулешов К.В., Павлова А.С., Гусева А.Н., Кожахметова Т.А., Акулова Н.К., и др. Гетерогенность изолятов нетифоидных сальмонелл из различных источников выделения в Российской Федерации в 2010–2019 гг. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2020; 25(1): 26-34. [Rozhnova SS, Kuleshov KV, Pavlova AS, Guseva AN, Kozhakhmetova TA, Akulova NK, et al. Heterogeneity of *Salmonella* isolates obtained from various sources in Russia 2010–2019. *Epidemiology and Infectious Diseases.* 2020; 25(1): 26-34. (In Russ.)]. doi: 10.17816/EID35184

5. Pourcel C, Touchon M, Villeriot N, Vernadet JP, Couvin D, Toffano-Nioche C, et al. CRISPRCasdb a successor of CRISPRdb containing CRISPR arrays and *cas* genes from complete genome sequences, and tools to download and query lists of repeats and spacers. *Nucleic Acids Res*. 2020; 48(D1): D535-D544. doi: 10.1093/nar/gkz915

6. Makarova KS, Koonin EV. Annotation and classification of CRISPR-Cas systems. *Methods Mol Biol*. 2015; 1311: 47-75. doi: 10.1007/978-1-4939-2687-9_4

7. Makarova KS, Wolf YI, Iranzo J, Shmakov SA, Alkhnbashi OS, Brouns SJJ, et al. Evolutionary classification of CRISPR-Cas systems: A burst of class 2 and derived variants. *Nat Rev Microbiol*. 2020; 18(2): 67-83. doi: 10.1038/s41579-019-0299-x

8. Shikov AE, Malovichko YV, Nizhnikov AA, Antonets KS. Current methods for recombination detection in bacteria. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(11): 6257. doi: 10.3390/ijms23116257

9. Shikov AE, Savina IA, Nizhnikov AA, Antonets KS. Recombination in bacterial genomes: Evolutionary trends. *Toxins (Basel)*. 2023; 15(9): 568. doi: 10.3390/toxins15090568

10. Abascal F, Zardoya R, Telford MJ. TranslatorX: Multiple alignment of nucleotide sequences guided by amino acid translations. *Nucleic Acids Res*. 2010; 38(Web Server Issue): W7-13. doi: 10.1093/nar/gkq291

11. Martin DP, Varsani A, Roumagnac P, Botha G, Maslamoney S, Schwab T, et al. RDP5: A computer program for analyzing

recombination in, and removing signals of recombination from, nucleotide sequence datasets. *Virus Evol*. 2020; 7(1): veaa087. doi: 10.1093/ve/veaa087

12. Martin DP. RDP5 instruction manual. URL: http://web.cbio.uct.ac.za/~darren/RDP5Manual.pdf [date of access: 30.10.2024].

13. Goldman N, Yang Z. A codon-based model of nucleotide substitution for protein-coding DNA sequences. *Mol Biol Evol*. 1994; 11(5): 725-736. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040153

14. Didelot X, Bowden R, Street T, Golubchik T, Spencer C, McVean G, et al. Recombination and population structure in *Salmonella enterica*. *PLoS Genet*. 2011; 7(7): e1002191. doi: 10.1371/journal.pgen.1002191

15. Fraser C, Hanage WP, Spratt BG. Recombination and the nature of bacterial speciation. *Science*. 2007; 315(5811): 476-480. doi: 10.1126/science.1127573

16. Tay M, Liu S, Yuan YA. Crystal structure of *Thermobifida fusca* Cse1 reveals target DNA binding site. *Protein Sci*. 2015; 24(2): 236-245. doi: 10.1002/pro.2609

Сведения об авторах

Арефьева Надежда Александровна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; лаборант-исследователь лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии Научно-исследовательского института биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России; аспирант, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: arefieva.n4@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-2222-4518

Букин Юрий Сергеевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, e-mail: bukinyura@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4534-3846

Эрдынеев Сергей Викторович – аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: orry230@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0006-7937-1382

Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной вирусологии и биотехнологии Научно-исследовательского института биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: alanir07@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5410-5113

Мирошниченко Любовь Александровна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории анализа данных, ФГБУН Институт математики им. С.Л. Соболева СО РАН, e-mail: luba@math.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0003-0127-5826

Informationa about the authors

Nadezhda A. Arefieva – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Research Assistant at the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Sciences, Irkutsk State Medical University; Postgraduate, Irkutsk State University, e-mail: arefieva.n4@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-2222-4518

Yurij S. Bukin – Senior Research Officer, Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: bukinyura@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4534-3846

Sergey V. Erdyneev – Postgraduate at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University, e-mail: orry230@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0006-7937-1382

Yuri P. Dzhioev – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Sciences, Irkutsk State Medical University, e-mail: alanir07@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5410-5113

Lyubov A. Miroshnichenko – Cand. Sc. (Tech.), Senior Research Officer at the Laboratory of Data Analysis, Sobolev Institute of Mathematics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: luba@math.nsc.ru, https://orcid.org/0000-0003-0127-5826

ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКТИВНОГО СКРИНИНГА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ У НОВОРОЖДЁННЫХ

Богоносова Г.П. [1, 2],
Бугун О.В. [1],
Ионушене С.В. [1, 3],
Астахова Т.А. [1],
Голобкова И.М. [4],
Докшукина А.А. [5],
Шубина Е. [5],
Баирова Т.А. [1],
Дегтярев Д.Н. [5],
Трофимов Д.Ю. [5],
Рычкова Л.В. [1],
Мартынович Н.Н. [6],
Иванова О.Г. [3],
Кононенко М.И. [2],
Колодина В.О. [2],
Кузнецова Н.Н. [2],
Ахмедзянова М.Р. [1]

[1] ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)
[2] ОГАУЗ «Городская Ивано-Матрёнинская детская клиническая больница» (664009, г. Иркутск, ул. Советская, 57, Россия)
[3] ОГБУЗ «Иркутский городской перинатальный центр им. Малиновского М.С.» (664025, г. Иркутск, ул. Сурикова, 16, Россия)
[4] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)
[5] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России (117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4, Россия)
[6] ГБУЗ МО «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области» (115093, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, 62, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Богоносова Галина Петровна,
e-mail: us.galina@mail.ru

Статья поступила: 04.02.2025
Статья принята: 24.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Диагностика наследственных заболеваний представляет собой трудную задачу ввиду большого числа нозологических форм, редкой встречаемости каждого отдельно взятого заболевания, что может приводить к длительному диагностическому поиску для пациента. Активно внедряющиеся в широкую практику молекулярно-генетические методы диагностики, среди которых полноэкзомное секвенирование, позволяют повысить и ускорить выявляемость генетических заболеваний у новорождённых и тем самым улучшить прогнозы для ребёнка.*

Цель исследования. *Оценить частоту генетических нарушений у новорождённых с соматической и хирургической патологией при проведении селективного скрининга с использованием полноэкзомного секвенирования.*

Методы. *Проведена оценка результатов генетического обследования новорождённых, проходивших лечение в отделениях неонатального профиля ОГАУЗ «Городская Ивано-Матренинская детская клиническая больница» с февраля по октябрь 2024 г. в рамках регионального пилотного проекта по селективному экзомному скринингу новорождённых детей, проводимого на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Их ДНК была изолирована из образцов венозной крови, после чего выполнено полноэкзомное секвенирование и при необходимости – хромосомный микроматричный анализ.*

Результаты. *Среди 80 обследованных новорождённых большую часть составили дети с врождёнными пороками развития и поражением нервной системы. Генетические находки разной степени значимости выявлены у 31,2 % детей. Патогенные и вероятно патогенные варианты в генах обнаружены у 16,2 % пациентов, а хромосомные аберрации – у 2,5 %. Генетические находки разной степени значимости найдены у 52 % обследованных по поводу поражения нервной системы и у 18 % новорождённых с врождёнными пороками развития. К моменту описания генетический диагноз подтверждён у 16,2 % обследованных на основании соответствия имеющегося фенотипа ребёнка с выявленным вариантом гена.*

Выводы. *Результаты данного исследования свидетельствуют о возможной высокой встречаемости экзомных отклонений при неонатальной патологии, а также о высокой эффективности полноэкзомного секвенирования в их диагностике.*

Ключевые слова: *полноэкзомное секвенирование новорождённых, неонатальный скрининг, наследственное заболевание, экзом, новорождённые*

Для цитирования: Богоносова Г.П., Бугун О.В., Ионушене С.В., Астахова Т.А., Голобкова И.М., Докшукина А.А., Шубина Е., Баирова Т.А., Дегтярев Д.Н., Трофимов Д.Ю., Рычкова Л.В., Мартынович Н.Н., Иванова О.Г., Кононенко М.И., Колодина В.О., Кузнецова Н.Н., Ахмедзянова М.Р. Промежуточные результаты селективного скрининга с использованием полноэкзомного секвенирования у новорождённых. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 69-76. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.7

INTERIM RESULTS OF SELECTIVE SCREENING USING WHOLE EXOME SEQUENCING IN NEWBORNS

Bogonosova G.P. [1, 2],
Bugun O.V. [1],
Ionushene S.V. [1, 3],
Astakhova T.A. [1],
Golobkova I.M. [4],
Dokshukina A.A. [5],
Shubina Je. [5],
Bairova T.A. [1],
Degtyarev D.N. [5],
Trofimov D.Yu. [5],
Rychkova L.V. [1],
Martynovich N.N. [6],
Ivanova O.G. [3],
Kononenko M.I. [2],
Kolodina V.O. [2],
Kuznetsova N.N. [2],
Akhmedzyanova M.R. [1]

[1] Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[2] Ivano-Matreninskaya City Children's Clinical Hospital (Sovetskaya str. 57, Irkutsk 664009, Russian Federation)
[3] M.S. Malinovsky Irkutsk City Perinatal Centre (Surikova str. 16, Irkutsk 664025, Russian Federation)
[4] Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[5] National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov (Oparina str. 4, Moscow 117997, Russian Federation)
[6] Research Clinical Institute of Childhood of the Ministry of Healthcare of the Moscow Region (Bolshaya Serpukhovskaya str. 62, Moscow 115093, Russian Federation)

Corresponding author:
Galina P. Bogonosova,
e-mail: us.galina@mail.ru

Received: 04.02.2025
Accepted: 24.02.2025
Published: 13.03.2025

ABSTRACT

Background. *Evaluation of hereditary diseases is a difficult task due to the large number of nosologic forms, rare occurrence of each disease, which can lead to a long diagnostic search for the patient. Different methods of molecular genetics, including full-exome sequencing, are actively introducing into the complex of examination of newborns with general pathology and lead to better diagnosis and prognosis for children and their families.*
The aim of the study. *To estimate the frequency of occurrence of genetic disorders in newborns with somatic and surgical pathology during selective screening using whole exome sequencing.*
Materials and methods. *Within the framework of the regional pilot project on selective exome screening of newborn children, which is carried out on the basis of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, we estimated the results of genetic evaluation of 80 newborns who were treated in the neonatal departments of the Ivano-Matreninskaya City Children's Clinical Hospital from February to October 2024.*
Results. *Eighty children were examined. Genetic findings of varying significance were detected in 31.2 % of the examined children. Pathogenic and likely pathogenic gene variants were detected in 16.2 % of cases, and chromosomal aberrations in 2.5 % of patients. Genetic findings of varying significance were found in 52 % of those examined for nervous system damage and in 18 % of patients with congenital malformations. By the time of description, the genetic diagnosis was confirmed in 16.2 % of patients with genetic findings. The diagnosis was based on the complete correspondence of the child's existing phenotype with the identified gene variant.*
Conclusions. *The results of this study indicate a possible high incidence of exome abnormalities in neonatal pathology, as well as the high efficiency of whole exome sequencing in their diagnosis.*

Key words: *whole-exome sequencing, neonatal screening, hereditary disease, exome, newborns*

For citation: Bogonosova G.P., Bugun O.V., Ionushene S.V., Astakhova T.A., Golobkova I.M., Dokshukina A.A., Shubina Je., Bairova T.A., Degtyarev D.N., Trofimov D.Yu., Rychkova L.V., Martynovich N.N., Ivanova O.G., Kononenko M.I., Kolodina V.O., Kuznetsova N.N., Akhmedzyanova M.R. Interim results of selective screening using whole exome sequencing in newborns. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 69-76. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.7

ОБОСНОВАНИЕ

Генетические заболевания – обширная и крайне гетерогенная по клиническим проявлениям группа болезней [1] с суммарной частотой 1,5–2 % в популяции [2]. Наиболее быстрая диагностика наследственных заболеваний возможна при проведении неонатального скрининга клинически здоровых новорождённых, в связи с чем значимым событием в отечественном здравоохранении стало расширение программы массового неонатального скрининга на наследственные болезни до 36 нозологий с 2023 г. [3, 4]. Однако изменения более чем в 4000 из 20 000 белковых кодирующих генов ассоциированы с развитием моногенных заболеваний [5]. Таким образом, число известных моногенных заболеваний намного выше числа таковых, выявляемых по скринингу в любой из стран [6, 7].

Наследственные болезни характеризуются большим числом нозологических форм, широкой вариабельностью клинических проявлений, часто – отсутствием патогномоничных симптомов и могут протекать под маской внутриутробной инфекции, сепсиса, перинатального поражения центральной нервной системы (ЦНС) [4]. Это может приводить к длительному диагностическому поиску пациента и не всегда заканчивается правильно установленным диагнозом и, соответственно, лечением [8].

В этой связи перспективной выглядит возможность внедрения молекулярно-генетических методов, таких как полногеномное (WGS, whole genome sequencing) и полноэкзомное (WES, whole exome sequencing) секвенирование, в систему неонатального скрининга [9, 10]. Экзом составляет 1–2 % от генома, однако в экзоме закодировано порядка 89 % генов, ассоциированных с моногенными заболеваниями [11, 12]. С учётом более низких материальных и временных затрат чаще используется WES [13]. В последние годы обсуждается вопрос о возможности расширения массового скрининга, в том числе с использованием WES, однако на пути его расширения стоят множество материально-технических и этических проблем [14–16]. Поэтому на текущий момент более оправданным представляется расширение использования WES в качестве селективного скрининга у детей, имеющих отклонения в состоянии здоровья [17, 18]. Это позволит повысить эффективность диагностики наследственных заболеваний, улучшить качество терапевтической или паллиативной помощи и разработать стратегии контроля наследования генетических патологий будущими поколениями [19].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить возможную частоту встречаемости генетических нарушений у новорождённых детей с соматической и хирургической патологией при проведении селективного скрининга с использованием полноэкзомного секвенирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнялось в рамках регионального пилотного проекта по селективному экзомному скринингу новорождённых детей, проводимого на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России (ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России) [20]. На момент публикации проект продолжается, и публикуемые данные представляют оценку промежуточных результатов. Генетическое обследование проводилось новорождённым детям, требующим мультидисциплинарной курации и в связи с этим поступившим в ОГАУЗ «Городская Ивано-Матрёнинская детская клиническая больница» г. Иркутска в период с февраля по октябрь 2024 г. из акушерских стационаров Иркутской области или из дома. Для включения новорождённых в исследование применялись критерии указанного регионального пилотного проекта по селективному экзомному скринингу, которые содержали признаки поражения ЦНС, сердечно-сосудистой системы (ССС), печени, врождённые пороки развития (ВПР), лабораторные изменения, нарушения роста и развития, а также отягчающие факторы семейного, перинатального и интранатального анамнеза. Подробно критерии включения представлены в первоисточнике [20]. Кроме этого, было получено информированное согласие от законных представителей всех детей на участие в исследовании. Критериями исключения стали: проведение гемотрансфузии в течение 30 дней до момента забора крови на исследование; наличие ранее установленного у ребёнка генетического заболевания; отказ законных представителей от участия в исследовании.

Биоматериал (цельная венозная кровь детей и их биологических родителей) в пробирках с ЭДТА транспортировался в биобанк ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России с соблюдением требований холодовой цепи. Выделение ДНК происходило с использованием набора ДНК ПРОБА-МЧ МАКС (ДНК-Технология, Россия), согласно протоколу производителя. Полноэкзомное секвенирование выполняли с использованием прибора NovaSeq 6000 (Illumina®, США), приготовление библиотек – с помощью DNA Prep (S) Tagmentation, IDT® Illumina® DNA / RNA UD Indexes (США) и xGen Exome Research Panel v. 2 (Integrated DNA Technologies, Inc., США) в соответствии с инструкциями производителя.

Статистический анализ данных в исследовании проведён с помощью программы Microsoft Excel 2010. На проведение исследования получено положительное решение комиссии по этике биомедицинских исследований ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол № 6 от 20.06.2024). Исследование соответствовало этическим нормам, утверждённым Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2013).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика группы обследованных

За указанный период в исследование были включены 80 новорождённых детей, среди них 43 мальчи-

ка и 37 девочек. Исходя из основного диагноза, самой большой группой среди обследованных стали дети с ВПР (*n* = 44; 55 %), также в нашу выборку вошли пациенты с преимущественным поражением ЦНС (*n* = 19; 23,7 %), печени (*n* = 6; 7,5 %), синдромом рвоты и срыгивания (*n* = 4; 5 %), объёмными образованиями (*n* = 4; 5 %), подозрением на врождённую дисфункцию коры надпочечников (*n* = 2; 2,5 %), кардиомиопатией в виде изолированной гипертрофии межжелудочковой перегородки (*n* = 1; 1,2 %). Среди 44 пациентов с ВПР наиболее часто встречались пороки развития почек и мочевыводящих путей (*n* = 18; 40,9 %), желудочно-кишечного тракта (*n* = 16; 36,4 %), ССС (*n* = 9; 20,4 %), реже наблюдались ВПР лёгких (*n* = 3; 6,8 %), ЦНС (*n* = 3; 6,8 %), челюстной-лицевой области (*n* = 3; 6,8 %), пороки развития органов зрения (*n* = 3; 6,8 %), скелетные аномалии (*n* = 4; 16,6 %), аномалии строения уха (*n* = 2; 4,5 %). При этом сочетание ВПР 2 и более систем отмечено у 31,8 % (*n* = 14) пациентов.

Наличие судорог стало ведущим клиническим признаком в группе детей с преимущественным поражением ЦНС – у 10 из 19 (52,6 %); в остальных случаях отмечены угнетение ЦНС, вялость, мышечная гипотония. У всех 6 пациентов, ведущей причиной обследования которых было поражение печени, наблюдалась гепатомегалия; синдром холестаза выявлен у 4 из 6 (66,6 %); лабораторные признаки цитолиза – у 5 из 6 (83,3 %); нарушение белково-синтетической функции печени в данной группе детей не отмечалось. В ряду обследуемых с объёмными образованиями 2 из 4 (50 %) детей имели крестцово-копчиковые тератомы, у 1 (25 %) ребёнка диагностирована герминогенная опухоль средостения и ещё у 1 (25 %) – лимфангиома кишечника.

Результаты полноэкзомного секвенирования

При анализе полученных результатов полноэкзомного секвенирования варианты в генах, ассоциированные с развитием заболеваний, выявлены у 25 из 80 (31,2 %) обследованных детей. При этом каузативные варианты обнаружены у 13 из 80 (16,2 %) пациентов, варианты неопределенной клинической значимости, предположительно имеющие отношение к фенотипу пациента, – у 7 из 80 (8,7 %) детей. У 3 из 80 (3,7 %) выявлены случайные (вторичные) находки. Данные, полученные в результате полноэкзомного секвенирования, позволили заподозрить хромосомные аберрации у 2 из 80 (2,5 %) детей, которые в дальнейшем у обоих были верифицированы с применением молекулярного кариотипирования на ДНК-микроматрицах.

Среди 25 пациентов с генетическими находками большинство имели ведущую патологическую симптоматику со стороны ЦНС – 10 из 25 (40 %). При этом у 6 из 10 (60 %) констатированы судороги, у остальных пациентов поражение ЦНС проявлялось в виде синдрома угнетения, нарушения мышечного тонуса и связанных с этим проблем вскармливания. Кроме этого, ещё 3 пациента, имеющие варианты в генах, связанных с клиническими судорогами, имели их в анамнезе. Однако они были включены в исследование с иными критериями: у 2 детей основанием были выявленные пороки развития, у одного – поражение печени. Важно отметить, что среди всех новорождённых, включённых в данное исследование, судороги наблюдались у 13 из 80 пациентов, из которых в свою очередь 9 (69 %) детей имели генетические находки.

Треть пациентов с генетическими находками – 8 из 25 (32 %) – составили дети, основными клиническими признаками которых являлись ВПР, что составило 18 % среди 44 детей данной группы. При этом у большинства (6 из 8 (75 %)) аномалии затрагивали две и более системы. Мультисистемные аномалии наиболее часто включали врождённые пороки ССС (у 4 из 6 (66 %)), аномалии челюстно-лицевой области (у 3 из 6 (50 %)) и скелета (у 3 из 6 (50 %)). Также генетические находки были обнаружены у 1 ребёнка с пороком органа зрения (аниридия) и у 1 ребёнка с аномалиями органов слуха (микротия, атрезия слухового прохода).

Следует отметить, что оба случая хромосомных аномалий были ассоциированы с тяжёлыми комбинированными пороками развития ССС.

Кроме этого, у 2 из 25 (8 %) пациентов с выявленными вариантами в генах ведущим клиническим признаком было поражение печени; у 2 из 25 (8 %) – врождённая дисфункция коры надпочечников; у 1 из 25 (4 %) – изолированная гипертрофия межжелудочковой перегородки; у 1 из 25 (4 %) – герминогенная опухоль средостения.

Из 25 пациентов, имеющих генетические находки, соответствие фенотипов выявленным вариантам генов диагностировано у 13 (52 %) детей. Фенотипы пациентов и выявленные варианты представлены в таблице 1. Своевременно поставленный молекулярно-генетический диагноз данных пациентов позволил провести коррекцию лечения и уточнить прогноз для ребёнка, а также дал возможность проведения пренатальной/преимплантационной диагностики в будущем для семьи.

Связанные с проявлением фенотипов летальные исходы в указанный период наблюдения были у двоих детей с выявленными хромосомными аномалиями.

Вероятнее, из-за короткого периода катамнеза продолжительностью 6 месяцев 12 из 25 (48 %) пациентов с генетическими находками на текущий момент не имеют чётких клинических проявлений, связанных с выявленными вариантами генов. Все эти дети находятся под динамическим наблюдением врачей-генетиков и специалистов профилей, соответствующих возможным заболеваниям, связанным с выявленными вариантами.

Нами проведён анализ медицинской документации и констатировано, что на момент госпитализации 13 из 25 (52 %) пациентов с установленными генетическими находками имели распространённую «негенетическую» патологию новорождённых, такую как асфиксия при рождении (*n* = 4; 25 %), недоношенность (*n* = 4; 25 %), вирусную или бактериальную инфекции (*n* = 10; 40 %). Различные комбинации указанных состояний диагностированы у 5 из 13 (38,5 %) пациентов.

ТАБЛИЦА 1

ФЕНОТИПЫ ПАЦИЕНТОВ И ВЫЯВЛЕННЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С УСТАНОВЛЕННЫМИ НАСЛЕДСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

TABLE 1

PHENOTYPES AND IDENTIFIED GENE VARIANTS IN PATIENTS WITH ESTABLISHED HEREDITARY DISEASES

Пациент	Фенотип	Ген	Вариант	Заболевание	OMIM
1	Судороги, вялость, гепатоспленомегалия	*AMT*	Гетерозиготный, c.959G>A, p.Arg320His Гетерозиготный c.452_466del, p.Lys151_Leu155del	Некетотическая гиперглицинемия	620398
2	Судороги	*AMT*	Гетерозиготный, c.959G>A, p.Arg320His Гетерозиготный c.452_466del, p.Lys151_Leu155del	Некетотическая гиперглицинемия	620398
3	Судороги, гипотония	*FGF12*	Гетерозиготный c.155G>A, pArg52His	Эпилептическая энцефалопатия 47-го типа	617166
4	Судороги, мышечная гипотония	*SCN2A*	Гетерозиготный c.754A>G, p.Met252Val	Эпилептическая энцефалопатия развития 48-го типа	613721; 607745
5	Судороги, гипокальциемия	*CARS*	Гетерозиготный c.2180T>A, p.Leu727Gln	Аутосомно-доминантная гипокальциемия 1-го типа	601198; 239200
6	Вялость, мышечная гипотония	*SPEN*	Гетерозиготный c.628_649del, p.Thr210GlyfsTer149	Синдром Прадера – Вилли, форма с нарушением метилирования гена *SNRPN*	176270
		SNRPN	Гиперметилирование		
7	МВПР*. Укорочение конечностей, микрогнатия, расщелина губы и нёба	*COL2A1*	Гетерозиготный c.905C>T, p.Ala302Val	Дисплазия Книста	156550
8	МВПР. Атриовентрикулярная коммуникация, двусторонний крипторхизм, аномалии стоп, дизморфии лица. Судороги		Гетерозиготная дупликация на 10-й хромосоме, включающая 4 белок-кодирующих гена (*BTRC, DPCD, FBXW4, POLL*)	Синдром дупликации 10q24.32	246560
9	МВПР. Тетрада Фалло, дизморфии лица, аномалии строения пальцев, аномалии ушных раковин.		Мозаичная форма трисомии 14	Мозаицизм, трисомия по 14-й хромосоме	
10	Врождённая дисфункция коры надпочечников	*CYP21A2*	Гомо-/гемизиготный c.332_339del, p.Gly111ValfsTer21	Врождённая дисфункция коры надпочечников, дефицит 21-гидроксилазы	201910
11	Врождённая дисфункция коры надпочечников	*CYP21A2*	Гетерозиготный вариант c.844G>T, p.Val282Leu	Врождённая дисфункция коры надпочечников, дефицит 21-гидроксилазы	201910
12	Поликистоз почек	*PKD1*	Гетерогенный c.11630del, p.Gly3877AlafsTer68	Поликистоз почек	173900
13	Врождённая аниридия	*PAX6*	Гетерозиготный c.823C>T, p.Arg275Ter	Аниридия	106210

Примечание. МВПР – множественные врождённые пороки развития

ОБСУЖДЕНИЕ

Пилотные проекты по использованию молекулярно-генетической диагностики в рамках неонатального скрининга проводятся в разных странах мира. В проекте NEXUS, учёные обследовали две когорты детей – здоровых и имеющих клинические отклонения в их состоянии [18]. В пилотном рандомизированном исследовании BabySeq также изучалось применение молекулярно-генетической диагностики у здоровых и больных новорождённых без исключения из исследования тех, у кого подозревается генетическое заболевание [21]. Авторы обоих исследований отмечали сложности в интерпретации полученных вариантов у здоровых детей при отсутствии фенотипических проявлений [18, 21].

Наше исследование показало высокую эффективность полноэкзомного секвенирования для диагностики наследственных заболеваний у новорождённых с различной соматической патологией. В данной работе частота находок различной степени значимости составила 31,2 % среди обследованных, а у 16,2 % выявлены патогенные и вероятно патогенные варианты, ассоциированные с развитием моногенных заболеваний. При анализе литературы в своих работах D. Dimmock и соавт. и O. Ceyhan-Birsoy и соавт. также приводят данные о диагностике генетических заболеваний у 15 % новорождённых, нуждающихся в интенсивных методах лечения [9, 21]. Однако, по результатам L.K. Willing и соавт., частота выявляемых патогенных вариантов генов у новорождённых, находящихся в отделении интенсивной терапии, выше и составляет 57 % среди обследованных [22]. Вероятно, это можно объяснить разными критериями включения в исследования.

В представленной работе большинство обследованных имели ВПР и симптомы поражения нервной системы. Это также сопоставимо с опубликованными исследованиями, где указывается, что наиболее часто полноэкзомное секвенирование проводилось среди пациентов с врождёнными аномалиями и нейрометаболическими нарушениями [13, 22].

Несмотря на то, что в исследование было включено больше всего детей с ВПР, наибольшее число патогенных и вероятно патогенных вариантов выявлено среди пациентов с поражением ЦНС. Генетические находки разной степени значимости обнаружены у 52,6 % детей, полноэкзомное секвенирование у которых было выполнено в связи с преимущественным поражением ЦНС, и у 69 % новорождённых с судорогами. Это показывает высокую долю наследственной патологии среди новорождённых с поражением ЦНС, особенно проявляющимся судорогами.

По нашим результатам, генетические находки были обнаружены у 18 % пациентов с врождёнными пороками развития, при этом наиболее часто наследственные заболевания были ассоциированы с мультисистемными аномалиями, включающими пороки сердечно-сосудистой системы, челюстно-лицевой области и аномалии скелета.

Необходимо отметить, что более половины пациентов с диагностированными генетическими находками имели распространённые проблемы новорождённых, такие как асфиксия, недоношенность, вирусные и бактериальные инфекции. Таким образом, наличие у ребёнка распространённого «негенетического» заболевания не должно быть исключающим наследственную патологию.

ВЫВОДЫ

Проведённое нами исследование показывает высокую эффективность полноэкзомного секвенирования в комплексе диагностических мероприятий у новорождённых с различной соматической патологией. Наши результаты демонстрируют, что до 30 % пациентов неонатальных стационаров с различными соматическими заболеваниями могут иметь генетическую природу. При этом у 16,2 % выявляются патогенные и вероятно патогенные варианты моногенных заболеваний и в 2,5 % – хромосомные аберрации, не диагностированные в ходе цитогенетического исследования. Среди патологических состояний наиболее часто ассоциированы с наследственными заболеваниями судороги, а также мультисистемные врождённые пороки развития.

Наше исследование показывает высокую долю наследственной патологии в структуре неонатальных заболеваний, что свидетельствует о потребности внедрения полноэкзомного секвенирования в программу обследования новорождённых с различной соматической патологией.

Финансирование

Работа проводилась в рамках Соглашения с Министерство здравоохранения России № 056-02-2024-214 от 15.02.2024.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ferreira CR, van Karnebeek CDM. Inborn errors of metabolism. *Handb Clin Neurol*. 2019; 162: 449-481. doi: 10.1016/b978-0-444-64029-1.00022-9

2. Nguengang Wakap S, Lambert DM. Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: Analysis of the Orphanet database. *Eur J Hum Genet*. 2020; 28: 165-173. doi: 10.1038/s41431-019-0508-0

3. Немчинова Н.В., Баирова Т.А., Бельских А.В., Бугун О.В., Рычкова Л.В. Оценка референсных интервалов ацилкарнитинов у новорождённых Сибири. *Acta biomedica scientifica.* 2022; 7(5-1): 86-99. [Nemchinova NV, Bairova TA, Belskikh AV, Bugun OV, Rychkova LV. Assessment of reference intervals of acylcarnitines in newborns in Siberia. *Acta biomedica scientifica*. 2022; 7(5-1): 86-99. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.10

4. Воронин С.В., Куцев С.И. Неонатальный скрининг на наследственные заболевания в России: вчера, сегодня, завтра. Неонатология: новости, мнения, обучение. 2022; 10(4): 34-39.

[Voronin SV, Kutsev SI. Neonatal screening for hereditary diseases in Russia: Yesterday, today, and tomorrow. *Neonatology: News, Opinions, Training.* 2022; 10(4): 34-39. (In Russ.)]. doi: 10.33029/2308-2402-2022-10-4-34-39

5. Roth TL, Marson A. Genetic disease and therapy. *Annu Rev Pathol.* 2021; 24(16): 145-166. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032626

6. Guo MH, Gregg AR. Estimating yields of prenatal carrier screening and implications for design of expanded carrier screening panels. *Genet Med.* 2019; 2(9): 1940-1947. doi: 10.1038/s41436-019-0472-7

7. Miller DT, Lee K, Chung WK, Gordon AS, Herman GE, Klein TE, et al. ACMG SF v. 3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2021; 23(8): 1381-1390. doi: 10.1038/s41436-021-01172-3

8. Berg JS, Agrawal PB, Bailey DB, Beggs AH, Brenner SE, Brower AM, et al. Newborn sequencing in genomic medicine and public health. *Pediatrics.* 2017; 139(2): 20162252. doi: 10.1542/peds.2016-2252

9. Dimmock D, Caylor S, Waldman B, Benson W, Ashburner C, Carmichael JL, et al. Project Baby Bear: Rapid precision care incorporating rWGS in 5 California children's hospitals demonstrates improved clinical outcomes and reduced costs of care. *Am J Hum Genet.* 2021; 108(7): 1231-1238. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.05.008

10. Veldman A, Kiewiet MBG, Heiner-Fokkema MR. Towards next-generation sequencing (NGS)-based newborn screening: A technical study to prepare for the challenges ahead. *Int J Neonatal Screen*. 2022; 8(1): 17. doi: 10.3390/ijns8010017

11. Barbitoff YA, Polev DE, Glotov AS, Serebryakova EA, Shcherbakova IV, Kiselev AM, et al. Systematic dissection of biases in whole-exome and whole-genome sequencing reveals major determinants of coding sequence coverage. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 2057. doi: 10.1038/s41598-020-59026-y

12. Delot EC, Vilan E. Towards improved genetic diagnosis of human differences of sex development. *Nat Rev Genet*. 2021; 22(9): 588-602. doi: 10.1038/s41576-021-00365-5

13. Schofield D, Rynehart L, Shresthra R, White SM, Stark Z. Long-term economic impacts of exome sequencing for suspected monogenic disorders: Diagnosis, management, and reproductive outcomes. *Genet Med.* 2019; 21(11): 2586-2593. doi: 10.1038/s41436-019-0534-x

14. Elfatih A, Mohammed I, Abdelrahman D, Mifsud B. Frequency and management of medically actionable incidental findings from genome and exome sequencing data: A systematic review. *Physiol Genomics*. 2021; 53(9): 373-384. doi: 10.1152/physiolgenomics.00025.2021

15. Esquerda M, Palau F, Lorenzo D, Cambra FJ, Bofarull M, Cusi V, et. al. Ethical questions concerning newborn genetic screening. *Clin Genet*. 2021; 99(1): 93-98. doi: 10.1111/cge.13828

16. Grody WW, Thompson BH, Gregg AR, Bean LH, Monaghan KG, Schneider A, et al. ACMG position statement on prenatal/preconception expanded carrier screening. *Genet Med*. 2013; 15(6): 482-483. doi: 10.1038/gim.2013.47

17. Ceyhan-Birsoy O, Machini K, Lebo MS, Yu TW, Agrawal PB, Parad RB, et al. A curated gene list for reporting results of newborn genomic sequencing. *Genet Med*. 2017; 19(7): 809-818. doi: 10.1038/gim.2016.193

18. Roman TS, Crowley SB, Roche MI, Foreman AKM, O'Daniel JM, Seifert BA, et al. Genomic sequencing for newborn screening: Results of the NC NEXUS Project. *Am J Hum Genet*. 2020; 107(4): 596-611. doi: 10.1016j.ajhg.2020.08.001

19. Holm IA, Agrawal PB, Ceyhan-Birsoy O, Christensen KD, Fayer S, Frankel LA, et al. The BabySeq project: Implementing genomic sequencing in newborns. *BMC Pediatrics*. 2018; 18(1): 225. doi: 10.1186/s12887-018-1200-1

20. Померанцева Е.А., Докшукина А.А., Дегтярева А.В., Масленников Д.Н., Трофимов Д.Ю., Дегтярев Д.Н. Критерии оценки фенотипа новорожденного для формирования группы повышенного риска генетических заболеваний. *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2022; 10(4): 47-53. [Pomerantseva EA, Dokshukina AA, Degtyareva AV, Maslennikov DN, Trofimov DYu, Degtyarev DN. Criteria of phenotype assessment of newborn for the group formation with increased risk of genetic diseases. *Neonatology: News, Opinions, Training.* 2022; 10(4): 47-53. (In Russ.)]. doi: 10.33029/2308-2402-2022-10-4-47-53

21. Ceyhan-Birsoy O, Murry JB, Machini K, Lebo MS, Yu TW, Fayer S, et al. Interpretation of genomic sequencing results in healthy and ill newborns: Results from the BabySeq Project. *Am J Hum Genet*. 2019; 104(1): 76-93. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.11.016

22. Willing LK, Petrikin JE, Smith LD, Saunders CJ, Thiffault I, Miller NA, et al. Whole-genome sequencing for identification of Mendelian disorders in critically ill infants: A retrospective analysis of diagnostic and clinical findings. *Lancet Respir Med*. 2015; 3(5): 377-387.

Сведения об авторах

Богоносова Галина Петровна – аспирант лаборатории педиатрии, врач-неонатолог, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; врач-неонатолог, ОГАУЗ «Городская Ивано-Матрёнинская детская клиническая больница», e-mail: us.galina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9039-2743

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

Ионушене Светлана Владимировна – кандидат медицинских наук, врач анестезиолог-реаниматолог, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; врач анестезиолог-реаниматолог, ОГБУЗ «Иркутский городской перинатальный центр им. Малиновского М.С.», e-mail: ionouche@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7660-2695

Астахова Татьяна Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; e-mail: tatjana_astahova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1427-4734

Голобкова Ирина Михайловна – клинический ординатор кафедры нервных болезней по специальности «генетика», ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: i_golobokova@mail.ru, https://orcid.org/0009-0003-8158-5142

Докшукина Алина Алексеевна – врач-генетик Института репродуктивной генетики, врач-неонатолог, научный сотрудник консультативного педиатрического отделения отдела педиатрии Института неонатологии и педиатрии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, e-mail: alina.dokshukina.gen@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-4424-0271

Шубина Екатерина – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией анализа геномных данных Института репродуктивной генетики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, e-mail: e_shubina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-4383-7428

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

Дегтярев Дмитрий Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, e-mail: d.degtiarev@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-8975-2425

Трофимов Дмитрий Юрьевич – доктор биологических наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, директор Института репродуктивной генетики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, e-mail: d_trofimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-1569-8486

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/https://orcid.org/0000-0002-0117-2563

Мартынович Наталья Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кабинетом Детского центра орфанных заболеваний, ГБУЗ МО «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области», e-mail: mn-07@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-5428-602X

Иванова Ольга Геннадьевна – врач анестезиолог-реаниматолог, ОГБУЗ «Иркутский городской перинатальный центр им. Малиновского М.С.», e-mail: olgaivgir81@yandex.ru, https://orcid.org/ 0000-0001-5527-4904

Кононенко Марина Ивановна – врач-неонатолог ОГАУЗ «Городская Ивано-Матрёнинская детская клиническая больница», e-mail: 29marinared74@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2354-0635

Колодина Виктория Олеговна – врач-неонатолог, ОГАУЗ «Городская Ивано-Матрёнинская детская клиническая больница», e-mail: doc.v.k@bk.ru, https://orcid.org/0009-0001-1996-0621

Кузнецова Нина Николаевна – врач-неонатолог, ОГАУЗ «Городская Ивано-Матрёнинская детская клиническая больница», e-mail: knn-67@mail.ru, https://orcid.org/0000000158707752

Ахмедзянова Маргарита Рашидовна – младший научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: med-lab-gen@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1677-3054

Information about the authors

Galina P. Bogonosova – Postgraduate at the Laboratory of Pediatrics, Neonatologist, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Neonatologist, Ivano-Matreninskaya City Children's Clinical Hospital, e-mail: us.galina@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-9039-2743

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

Svetlana V. Ionushene – Cand. Sc. (Med.), Anesthesiologist-Reanimatologist, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Anesthesiologist-Reanimatologist, M.S. Malinovsky Irkutsk City Perinatal Centre, e-mail: ionouche@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7660-2695

Tatyana A. Astakhova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tatjana_astahova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1427-4734

Irina M. Golobkova – Clinical Resident in Genetics at the Department of Nervous Diseases, Irkutsk State Medical University, e-mail: i_golobokova@mail.ru, https://orcid.org/0009-0003-8158-5142

Alina A. Dokshukina – Geneticist at the Institute of Reproductive Genetics, Neonatologist, Research Officer at the Pediatric Outpatient Department, Institute of Neonatology and Pediatrics, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, e-mail: alina.dokshukina.gen@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-4424-0271

Jekaterina Shubina – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory for Genomic Data Analysis, Institute of Reproductive Genetics, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, e-mail: e_shubina@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0003-4383-7428

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

Dmitriy N. Degtyarev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for Science, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, e-mail: d.degtiarev@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0001-8975-2425

Dmitry Yu. Trofimov – Dr. Sc. (Biol.), Professor of the RAS, Corresponding Member of the RAS, Director of the Institute of Reproductive Genetics, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, e-mail: d_trofimov@oparina4.ru, https://orcid.org/0000-0002-1569-8486

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

Natalya N. Martynovich – Dr. Sc. (Med), Professor, Head of the Department of Pediatric Centre for Orphan Diseases, Research Clinical Institute of Childhood of the Ministry of Healthcare of the Moscow Region, e-mail:mn-07@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-5428-602X

Olga G. Ivanova – Anesthesiologist-Reanimatologist, M.S. Malinovsky Irkutsk City Perinatal Centre, e-mail: olgaivgir81@yandex.ru, https://orcid.org/ 0000-0001-5527-4904

Marina I. Kononenko – Neonatologist, Children's Clinical Hospital of Irkutsk, e-mail: 29marinared74@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2354-0635

Viktoria O. Kolodina – Neonatologist, Ivano-Matreninskaya City Children's Clinical Hospital, e-mail: doc.v.k@bk.ru, https://orcid.org/0009-0001-1996-0621

Nina N. Kuznetsova – Neonatologist, Ivano-Matreninskaya City Children's Clinical Hospital, e-mail: knn-67@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5870-7752

Margarita R. Akhmedzyanova – Junior Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: med-lab-gen@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1677-3054

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ
INFECTIOUS DISEASES

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ МОНОЦИТОВ КРОВИ ПУПОВИНЫ И СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ НОВОРОЖДЁННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С COVID-19

Андриевская И.А.,
Лязгиян К.С.,
Устинов Е.М.

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

Автор, ответственный за переписку:
Андриевская Ирина Анатольевна,
e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *COVID-19 во время беременности оказывает влияние на развитие воспалительных реакций у плода. Однако данные о влиянии материнской инфекции COVID-19 на фенотипический состав моноцитов в крови пуповины новорождённых представлены недостаточно.*

Цель исследования. *Исследовать фенотипический состав моноцитов крови пуповины у новорождённых и дать оценку состояния их здоровья при COVID-19 в третьем триместре беременности.*

Методы. *Проведено сравнительное исследование с участием 62 доношенных новорождённых от матерей с COVID-19 в третьем триместре беременности (основная группа) и 30 новорождённых от матерей, не инфицированных SARS-CoV-2 (группа контроля). На моноцитах крови пуповины методом проточной цитометрии определяли экспрессию CD14, HLA-DR, CD206, CD32, TNFR1, TNFR2, IL17R и TRAIL.*

Результаты. *Согласно результатам, количество моноцитов в крови пуповины у новорождённых в основной группе, экспрессирующих CD14, HLA-DR и TNFR2, было снижено в 1,54, 1,41 и 2,36 раза соответственно ($p < 0,001$) относительно группы контроля. Уровни экспрессии CD206, CD32, TNFR1, IL17R и TRAIL у новорождённых основной группы были повышены в 3,02 ($p < 0,001$), 1,1 ($p < 0,01$), 1,3 ($p < 0,001$), 17,68 ($p < 0,001$) и 3,6 раза ($p < 0,001$) соответственно. Вес ($p = 0,021$) и рост ($p = 0,006$) при рождении у новорождённых основной группы были ниже, чем в группе контроля. При оценке по шкале Апгар различий на первой минуте между исследуемыми группами выявлено не было ($p = 0,170$). На пятой минуте значения в основной группе были ниже, чем в группе контроля ($p = 0,001$). Регрессионный анализ выявил зависимость повышенной заболеваемости новорождённых от количества моноцитов крови пуповины, экспрессирующих TNFR1 и TRAIL. У новорождённых в основной группе был повышен риск развития церебральной ишемии, синдрома двигательных нарушений и стойкого фетального кровообращения.*

Заключение. *Материнская инфекция в третьем триместре беременности, вызванная SARS-CoV-2, приводит к развитию фетального воспалительного ответа, что повышает риск неонатальных осложнений.*

Ключевые слова: *COVID-19, неонатальная заболеваемость, врождённый иммунитет, кровь пуповины, антигенный состав моноцитов*

Статья поступила: 02.12.2024
Статья принята: 13.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Андриевская И.А., Лязгиян К.С., Устинов Е.М. Фенотипический состав моноцитов крови пуповины и состояние здоровья новорождённых от матерей с COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 77-84. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.8

PHENOTYPIC COMPOSITION OF UMBILICAL BLOOD MONOCYTES AND HEALTH STATUS OF NEWBORNS FROM MOTHERS WITH COVID-19

Andrievskaya I.A.,
Lyazgiyan K.S.,
Ustinov E.M.

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

Corresponding author:
Irina A. Andrievskaya,
e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru

ABSTRACT

Background. *COVID-19 during pregnancy affects the development of inflammatory reactions in the fetus. However, data on the impact of maternal COVID-19 on the phenotypic composition of umbilical blood monocytes in newborns are insufficiently presented.*

The aim. *To investigate the phenotypic composition of umbilical blood monocytes in newborns and assess their health status in cases of COVID-19 in the third trimester of pregnancy.*

Materials and methods. *A comparative study was conducted involving 62 full-term newborns from mothers with COVID-19 in the third trimester of pregnancy (main group) and 30 newborns from mothers not infected with SARS-CoV-2 (control group). Expression of CD14, HLA-DR, CD206, CD32, TNFR1, TNFR2, IL17R, and TRAIL on umbilical blood monocytes was determined using flow cytometry.*

Results. *According to the results, the number of monocytes in the umbilical blood of newborns in the main group expressing CD14, HLA-DR, and TNFR2 was reduced by 1.54, 1.41, and 2.36 times respectively ($p < 0.001$) compared to the control group. The expression levels of CD206, CD32, TNFR1, IL17R, and TRAIL were increased by 3.02 ($p < 0.001$), 1.1 ($p < 0.01$), 1.3 ($p < 0.001$), 17.68 ($p < 0.001$), and 3.6 times ($p < 0.001$), respectively. Birth weight ($p = 0.021$) and height ($p = 0.006$) at birth were lower in newborns compared to the control group. In the evaluation using the Apgar score, no differences were found between the study groups at the first minute ($p = 0.170$). At the fifth minute, the values were lower than in the control group ($p = 0.001$). Regression analysis identified a dependence of increased morbidity in newborns on the number of umbilical blood monocytes expressing TNFR1 and TRAIL. Newborns in the main group had an increased risk of developing cerebral ischemia, motor disorder syndrome, and persistent fetal circulation.*

Conclusion. *Maternal infection in the third trimester of pregnancy caused by SARS-CoV-2 leads to the development of a fetal inflammatory response, increasing the risk of neonatal complications.*

Key words: *COVID-19, neonatal morbidity, innate immunity, umbilical blood, monocyte phenotypic composition*

Received: 02.12.2024
Accepted: 13.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Andrievskaya I.A., Lyazgiyan K.S., Ustinov E.M. Phenotypic composition of umbilical blood monocytes and health status of newborns from mothers with COVID-19. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 77-84. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.8

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на распространённость COVID-19 среди беременных, последствия инфекции для плода и новорождённых всё ещё плохо изучены [1]. На сегодняшний день имеется ограниченное количество работ, в которых сообщается о случаях вертикальной передачи SARS-CoV-2 от матери к плоду [2, 3]. Однако это не означает, что перенесённый во время беременности COVID-19 не влияет на плод.

Беременность связана со сложными иммунологическими изменениями, которые могут повышать риск инфекционных и воспалительных заболеваний как у матери, так и у плода [4]. Системное воспаление, вызванное гиперсекрецией провоспалительных цитокинов у матерей с тяжёлым течением COVID-19 во время беременности, связано с неблагоприятными исходами (выкидыши, преждевременные роды, дистресс плода, преэклампсия, задержка роста плода) [5]. Активация иммунной системы у матери при инфекции может иметь долгосрочные последствия для новорождённого, включая нарушения развития нервной и иммунной систем [6, 7].

Ранее проведённые нами исследования показали, что среднетяжёлое течение COVID-19 во время беременности по сравнению с его лёгкой формой сопровождается снижением уровня трансплацентарной передачи антител к SARS-CoV-2 от матери к плоду, увеличивая тем самым риск инфекционно-воспалительных заболеваний у новорождённых [8]. В работе J.D. Matute и соавт. отмечено, что COVID-19 влияет на активность мононуклеаров в крови пуповины у новорождённых [9]. Эти изменения связаны с тяжестью материнской инфекции и выражаются в повышении экспрессии интерферон-стимулированных генов и генов главного комплекса гистосовместимости (HLA, human leukocyte antigen) в $CD14^{+}$-моноцитах, активации плазмоцитоидных дендритных клеток и истощении естественных киллеров (NK, natural killer). В другом исследовании, проведённом K. Saines, показано, что тяжёлое течение COVID-19 во время беременности вызывает развитие синдрома воспалительного ответа плода, который сопровождается активацией иммунной системы и повышением продукции провоспалительных цитокинов [10, 11]. Также в литературе имеются данные о влиянии COVID-19 на уменьшение объёмов тимуса плода, что может расцениваться как признак первичного иммунодефицита у новорождённых [12].

Таким образом, большинство представленных работ рассматривают проблему нарушения иммунной системы плода при COVID-19 во время беременности в аспекте изменений функциональной активности Т- и В-клеточного звена иммунитета, тогда как роль моноцитов и их фенотипические свойства до конца не изучены. Также отсутствуют данные о влиянии материнской COVID-19 на реактивность моноцитов крови пуповины, что может иметь значение в развитии инфекционно-воспалительных заболеваний у новорождённых.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовать фенотипические свойства моноцитов крови пуповины у новорождённых и дать оценку состояния их здоровья при COVID-19 в третьем триместре беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн и условия проведения исследования

Проведено сравнительное исследование по типу «случай-контроль» с участием 92 доношенных новорождённых, родившихся в ГАУЗ Амурской области «Благовещенская городская клиническая больница» (г. Благовещенск). Дополнительно был выполнен ретроспективный анализ медицинских карт беременной, роженицы и родильницы, получающей медицинскую помощь в стационарных условиях (форма № 096/1у-20) и индивидуальных медицинских карт беременной и родильницы (форма № 111/у-20). Лабораторные исследования проводились в научных подразделениях ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» с привлечением оборудования Центра коллективного пользования.

Критерии включения в основную группу: доношенные новорождённые от одноплодной спонтанной беременности; подтверждённая с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) инфекция COVID-19 у матери в третьем триместре беременности; добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения в контрольную группу: доношенные новорождённые от матерей, не инфицированных SARS-CoV-2, с одноплодной спонтанной беременностью; добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: новорождённые от многоплодной спонтанной беременности; новорождённые с подтвержденной методом ПЦР инфекцией COVID-19; наличие активного инфекционного и/или воспалительного процесса во время беременности; хромосомные аномалии, генетические мутации и врождённые пороки развития у плода; отказ от участия в исследовании.

В основную группу вошли 62 новорождённых от матерей с перенесённым COVID-19 в третьем триместре беременности. Срок беременности на момент заболевания составил 33,0 (32,0–35,0) недели.

Контрольная группа была сформирована из 30 здоровых новорождённых от матерей, не инфицированных SARS-CoV-2.

Этическая экспертиза

Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом COVID-19 (протокол № 144 от 09.06.2023). Все участницы исследования подписали информированное добровольное согласие и согласились на включение результатов обследования в научно-исследовательскую работу. Исследование было проведено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013).

Продолжительность исследования, описание и методы регистрации

Исследования проводили в период с января 2022 г. по март 2023 г. Материалом для исследования послужила кровь пуповины новорождённых. Образцы крови были взяты из вены пуповины сразу после родов в стандартные вакуумные системы, содержащие коагулянт – этилендиаминтетрауксусную кислоту (Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd., Китай).

Для отделения мононуклеаров применялся лизисный буфер Invitrogen eBioscience 10X RBC Lysis Buffer (Thermo Fisher Scientific, США). Лизис производился добавлением пяти частей буфера к одной части цельной крови с последующей инкубацией при комнатной температуре в течение 15 минут. Затем клетки промывали дважды с использованием раствора фосфатно-солевого буфера (ФСБ) (Росмедбио, Россия). Полученные мононуклеары использовались для цитофлуорометрических исследований.

Для определения мембранного гликозилфосфатидилинозитол-связанного белка (CD14) (BD Biosciences, США), молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (HLA-DR), Fcγ-рецептора II типа (CD32), маннозного рецептора (CD206), рецепторов фактора некроза опухоли 1-го (TNFR1, tumor necrosis factor receptor 1) и 2-го типов (TNFR2), лиганда, индуцирующего апоптоз (TRAIL, TNF-related apoptosis-inducing ligand) (BioLegend, США), рецептора интерлейкина 17 (IL17R, interleukin 17 receptor) (Invitrogen, США) использовалась лизированная кровь, содержащая соответствующие моноклональные антитела к поверхностным антигенам. После инкубации в защищённом от света месте клеточную взвесь центрифугировали в течение 5 мин при 400 g и подвергали повторной отмывке/центрифугированию. Затем осадок ресуспендировали в ФСБ и использовали в анализе.

Оценка степени окрашивания CD-рецепторов проводилась с помощью проточного цитофлуориметра BD FACS Canto II (Becton Dickinson, США) в FITC-канале при скорости потока образца 100 мкл/мин.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics Version 23.0 (IBM Corp., США). Проверку нормальности распределения переменных проводили с использованием критерия Шапиро – Уилка. Оценку статистической значимости межгрупповых различий для нормально распределённых количественных переменных выполняли с помощью *t*-критерия Стьюдента, при отсутствии нормальности распределения – с помощью *U*-критерия Манна – Уитни. Для сравнения трёх и более групп использовали критерий Краскела – Уоллиса. Количественные показатели представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q_{25}–Q_{75}), категориальные данные – в виде частот и процентов. Анализ различия частот в двух независимых исследуемых группах проводился с использованием критерия χ^2 Пирсона. Анализ относительных рисков (ОР) выполнялся с помощью четырёхпольных таблиц сопряжённости с 95%-м доверительным интервалом (95% ДИ). Различия считались статистически значимыми при достигнутом уровне $p < 0,05$. Исследование взаимосвязей между исследуемыми параметрами и поиск предикторов проводили с помощью регрессионного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фенотипический состав моноцитов крови пуповины новорождённых в основной группе и в группе контроля представлен в таблице 1. Согласно результатам сравнительного анализа, количество моноцитов, экспрессирующих CD14 и HLA-DR в основной группе, было снижено в 1,54 ($p < 0,001$) и 1,41 раза ($p < 0,001$) соответственно относительно группы контроля. Уровень экспрессии

ТАБЛИЦА 1

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ МОНОЦИТОВ В КРОВИ ПУПОВИНЫ У НОВОРОЖДЁННЫХ В ОСНОВНОЙ ГРУППЕ И В ГРУППЕ КОНТРОЛЯ (%)

TABLE 1

PHENOTYPIC COMPOSITION OF UMBILICAL BLOOD MONOCYTES IN THE MAIN AND CONTROL GROUPS (%)

Показатели	Основная группа	Группа контроля	*p*
CD14	62,6 (49,8–79,6)	96,4 (92,6–98,2)	< 0,001
HLA-DR	67,5 (55,7–79,3)	95,4 (93,8–96,7)	< 0,001
CD206	14,5 (10,8–17,8)	4,8 (2,7–6,1)	< 0,001
CD32	97,5 (93,9–98,9)	90,0 (88,7–90,6)	< 0,01
TNFR1	56,0 (48,1–63,4)	43,2 (39,6–44,55)	< 0,001
TNFR2	3,6 (3,1–5,1)	8,5 (7,6–10,0)	< 0,001
IL17R	33,6 (20,3–36,3)	1,9 (1,5–2,3)	< 0,001
TRAIL	59,7 (44,2–66,7)	16,6 (15,6–19,6)	< 0,001

Примечание. Здесь и далее: *p* – уровень статистической значимости различий показателей между основной группой и группой контроля.

CD206 и CD32, наоборот, был повышен в 3,02 ($p < 0,001$) и 1,1 раза ($p < 0,01$) соответственно. Количество TNFR1 было в 1,3 раза выше ($p < 0,001$), а TNFR2 – в 2,36 раза ниже ($p < 0,001$), чем в группе контроля. Уровень экспрессии TRAIL был повышен в 3,6 раза ($p < 0,001$) относительно группы контроля. Следует заметить, что моноциты в группе контроля практически не экспрессировали IL17R, тогда как в основной группе новорождённых количество таких клеток повышалось в 17,68 раза ($p < 0,001$).

Следовательно, в популяции моноцитов крови пуповины у новорождённых в основной группе преобладал пул клеток с провоспалительными свойствами, что, возможно, является следствием влияния материнской COVID-19 инфекции.

Дальнейший анализ показал, что из 62 новорождённых в основной группе было 30 (48,38 %) мальчиков и 32 (51,61 %) девочки, в группе контроля – 13 (43,33 %) и 17 (56,67 %) ($p = 0,267$) соответственно. Вес при рождении у новорождённых в основной группе был ниже, чем в группе контроля ($p = 0,021$) (табл. 2). В основной группе и в группе контроля одинаково часто рождались дети более 4 кг (6 (9,68 %) и 2 (3,45 %) ребёнка соответственно; $p = 0,086$) и маловесные дети (4 (6,45 %) и 1 (3,33 %) ребёнок соответственно; $p = 0,496$). Также новорождённые в основной группе и в группе контроля различались по показателям роста ($p = 0,006$).

Оценка новорождённых по шкале Апгар показала, что на первой минуте между основной группой и группой контроля отличий не обнаружено ($p = 0,170$), в то время как на пятой минуте значения в основной группе были ниже, чем в группе контроля ($p = 0,001$), что может свидетельствовать о снижении адаптационных возможностей у новорождённых.

Анализ структуры неонатальной заболеваемости показал наличие церебральной ишемии (P91.0) у 17 (27,42 %) новорождённых в основной группе против 1 (3,33 %) в группе контроля (ОР = 9,0; 95% ДИ: 2,82–28,71; $\chi^2 = 22,745$; $p < 0,001$). Синдром двигательных нарушений (P91.9) выявлен у 13 (20,97 %) новорождённых в основной группе против 1 (3,33 %) в группе контроля (ОР = 7,0; 95% ДИ: 2,16–22,72; $\chi^2 = 13,684$; $p < 0,001$); стойкое фетальное кровообращение (P29.3) – у 17 (27,42 %) против 2 (6,67 %) (ОР = 3,87; 95% ДИ: 1,76–8,45; $\chi^2 = 22,745$; $p < 0,001$). Ишемия мозга 1-й степени одинаково часто выявлялась в основной и в контрольной группе – у 5 (8,06 %) и 1 (3,33 %) новорождённого соответственно ($\chi^2 = 1,539$; $p = 0,215$). Ишемия мозга 1–2-й и 2-й степеней диагностировалась только у новорождённых в основной группе – у 6 (9,68 %) и 6 (9,68 %) соответственно степени тяжести. Дыхательная недостаточность (P28.5) выявлялась у 3 (4,84 %) и 1 (3,33 %) новорождённого ($\chi^2 = 0,130$; $p = 0,719$), а неонатальная желтуха (P59) – у 4 (6,45 %) и 2 (6,67 %) новорождённых ($\chi^2 = 0,077$; $p = 0,782$) соответственно в основной группе и в группе контроля. Для новорождённых в основной группе были характерны: гипертензионный синдром (P91.7) – у 8 (12,9 %), постгипоксическая кардиомиопатия (P29.8) – у 8 (12,9 %), внутрижелудочковые кровоизлияния (P52.8) – у 6 (9,68 %), вегетовисцеральный синдром (P92.1) – у 3 (4,84 %), анемия (P61.4) – у 4 (6,45 %), кровоизлияния в сосудистые сплетения (P52.8) – у 3 (4,84 %), синдром гипервозбудимости (P91.3) – у 2 (3,22 %), признаки внутриутробного инфицирования (P39.9) – у 2 (3,22 %), конъюнктивит (P39.1) – у 1 (1,61 %).

Методом корреляционно-регрессионного анализа были выявлены различные по силе и направленности корреляции между неонатальной заболеваемостью в основной группе и количеством моноцитов, экспрессирующих CD14 ($r = -0,78$; $p < 0,001$), HLA-DR ($r = -0,67$; $p = 0,003$), CD206 ($r = 0,62$; $p = 0,006$), CD32 ($r = 0,77$; $p < 0,001$), TNFR1 ($r = 0,48$; $p = 0,036$), TNFR2 ($r = -0,73$; $p < 0,001$), IL17R ($r = 0,78$; $p < 0,001$) и TRAIL ($r = 0,78$; $p < 0,001$). Проведённый в дальнейшем пошаговый регрессионный анализ выявил зависимость повышенной заболеваемости новорождённых в основной группе от количества моноцитов крови пуповины, экспрессирующих TNFR1 и TRAIL (коэффициент детерминации $R^2 = 0,837$; критерий Фишера (F) = 30,758; $p < 0,001$). При этом предиктивная способность TRAIL была больше, чем у TNFR1, о чём свидетельствовало значение стандартизованного коэффициента (β), равное 0,79 ($p < 0,001$). Для TNFR1 величина коэффициента β составила 0,37 ($p = 0,009$). Об отсутствии мультиколлинеарности и автокорреляции независимых переменных свидетельствовали значения фактора инфляции дисперсии (VIF, variance inflation factor) и критерия Дарбина – Уотсона (DW, Durbin – Watson), составившие

ТАБЛИЦА 2

МАССА ТЕЛА И ОЦЕНКА ПО ШКАЛЕ АПГАР У НОВОРОЖДЁННЫХ В ОСНОВНОЙ ГРУППЕ И В ГРУППЕ КОНТРОЛЯ

TABLE 2

BODY WEIGHT AND APGAR SCORE IN NEWBORNS FROM THE MAIN AND CONTROL GROUPS

Характеристики	Основная группа	Группа контроля	*p*
Масса тела, г	3340,0 (2870,0–3670,0)	3485,0 (3200,0–3750,0)	0,022
Рост, см	53,0 (51,0–54,0)	52,0 (51,0–54,0)	0,006
Шкала Апгар			
1-я минута	8,0 (8,0–9,0)	8,0 (8,0–9,0)	0,170
5-я минута	9,0 (8,0–9,0)	9,0 (9,0–9,0)	0,001

1,02 и 0,98 соответственно. Итоговая регрессионная модель (Y) имела следующий вид:

$$Y = -0{,}716 - 0{,}017 \times \text{TRAIL} + 0{,}013 \times \text{TNFR1},$$

где 0,716 – константа.

ОБСУЖДЕНИЕ

Активированные моноциты являются основными продуцентами цитокинов, которые участвуют в регуляции иммунной системы при различных инфекционных и воспалительных заболеваниях. Изменения иммунного ответа при COVID-19 характеризуются гиперсекрецией провоспалительных цитокинов и развитием системного воспаления. Отмечено, что у беременных, перенёсших COVID-19, уровень цитокинемии выше, чем у небеременных женщин, что, по-видимому, влияет на развитие воспалительных реакций у плода [10]. Также было показано, что COVID-19 во время беременности приводит к воспалительным изменениям в плаценте [13, 14] и в пуповине плода [15]. Имеется подтверждение, что эти нарушения связаны с риском неонатальных осложнений [13].

J.D. Matute и соавт. изучен транскриптом мононуклеарных клеток в крови пуповины у новорождённых от матерей с COVID-19 [9]. В работе отмечено, что фетальные моноциты имеют преимущественную поляризацию по M1-фенотипу, при которой повышена экспрессия генов, стимулируемых интерфероном, и провоспалительных цитокинов. Наши исследования подтверждают эти данные. Установлено, что в крови пуповины новорождённых от матерей, перенёсших COVID-19 в третьем триместре беременности, наблюдается повышение количества моноцитов, экспрессирующих молекулы предактивации (CD206, CD32), рецепторы провоспалительных цитокинов (TNFR1, IL17R) и индуктор апоптоза (TRAIL). В то же время экспрессия антигенпрезентирующих и связывающих патогены молекул (CD14, HLA-DR) и TNFR2 на моноцитах была значительно снижена по сравнению с новорождёнными от не инфицированных SARS-CoV-2 матерей, что подтверждает мнение о влиянии COVID-19 во время беременности на развитие фетального воспалительного ответа.

Одними из механизмов снижения экспрессии CD14 могут быть активация Toll-подобного рецептора 4 (TLR4, Toll-like receptor 4) и инициация транскрипционного ядерного фактора NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), приводящая к продукции провоспалительных цитокинов [16]. При стимуляции медиаторами воспаления рецепторного комплекса CD14/TLR4/MD2 происходит высвобождение растворимых подтипов CD14 (sCD14-ST) и снижение уровня мембран-ассоциированной формы [17]. Это согласуется с пониженной способностью моноцитов презентировать антиген рецепторам Т-клеток, о чём свидетельствовало снижение уровня экспрессии HLA-DR. A.E. Mengos и соавт. отмечено, что высокий уровень IL-1β, IL-10 и трансформирующего фактора роста бета (TGF-β) в крови может блокировать экспрессию моноцитами HLA-DR, вызывая развитие иммуносупрессивного состояния [18].

Рецепторы CD206 и CD32 являются маркерами активации моноцитов. Показано, что CD206, преимущественно экспрессируемый M2-макрофагами, обладает иммуносупрессивной активностью, а CD32 проявляет провоспалительные свойства [19]. Экспрессия CD206 на моноцитах может активировать Т-клетки через стимуляцию транскрипционного фактора STAT1 (signal transducer and activator of transcription 1) и индуцибельной NO-синтазы (iNOS, inducible nitric oxide synthase) [20]. Повышение их активности способствует изменению функциональной активности клеточного иммунитета. CD32 участвует в распознавании циркулирующих иммунных комплексов, опсонизированных различными подклассами иммуноглобулинов (Ig) G [21]. Активация рецептора инициирует высвобождение моноцитами провоспалительных цитокинов, включая TNF-α и интерфероны, которые участвуют в воспалительных реакциях при инфекционных заболеваниях. Не удивительно, что при повышении экспрессии CD32 на моноцитах крови пуповины у новорождённых от матерей с COVID-19 в третьем триместре беременности мы отмечали высокий уровень TNFR1 и IL-17R. Их сигнальная функция определяется взаимной активацией рецепторов с привлечением адаптерных белков, таких как фактор 6, связанный с рецептором TNF (TRAF6, TNF receptor-associated factor 6), и белок домена смерти, ассоциированный с TNFR1 (TRADD, TNF receptor type 1-associated DEATH domain protein), которые активируют каскад сигнализации NF-κB и развитие воспалительного ответа [22, 23]. В отличие от TNFR1, функция TRAIL не ограничивается участием в апоптозе и регуляции иммунных реакций. В работе R. Di Pietro и G. Zauli описана его роль в миграции и пролиферации эндотелиальных клеток и гладкомышечных клеток сосудов [24], что, по-нашему мнению, может иметь значение в развитии воспаления пуповины и неонатальных осложнений. Подтверждением сказанному явилась выявленная в ходе регрессионного анализа зависимость повышенной заболеваемости новорождённых от матерей с COVID-19 от количества моноцитов крови пуповины, экспрессирующих TNFR1 и TRAIL. На влияние материнской инфекции также указывали параметры оценки состояния новорождённых, которые характеризовались более низкими показателями массы тела и роста при рождении, а также значений шкалы Апгар на 5-й минуте по сравнению с новорождёнными от не инфицированных SARS-CoV-2 матерей. COVID-19 в третьем триместре беременности повышал риск развития церебральной ишемии, синдрома двигательных нарушений и стойкого фетального кровообращения у новорождённых. Однако связь фенотипических особенностей моноцитов крови пуповины с развитием данных заболеваний у новорождённых от матерей с COVID-19 предстоит ещё оценить.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Материнская инфекция в третьем триместре беременности, вызванная SARS-CoV-2, приводит к развитию фетального воспалительного ответа, который проявля-

ется в повышении экспрессии на моноцитах крови пуповины CD206, CD32, TNFR1, IL17R, TRAIL и снижении уровней CD14, HLA-DR и TNFR2. У таких новорождённых повышен риск развития церебральной ишемии, синдрома двигательных нарушений и стойкого фетального кровообращения. Показана связь высокой заболеваемости новорождённых от матерей с COVID-19 с повышенной экспрессией на моноцитах крови пуповины TNFR1 и TRAIL.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 23-25-00049 от 12.01.2023).

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chen L, Li Q, Zheng D, Jiang H, Wei Y, Zou L, et al. Clinical characteristics of pregnant women with COVID-19 in Wuhan, China. *N Engl J Med*. 2020; 382(25): e100. doi: 10.1056/NEJMc2009226

2. Bui MT, Nguyen Le CA, Duong KL, Hoang VT, Nguyen TK. Transplacental transmission of SARS-CoV-2: A narrative review. *Medicina (Kaunas)*. 2024; 60(9): 1517. doi: 10.3390/medicina60091517

3. Raschetti R, Vivanti AJ, Vauloup-Fellous C, Loi B, Benachi A, De Luca D. Synthesis and systematic review of reported neonatal SARS-CoV-2 infections. *Nat Commun*. 2020; 11(1): 5164. doi: 10.1038/s41467-020-18982-9

4. Foo SS, Cambou MC, Mok T, Fajardo VM, Jung KL, Fuller T, et al. The systemic inflammatory landscape of COVID-19 in pregnancy: Extensive serum proteomic profiling of mother-infant dyads with *in utero* SARS-CoV-2. *Cell Rep Med*. 2021; 2(11): 100453. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100453

5. Muyayalo KP, Huang DH, Zhao SJ, Xie T, Mor G, Liao AH. COVID-19 and Treg/Th17 imbalance: Potential relationship to pregnancy outcomes. *Am J Reprod Immunol*. 2020; 84(5): e13304. doi: 10.1111/aji.13304

6. Al-Haddad BJS, Oler E, Armistead B, Elsayed NA, Weinberger DR, Bernier R, et al. The fetal origins of mental illness. *Am J Obstet Gynecol*. 2019; 221(6): 549-562. doi: 10.1016/j.ajog.2019.06.013

7. Abu-Raya B, Kollmann TR, Marchant A, MacGillivray DM. The immune system of HIV-exposed uninfected infants. *Front Immunol*. 2016; 7: 383. doi: 10.3389/fimmu.2016.00383

8. Андриевская И.А., Лязгиян К.С., Жуковец И.В., Устинов Е.М. Влияние перенесенной в третьем триместре беременности инфекции COVID-19 на показатели врожденного иммунитета, связь с акушерскими и перинатальными исходами. *Бюллетень сибирской медицины.* 2024; 23(2): 5-13. [Andrievskaya IA, Lyazgiyan KS, Zhukovets IV, Ustinov EM. Effect of COVID-19 infection in the third trimester of pregnancy on innate immunity parameters, association with obstetric and perinatal outcomes. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2024; 23(2): 5-13. (In Russ.)]. doi: 10.20538/1682-0363-2024-2-5-13

9. Matute JD, Finander B, Pepin D, Ai X, Smith NP, Li JZ, et al. Single-cell immunophenotyping of the fetal immune response to maternal SARS-CoV-2 infection in late gestation. *Pediatr Res*. 2022; 91(5): 1090-1098. doi: 10.1038/s41390-021-01793-z

10. Saines K. The systemic inflammatory landscape of COVID-19 in pregnancy: Extensive serum proteomic profiling of mother-infant dyads with *in utero* SARS-CoV-2. *Cell Rep Med*. 2021; 2(11): 100453. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100453

11. Гашимова Н.Р., Панкратьева Л.Л., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Макацария Н.А., Третьякова М.В., и др. Внутриутробная активация иммунной системы плода в ответ на COVID-19 у матери. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2023; 17(2): 188-201. [Gashimova NR, Pankratyeva LL, Bitsadze VO, Khizroeva JKh, Makatsariya NA, Tretyakova MV, et al. Intrauterine activation of the fetal immune system in response to maternal COVID-19 *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2023; 17(2): 188-201. (In Russ.)]. doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.404

12. Goncu Ayhan S, Turgut E, Oluklu D, Ozden Tokalioglu E, Menekse Beser D, Moraloglu Tekin O, et al. Influence of COVID-19 infection on fetal thymus size after recovery. *J Perinatal Med*. 2022; 50(2): 139-143. doi: 10.1515/jpm-2021-0322

13. Liu P, Zheng J, Yang P, Wang X, Wei C, Zhang S, et al. The immunologic status of newborns born to SARS-CoV-2-infected mothers in Wuhan, China. *J Allergy Clin Immunol*. 2020; 146(1): e101-109. doi: 10.1016/j.jaci.2020.04.038

14. Андриевская И.А., Лязгиян К.С. Характер экспрессии макрофагами CD68 и гистопатология плаценты при COVID-19, связь с акушерскими и неонатальными осложнениями. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2024; 93: 91-99. [Andrievskaya IA, Lyazgyan KS. Expression of CD68 by macrophages and histopathology of the placenta in COVID-19: Association with obstetric and neonatal complications. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2024; 93: 91-99. (In Russ.)]. doi: 10.36604/1998-5029-2024-93-91-99

15. Kim SK, Romero R, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Mittal P, et al. Evidence of changes in the immunophenotype and metabolic characteristics (intracellular reactive oxygen radicals) of fetal, but not maternal, monocytes and granulocytes in the fetal inflammatory response syndrome. *J Perinat Med*. 2009; 37(5): 543-552. doi: 10.1515/JPM.2009.106

16. van der Mark VA, Ghiboub M, Marsman C, Zhao J, van Dijk R, Hiralall JK, et al. Erratum to: Phospholipid flippases attenuate LPS-induced TLR4 signaling by mediating endocytic retrieval of Toll-like receptor 4. *Cell Mol Life Sci*. 2017; 74(7): 1365. doi: 10.1007/s00018-017-2475-3

17. Pugni L, Pietrasanta C, Milani S, Vener C, Ronchi A, Falbo M, et al. Presepsin (soluble CD14 subtype): Reference ranges of a new sepsis marker in term and preterm neonates. *PLoS One*. 2015; 10(12): e0146020. doi: 10.1371/journal.pone.0146020

18. Mengos AE, Gastineau DA, Gustafson MP. The CD14(+) HLA-DR(lo/neg) monocyte: An immunosuppressive phenotype that restrains responses to cancer immunotherapy. *Front Immunol*. 2019; 10: 1147. doi: 10.3389/fimmu.2019.01147

19. Федоров А.А., Ермак Н.А., Геращенко Т.С., Топольницкий Е.Б., Шефер Н.А., Родионов Е.О., и др. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции. *Сибирский онкологический журнал*. 2022; 21(4): 124-136. [Fedorov AA, Ermak NA, Gerashchenko TS, Topolnitskii EB, Shefer NA, Rodionov EO, et al. Polarization of macrophages: Mechanisms, markers and factors of induction. *Siberian Journal of Oncology*. 2022; 21(4): 124-136. (In Russ.)]. doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136

20. Gabrilovich D, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9(3): 162-174. doi: 10.1038/nri2506

21. Арсентьева Н.А., Бацунов О.К., Кудрявцев И.В., Семёнов А.В., Тотолян А.А. Рецептор CD32a и его роль в норме и при патологии. *Медицинская иммунология.* 2020; 22(3): 433-442. [Arsentieva NA, Batsunov OK, Kudryavtsev IV, Semenov AV, Totolian AA. CD32a receptor in health and disease. *Medical Immunology (Russia).* 2020; 22(3): 433-442. (In Russ.)]. doi: 10.15789/1563-0625-CRI-2029

22. Jin Z, El-Deiry WS. Distinct signaling pathways in TRAIL – versus tumor necrosis factor-induced apoptosis. *Mol Cell Biol*. 2006; 26(21): 8136-8148. doi: 10.1128/MCB.00257-06

23. Kostareva OS, Gabdulkhakov AG, Kolyadenko IA, Garber MB, Tishchenko SV. Interleukin-17: Functional and structural features, application as a therapeutic target. *Biochemitry (Mosc)*. 2019; 84(1): 193-205. doi: 10.1134/S0006297919140116

24. Di Pietro R, Zauli G. Emerging non-apoptotic functions of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)/Apo2L. *J Cell Physiol*. 2004; 201(3): 331-340. doi: 10.1002/jcp.20099

Сведения об авторах

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

Лязгиян Карен Саргисович – младший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: lyazgiyankaren@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8329-3237

Устинов Егор Михайлович – младший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: eustinov.asma@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-6235-8732

Information about the authors

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

Karen S. Lyazgyan – Junior Research Officer at the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System in Nonspecific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: lyazgiyankaren@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8329-3237

Egor M. Ustinov – Junior Research Officer at the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System in Nonspecific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: eustinov.asma@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-6235-8732

КАРДИОЛОГИЯ
CARDIOLOGY

ДИАГНОСТИКА ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА В РАМКАХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПРИГОДНОСТИ ЛИЦ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ БЕЗОПАСНОСТЬ ДВИЖЕНИЯ ПОЕЗДОВ НА ЗАБАЙКАЛЬСКОЙ ЖЕЛЕЗНОЙ ДОРОГЕ

Аксенова Т.А. [1],
Беломестнова К.Э. [1],
Ляпунова А.К. [1],
Озорнина В.А. [1],
Горбунов В.В. [1],
Царенок С.Ю. [1],
Ильямакова Н.А. [2],
Сулейманова А.Ю. [2],
Щербак В.А. [1]

[1] ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а, Россия)
[2] ЧУЗ «Клиническая больница "РЖД-медицина" г. Чита» (672039, г. Чита, ул. Ленина, 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Аксенова Татьяна Александровна,
e-mail: tatianaks@mail.ru

Статья поступила: 06.02.2023
Статья принята: 06.03.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. *Провести экспертную диагностику ишемической болезни сердца у работников железнодорожного транспорта первой профессиональной категории на Забайкальской железной дороге и сравнить клинико-инструментальные характеристики лиц с наличием и отсутствием стеноза коронарных артерий (КА) по данным коронароангиографии (КАГ).*
Материалы и методы. *Обследованы 108 мужчин, профессиональная деятельность которых связана с обеспечением безопасности движения на железнодорожном транспорте. Участники были отобраны методом сплошной выборки и имели либо высокие градации желудочковых аритмий (56,2 %), либо неспецифические изменения сегмента ST (43,8 %), что явилось показанием к проведению КАГ. Выполнены эхокардиография, суточное мониторирование электрокардиограммы с изучением параметров вариабельности ритма сердца, КАГ и липидограмма. Статистический анализ выполнен посредством пакета программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США).*
Результаты и обсуждение*. При проведении КАГ стенозы различной выраженности выявлены у 57 (52,8 %) пациентов. У группы пациентов со стенозом КА общий холестерин был выше на 9,7 % (p = 0,0054), индекс массы миокарда левого желудочка (ИММ ЛЖ) был выше на 18,6 % по сравнению с таковым в группе без стенозов КА (p = 0,0012). Показатель вариабельности ритма сердца SDNN (standard deviation of normal heartbeat) составил 103,3 ± 31,3 мс у больных с наличием стеноза, без стеноза – 134,0 ± 48,2 мс (p = 0,0019). Анамнез артериальной гипертензии (АГ) при наличии стеноза был в 2 раза дольше (p = 0,0036).*
Заключение. *Более чем у 50 % работников первой профессиональной группы с неинформативной предтестовой вероятностью ишемической болезни сердца посредством КАГ выявлены стенозы КА, в 54,4 % случаев они были гемодинамически значимыми. Установлены положительные корреляционные взаимосвязи между наличием стеноза КА и стажем АГ, наличием гипертрофии и диастолической дисфункции левого, ИММ ЛЖ, одышкой при физической нагрузке.*

Ключевые слова: *ишемическая болезнь сердца, липидный обмен, атеросклероз, коронароангиография, стеноз коронарных артерий, лица, обеспечивающие безопасность движения поездов*

Для цитирования: Аксенова Т.А., Беломестнова К.Э., Ляпунова А.К., Озорнина В.А., Горбунов В.В., Царенок С.Ю., Ильямакова Н.А., Сулейманова А.Ю., Щербак В.А. Диагностика ишемической болезни сердца в рамках определения профессиональной пригодности лиц, обеспечивающих безопасность движения поездов на Забайкальской железной дороге. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 85-92. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.9

DETECTION OF HIDDEN CORONARY INSUFFICIENCY IN PERSONS ENSURING THE SAFETY OF TRAIN TRAFFIC ON THE TRANS-BAIKAL RAILWAY

Aksenova T.A. [1],
Belomestnova K.E. [1],
Lyapunova A.K. [1],
Ozornina V.A. [1],
Gorbunov V.V. [1],
Tsarenok S.Yu. [1],
Ilyamakova N.A. [2],
Suleymanova A.Yu. [2],
Shcherbak V.A. [1]

[1] Chita State Medical Academy (Gorkogo str. 39A, Chita 672000, Russian Federation)
[2] Clinical Hospital of RZD-Medicine in Chita (Lenina str. 4, Chita 672039, Russian Federation)

Corresponding author:
Tatiana A. Aksenova,
e-mail: tatianaks@mail.ru

ABSTRACT

The aim of the study. *To conduct preclinical diagnosis of ischemic heart disease and to identify latent coronary insufficiency in persons involved in traffic safety in railway transport.*

Materials and methods. *A cross-sectional study of 108 working male railway workers whose duty is ensuring the safety of railway traffic was conducted. These patients were selected as having high-grade arrhythmias (56.2 %) or non-specific disorders of repolarization processes on the ECG (43.8 %), which was an indication for coronary angiography. All patients underwent echocardiography, ECG, Holter monitoring with the study of heart rate variability, lipid spectrum and coronary angiography. Statistical processing was carried out in the Statistica 10 program.*

Results and discussion. *During coronary angiography, coronary artery stenosis of various severity were detected in 57 (52.8 %) patients. In the group of patients with stenosis, total cholesterol was 9.7 % higher (p = 0.0054), left ventricular myocardial mass index was 18.6 % higher compared to the group without stenosis (p = 0.0012). In the presence of stenosis, standard deviation of normal heartbeat index was 103.3 ± 31.3 ms, without stenosis – 134.0 ± 48.2 ms (p = 0.0019). The duration of arterial hypertension in the group with stenosis was two times longer (p = 0.0036).*

Conclusion. *52.8 % of the examined patients had coronary artery stenoses, more than half of these stenoses were hemodynamically significant. Positive correlations were found between the presence of coronary artery stenosis and the duration of hypertension, the presence of hypertrophy and diastolic dysfunction of the left ventricle, left ventricular myocardial mass index, and complaints of shortness of breath during exercise.*

Key words: *ischemic heart disease, lipid metabolism, atherosclerosis, coronary angiography, coronary artery stenosis, train traffic safety personnel*

Received: 06.02.2023
Accepted: 06.03.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Aksenova T.A., Belomestnova K.E., Lyapunova A.K., Ozornina V.A., Gorbunov V.V., Tsarenok S.Yu., Ilyamakova N.A., Suleymanova A.Yu., Shcherbak V.A. Detection of hidden coronary insufficiency in persons ensuring the safety of train traffic on the Trans-Baikal Railway. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 85-92. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.9

ВВЕДЕНИЕ

В основе клинических проявлений ишемической болезни сердца (ИБС) лежит атеросклеротический и/или функциональный стеноз эпикардиальных сосудов, а также нарушения микроциркуляции. Классификация ИБС включает в себя как острые преходящие (нестабильные), так и хронические (стабильные) состояния, к которым относят в том числе гемодинамически значимые стенозы коронарных артерий (КА) [1].

Велика социальная значимость ИБС, так как эта болезнь – одна из основных причин смертности и инвалидизации у работающих граждан. Данные Росстата убедительно демонстрируют, что ИБС является самой частой причиной обращаемости за медицинской помощью среди всех заболеваний органов кровообращения (28 %); смертность от данной патологии в последние годы составляет 623–632 случая на 100 тыс. населения [2].

Однако фактическое количество больных ИБС ещё больше. Данные Российского регистра острого коронарного синдрома показали, что почти в половине случаев первым зарегистрированным в медицинской статистической документации проявлением ИБС явился инфаркт миокарда [2]. Исходя из этого можно предположить, что только 40–50 % пациентов знают о наличии у них ИБС и получают соответствующую терапию, у остальных 50–60 % лиц коронарная патология остаётся недиагностированной. В связи с этим значимым звеном профилактики осложнений ИБС является ранняя диагностика, позволяющая взять пациентов под наблюдение и снизить летальность.

Одной из наиболее значимых групп людей, которым необходима ранняя диагностика ИБС, являются лица, обеспечивающие безопасность движения на железнодорожном транспорте. Эти работники могут не сообщать об имеющихся у них клинических проявлениях ИБС с целью сохранения профессиональной пригодности, т. к., согласно приказу Минздравсоцразвития России № 796 от 19.12.2005 (с изменениями от 27.04.2017), ИБС входит в перечень медицинских противопоказаний для осуществления работ, непосредственно связанных с движением поездов и маневровой работой. Внедрённая в последние годы предтестовая вероятность оценки ИБС у работников локомотивных бригад не информативна, поскольку данный способ включает оценку клинических проявлений стенокардии, о которой работники-движенцы умалчивают [3].

Согласно статистике, болезни сердечно-сосудистой системы находятся на первом месте в общей структуре заболеваемости работников железнодорожной отрасли, составляя 17,9 %, при этом на долю ИБС приходится 15,9 %. Заболевания органов кровообращения в 95,7 % случаев являются причиной внезапной смерти работников, обеспечивающих безопасность движения поездов, согласно данным Целевой комплексной программы по снижению заболеваемости и предотвращению смертности от болезней системы кровообращения работников ОАО «РЖД» на период 2015–2017 гг. Проспективное 6-летнее наблюдение за почти 8 тысячами работников Забайкальской железной дороги показало развитие внезапной сердечной смерти у 15 респондентов, и в 80 % случаев её причиной была острая коронарная недостаточность. Также за 6 лет наблюдения зарегистрированы 22 случая острого коронарного синдрома с исходом в 21 случае в инфаркт миокарда и 70 случаев диагностики хронических форм ИБС [4].

Исходя из этого своевременное установление диагноза ИБС особенно важно у когорты лиц, обеспечивающих безопасность движения железнодорожного транспорта. Согласно отраслевому приказу Министерства транспорта России от 19.10.2020 № 428 «Об утверждении Порядка проведения обязательных предварительных (при поступлении на работу) и периодических (в течение трудовой деятельности) медицинских осмотров на железнодорожном транспорте», они проходят ежегодные профессиональные осмотры, включающие электрокардиографию в 12 общепринятых отведениях, холтеровское мониторирование (ХМ) электрокардиограммы (ЭКГ), пробу с физической нагрузкой (велоэргометрия, тредмил-тест), эхокардиографию (ЭхоКГ) с доплерографией. При выявлении безболевой ишемии миокарда либо аритмий высоких градаций данным работникам требуется проведение коронароангиографии (КАГ) для исключения ИБС.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести экспертную диагностику ишемической болезни сердца у работников железнодорожного транспорта первой профессиональной категории на Забайкальской железной дороге и сравнить клинико-инструментальные характеристики лиц с наличием и отсутствием стеноза коронарных артерий по данным коронароангиографии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на базе кардиологического отделения ЧУЗ «Клиническая больница “РЖД-медицина” г. Чита». Первый этап исследования, проведённый методом сплошной выборки, включал ЭКГ, ХМ ЭКГ и велоэргометрию. Данные обследования проведены у 250 работающих железнодорожников, обеспечивающих безопасность движения железнодорожного транспорта (машинисты, водители и их помощники). Если при нагрузочном тесте либо по данным суточного мониторирования ЭКГ выявлялось наличие желудочковых аритмий высоких градаций и/или неспецифические изменения конечной части желудочкового комплекса, не отвечающие критериям ИБС, пациенты включались во второй этап исследования, включающий КАГ. Для более углублённого исследования было отобрано 108 человек. Исследование соответствовало стандартам надлежащей клинической практики (GCP, good clinical practice) и принципам Хельсинкской декларации, одобрено локальным этическим комитетом при ФГБОУ ВО «Читин-

ская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 74 от 06.11.2015). Все участники подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения: мужской пол; принадлежность к первой профессиональной группе работников, обеспечивающих безопасность движения на железнодорожном транспорте; наличие аритмий высоких градаций и/или неспецифические изменения конечной части желудочкого комплекса, не отвечающие критериям ишемии миокарда. **Критерии исключения:** наличие ранее диагностированной ИБС; достоверные признаки болевой или безболевой ишемии миокарда при пробе с физической нагрузкой; сахарный диабет; женский пол; принадлежность к другой профессиональной группе.

Проводился тщательный сбор жалоб и анамнеза, включая наличие вредных привычек, наличие и длительность артериальной гипертензии (АГ); проведена оценка наследственной отягощённости по сердечно-сосудистым событиям в соответствии с рекомендациями по АГ [5]. Помимо этого, оценивались возраст, рост, вес с расчётом индекса массы тела (ИМТ), проводился биохимический анализ крови и оценивались данные липидного спектра.

Всем пациентам проведены ЭКГ на 12-канальном аппарате «Кардиотехника» (ООО «ТД «ИНКАРТ», Россия), ЭхоКГ (VIVID S5, США) – по методике Американского общества эхокардиографии (АОЭ) [6] и ХМ ЭКГ с исследованием показателей вариабельности сердечного ритма (комплекс «Кардиотехника-4000»; ООО «ТД «ИНКАРТ», Россия).

При проведении ЭКГ и ХМ ЭКГ анализировались число сердечных сокращений (ЧСС), наличие либо отсутствие нарушений ритма и проводимости, временной показатель вариабельности ритма сердца SDNN (standard deviation of normal heartbeat).

При проведении ЭхоКГ анализировались фракция выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) по методике Simpson; исследовали конечный диастолический размер (КДР) ЛЖ (мм); толщины межжелудочковой перегородки в диастолу (ТМЖПд, мм; норма < 11 мм); толщину задней стенки левого желудочка в диастолу (ТЗСЛЖд, мм; норма < 11 мм) [6]; массу миокарда (ММ) ЛЖ (г) определяли согласно Penn-convention по формуле: ММ ЛЖ = 1,04 × [(ТМЖПд + КДР ЛЖ + ТЗСЛЖд) • 3 – КДР3] – 13,6 (г). Индекс массы миокарда (ИММ) ЛЖ рассчитывали по формуле: ИММ ЛЖ = ММ ЛЖ/ППТ, где ППТ – площадь поверхности тела. Предварительно ППТ вычислялась по формуле: ППТ ($м^2$) = 0,007184 × Р • 0,725 + В • 0,425, где Р – рост; В – вес. За норму ИММ ЛЖ считали менее 115 /$м^2$ для мужчин [6]. Увеличение ТМЖПд, ТЗСЛЖд и ИММЛЖ (одного или нескольких из данных параметров) расценивалось как гипертрофия ЛЖ (ГЛЖ).

Диастолическую дисфункцию левого желудочка (ДД ЛЖ) определяли согласно рекомендациям АОЭ/Европейской ассоциации сердечно-сосудистой визуализации 2016 г. [7]: отношение E/Em > 14; скорость медиальной части фиброзного кольца митрального клапана Em < 7 см/с, латеральной части – Em < 10 см/с; индекс объёма левого предсердия > 34 мл/$м^2$; максимальная скорость трикуспидальной регургитации > 2,8 м/с. При выявлении трёх и более критериев диагностировали наличие ДД ЛЖ.

КАГ выполнена у всех включённых во 2-й этап исследования пациентов в отделении рентгенхирургических методов диагностики и лечения ЧУЗ «Клиническая больница “РЖД-медицина” г. Чита» на ангиографическом комплексе INNOVA IGS530 (GE Healthcare, США) 2017 г. выпуска со скоростью записи 15 кадров в секунду и размером фокусного поля не более 16–18 см, с использованием контрастного вещества йогексол (Омнипак) 350 мг/мл. При проведении КАГ оценивались наличие стенозов, тип кровотока, выявление поражённых сосудов. Анализировалось поражение магистральных КА: ствола левой (ЛКА) и правой (ПКА) коронарной артерии, передней межжелудочковой артерии (ПМЖА), огибающей артерии (ОА). Подсчитывалось количество поражённых артерий. Согласно коронарографической классификации, степень атеросклеротического стеноза определялась следующим образом: I степень – стеноз до 50 % площади просвета; II степень – стеноз от 50 до 75 %; III степень – стеноз от 75 до 90 %; IV степень – стеноз более 90 %. Сужение ствола ЛКА считали гемодинамически значимым при стенозе более 50 %, а для других магистральных КА – при стенозе более 70 %.

Статистический анализ проведён с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Вариационные ряды тестировались на нормальность, в случае асимметричного распределения признака данные представлены в виде медианы (Me) и 25-го; 75-го перцентилей; при нормальном распределении – в виде M ± σ. Для сравнения групп использовали критерии Манна – Уитни и Стьюдента соответственно. Корреляционный анализ выполнен посредством гамма-корреляции, учитывая то, что проводилось сравнение либо двух качественных, либо количественного и качественного признаков. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В рамках исследования показаниями к КАГ у лиц первой профессиональной группы были в 56,2 % случаев экстрасистолия 3–5-го класса, согласно классификации B. Lown и M. Wolf в модификации M. Ryan (1975); в 43,8 % – неспецифические изменения зубца Т преимущественно в виде инверсии и сегмента ST в виде депрессии до 2 мм; все отклонения фиксировались преимущественно при суточном мониторировании ЭКГ или велоэргометрии. Следует отметить, что среди лиц с желудочковыми аритмиями 6,6 % имели пробежки желудочковой тахикардии при ХМ ЭКГ.

При плановой КАГ у 57 (52,8 %) включённых в исследование установлены стенозы коронарных артерий, у 51 (47,2 %) человека данных, свидетельствующих о стенозе, не получено. Выраженность стеноза варьировала

от 10 до 100 %. Обструктивное поражение КА выявлено в 54,4 %; из числа этих пациентов в 24,6 % случаев имелось двухсосудистое и в 47,4 % случаев – многососудистое поражение КА.

По локализации преобладал стеноз передней нисходящей артерии в дистальной трети (ПНА д/3), выявленный в 93 % случаев, а также ПКА в проксимальной и дистальной трети (ПКА п/3 и ПКА д/3 соответственно) – в 78,9 % и 80,7 % случаев соответственно. Реже встречались поражения средней трети правой коронарной артерии (ПКА с/3), средней и проксимальной трети ПНА (ПНА с/3 и ПНА п/3 соответственно); данные представлены на рисунке 1.

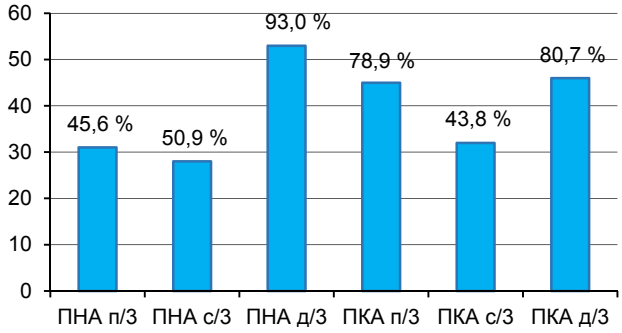


РИС. 1.
Локализация стенозов коронарных артерий
FIG. 1.
Localization of the coronary arteries stenoses

По результатам КАГ выделены группы со стенозами (группа 1) и без стенозов (группа 2) коронарных артерий. Проведено сравнение клинических параметров в данных группах; данные представлены в таблице 1.

Группы пациентов с наличием и отсутствием стенозов не различались по возрасту, ИМТ, ЧСС, наличию анамнеза АГ и курения, особенностям аритмий высоких градаций и изменений конечной части желудочкого комплекса. Вместе с тем длительность АГ в группе 1 была в 2 раза дольше, чем в группе 2, и составила 8,0 [1,0; 10,0] против 4,0 [0,5; 7,0] лет ($p = 0,0036$). Выраженность таких субъективных клинических проявлений, как сердцебиения, головные боли, чувство перебоев в работе сердца, кардиалгии, в группах была одинаковой. Следует отметить, что кардиалгии соответствовали характеристике неангинозной боли. Пациенты опрашивались на наличие стенокардических болей; жалоб ни на типичные, ни на атипичные стенокардитические боли ни один из обследованных не предъявлял. Известно, что лица первой профессиональной категории часто скрывают данный симптом, в связи с этим оценка предтестовой вероятности была затруднительна [1]. В группе с наличием стеноза 24 (42,1 %) человека предъявляли жалобу на одышку, связанную с физической нагрузкой средней интенсивности, расценённую как эквивалент стенокардии, в группе 2 – 2 (4 %) человека ($p = 0,001$).

При оценке липидограммы следует отметить, что основные показатели у большинства пациентов были в пределах нормы или несколько повышены. В обследованных группах не выявлено различий в уровне холестерина липопротеидов низкой плотности и липопротеидов высокой плотности, триглицеридов, индекса атерогенности. Однако у пациентов с наличием стеноза холестерин был выше и составил 5,40 ± 1,31 ммоль/л по сравнению с группой лиц без стеноза (4,92 ± 1,15 ммоль/л; $p = 0,0054$). Сывороточные уровни креатинина, глюкозы и скорость клубочковой фильтрации у пациентов были в пределах физиологических значений и в группах не различались.

При анализе основных показателей эхокардиографии, представленных в таблице 2, пациенты не различа-

ТАБЛИЦА 1
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

TABLE 1
CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Показатели	Группа 1 ($n = 57$)	Группа 2 ($n = 51$)	p
Возраст (годы), M ± σ	52,6 ± 7,5	48,9 ± 6,5	0,07
ИМТ (кг/м^2), M ± σ	29,4 ± 5,1	29,01 ± 4,4	0,64
Артериальная гипертензия, *n*/%	47/82,5 %	37/72,5 %	0,217
Длительность АГ (годы), Me [25-й; 75-й перцентили]	8,0 [1,0; 10,0]	4,0 [0,5; 7,0]	0,0036
Курение, *n*/%	27/47,4 %	24/47,1 %	0,117
ЧСС (уд/мин), M ± σ	72,6 ± 14,4	70,9 ± 14,7	0,6
Сердцебиения, *n*/%	10/17,5 %	13/25,5 %	0,315
Перебои в работе сердца, *n*/%	17/29,8 %	22/43,1 %	0,151
Головные боли, *n*/%	39/68,4 %	33/64,7 %	0,683
Одышка, *n*/%	24/42,1 %	2/4 %	0,001
Кардиалгии, *n*/%	25/43,9 %	14/27,45 %	0,08

ТАБЛИЦА 2
ОСНОВНЫЕ ЭХОКАРДИОГРАФИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

TABLE 2
MAIN ECHOCARDIOGRAPHIC PARAMETERS

Показатели	Группа 1 (n = 57)	Группа 2 (n = 51)	p
ФВ ЛЖ (%), M ± σ	65,5 ± 6,7	68,6 ± 7,3	0,06
ИММ ЛЖ (г/м^2), M ± σ	121,17 ± 26,65	102,22 ± 19,36	0,0012
ММ ЛЖ (г), M ± σ	220,4 ± 63,7	211,7 ± 47,3	0,47
ДД ЛЖ, n/%	22/38,6 %	11/21,57 %	0,65
ТЗСЛЖд (мм), M ± σ	12,0 ± 1,64	11,9 ± 2,7	0,7
ТМЖПд (мм), M ± σ	11,4 ± 1,7	11,2 ± 2	0,65
ГЛЖ, n/%	36/63,2 %	24/47,1 %	0, 061

лись по ФВ ЛЖ, ММ ЛЖ, ТЗСЛЖд, ТМЖПд, а также по наличию диастолической дисфункции и гипертрофии ЛЖ. Однако ИММ ЛЖ у пациентов с наличием стеноза превышал на 18,6 % данный показатель в группе без стеноза (p = 0,0012).

Анализ временных показателей вариабельности ритма сердца, проведённый при ХМ ЭКГ, выявил снижение SDNN в группе 1, где данный интегральный показатель баланса вегетативной нервной системы составил 103,31 ± 31,34 мс, в группе 2 SDNN составил 134,0 ± 48,21 мс (p = 0,0019).

Нами была проведена оценка взаимосвязей между наличием стеноза и рядом количественных и качественных параметров. Выявлена положительная связь средней силы со стажем АГ (γ = 0,37; p = 0,00017), наличием диастолической дисфункции ЛЖ (γ = 0,58; p = 0,001), гипертрофией левого желудочка (γ = 0,35; p = 0,009), ИММ ЛЖ (γ = 0,40; p = 0,0001); сильная связь – с наличием одышки (γ = 0,89; p = 0,000001). При наличии стеноза выявлялись отрицательные корреляционные связи с SDNN (γ = –0,37; p = 0,0001) и ФВ ЛЖ (γ = –0,3; p = 0,027).

ОБСУЖДЕНИЕ

Несвоевременная диагностика ИБС ведёт к развитию инфаркта миокарда и внезапной сердечной смерти [8], прогрессированию сердечной недостаточности. Общеизвестно, что пилоты самолётов, водители грузовиков, автобусов и другие лица, чья профессия связана с общественной безопасностью, как правило, подвергаются оценке факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, особенно ИБС [9]. Это в полной мере относится и к работникам железнодорожного транспорта первой профессиональной группы, обеспечивающим безопасность движения поездов. Их медицинское освидетельствование регламентировано отраслевыми приказами, они проходят предрейсовые и периодические медицинские осмотры. Лица, непосредственно обеспечивающие безопасность движения (машинисты, помощники машинистов, монтёры пути и т. д.), проходят расширенные медицинские осмотры ежегодно, в перечень исследований включают ЭКГ, ЭхоКГ, ХМ ЭКГ и нагрузочные пробы. При выявлении нарушений ритма сердца, изменений сегмента ST и другой патологии данные лица признаются временно профессионально непригодными и направляются на дополнительное обследование в стационар.

Согласно современным представлениям, в общей популяции проводится оценка предтестовой вероятности ИБС. В нашем исследовании этот метод не показал своей информативности в связи с умолчанием обследуемыми о наличии болевых эквивалентов стенокардии. Данные литературы также свидетельствуют о преимуществах инструментальной диагностики [10]. Вместе с тем проведённое нами исследование показало более высокую частоту одышки у лиц со стенозом коронарных артерий, что свидетельствует как о необходимости проведённого дообследования, так и о наличии коронарной болезни сердца. Можно предположить, что данный симптом работники первой профессиональной категории не оценивали как угрожающий их профпригодности и не скрывали.

Наличие ЭКГ-изменений, свидетельствующих о нарушении процессов реполяризации и/или желудочковой экстрасистолии высоких градаций, в сочетании с двумя и более факторами риска развития ИБС (дислипидемия, курение, АГ, уровень гликированного гемоглобина выше 7 %) у лиц, обеспечивающих безопасность движения на железнодорожном транспорте, согласно ведомственному приказу № 4851/ЦУВС от 08.12.2014, является основанием для проведения КАГ с целью верификации ИБС. Наличие экстрасистолии высоких градаций и неспецифических изменений сегмента ST в общей популяции не является общепринятым показанием к КАГ, однако в рамках дифференциальной диагностики ИБС у лиц первой профессиональной группы данное исследование представляется необходимым. Так, у 52,8 % обследованных нами пациентов, которым проведена КАГ по данному показанию, диагностированы стенозы коронарных артерий, у части пациентов выявлялись двух- и многососудистые поражения. При этом у всех обследованных отсутствовала клиника ИБС, либо они её скрывали, поэтому необходимо было проведение экспертизы профессиональной пригодности.

КАГ является одним из общепринятых методов диагностики ИБС у пациентов, обеспечивающих безопасность движения на железнодорожном транспорте, однако с развитием рентгенэндоваскулярной хирургии стало очевидным, что при её выполнении ангиографические данные бывают пере- и недооценены, могут быть пограничные поражения коронарных артерий. Эту проблему в определённой мере может решить проведение перфузионной сцинтиграфии [11] либо внутрисосудистого ультразвукового исследования [12], однако в реальной клинической практике данные методы не всегда доступны.

В нашем исследовании при выявлении стеноза коронарной артерии 50 % и более для оценки его функциональной значимости и показаний для оперативного лечения пациент направлялся на стресс-ЭхоКГ (методом чрезпищеводной электрической стимуляции предсердий). Если по результатам данного исследования подтверждалась коронарная недостаточность, пациенту проводилось стентирование КА. В дальнейшем пациент направлялся на региональную или центральную экспертную комиссию, где решался вопрос о профпригодности. В 73 % случаев пациенты возвращались к своей работе, признавались профессионально пригодными с определёнными ограничениями. Главными условиями являлись строгое диспансерное наблюдение, приём препаратов, прохождение медицинского осмотра 1 раз в 6 месяцев. За исследуемый период смертельных исходов среди изучаемой группы не зафиксировано.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У железнодорожников первой профессиональной категории с наличием желудочковых аритмий высоких градаций либо неспецифических изменений сегмента ST более чем в половине случаев при КАГ выявлены стенозы коронарного русла. Выраженность стеноза варьировала от 10 до 100 %: стенозы просвета сосуда 50 % и более установлены в 54,4 % случаев; в 24,6 % имелось двухсосудистое поражение, в 47,4 % – многососудистое поражение коронарных артерий. Пациенты с выявленным стенозом КА имели повышение общего холестерина и индекса массы миокарда левого желудочка и снижение показателя SDNN по сравнению с пациентами без стеноза. Наблюдалась связь наличия стеноза КА с жалобами на одышку при физической нагрузке, с наличием и стажем АГ, с гипертрофией и диастолической дисфункцией ЛЖ.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Российское кардиологическое общество (РКО). Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал.* 2020; 25(11): 4076. [Russian Society of Cardiology (RSC). 2020 clinical practice guidelines for stable coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology.* 2020; 25(11): 4076. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-4076

2. Лупанов В.П. Современная стратегия, тактика ведения и прогноз пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2016; 15(1): 77-83. [Lupanov VP. Modern strategy, management and outcomes for stable ischemic heart disease patients. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2016; 15(1): 77-83. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1728-8800-2016-1-77-83

3. Николаевский Е.Н. Здоровьесбережение работников железнодорожного транспорта с факторами риска атеросклероза. *Символ науки.* 2016; 2(3): 168-169. [Nikolaevsky EN. Health preservation of railway workers with risk factors for atherosclerosis. *Symbol of Science.* 2016; 2(3): 168-169. (In Russ.)].

4. Лазуткина А.Н, Горбунов В.В. Прогностическая значимость факторов сердечно-сосудистого риска, поражений органов-мишеней для возникновения внезапной сердечной смерти, острого коронарного синдрома и ишемической болезни сердца у работников локомотивных бригад на Забайкальской железной дороге. *Терапевтический архив.* 2015; 87(4): 19-23. [Lazutkina AY, Gorbunov VV. Prognostic value of risk factors for cardiovascular diseases and target organ damages for the occurrence of resistant hypertension. *Terapevticheskii arkhiv*. 2015; 87(4): 19-23. (In Russ.)]. doi: 10.17116/terarkh201587419-23

5. Рабочая группа по лечению артериальной гипертензии Европейского общества кардиологов (ЕОК, ESC) и Европейского общества по артериальной гипертензии (ЕОАГ, ESH). 2018 ЕОК/ЕОАГ Рекомендации по лечению больных с артериальной гипертензией. *Российский кардиологический журнал.* 2018; (12): 143-228. [The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Russian Journal of Cardiology.* 2018; (12): 143-228. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2018-12-143-228

6. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, Flachskampf FA, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: An update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2015; 16(3): 233-270. doi: 10.1093/ehjci/jev014

7. Nagueh SF, Smiseth OA, Appleton CP, Byrd BF 3rd, Dokainish H, Edvardsen T, et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography: An update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr.* 2016; 29(4): 277-314. doi: 10.1016/j.echo.2016.01.011

8. Зайцев Д.Н., Василенко П.В., Говорин А.В. Внезапная сердечная смерть: эпидемиология, этиология, профилактика. *Забайкальский медицинский вестник.* 2018; (2): 83-90. [Zaitsev DN, Vasilenko PV, Govorin AV. Sudden cardiac death: Epidemiology, etiology, prevention. *Transbaikalian Medical Bulletin.* 2018; (2): 83-90. (In Russ.)].

9. Рабочая группа Европейского кардиологического общества по диагностике и лечению хронических коронарных синдромов. 2019 Рекомендации ESC по диагностике и лечению хронического коронарного синдрома. *Российский кардиологи-*

ческий журнал. 2020; 25(2): 3757. [The Task Force for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(2): 3757. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-2-3757

10. Чепурненко С.А., Насытко А.Д., Шавкута Г.В., Костенко В.Л. Результаты компьютерной томографической коронарографии в сопоставлении с таблицей предтестовой вероятности хронического коронарного синдрома. *Кардиология*. 2021; 61(3): 30-35. [Chepurnenko SA, Nasytko AD, Shavkuta GV, Kostenko VL. Results of computed tomographic coronary angiography in comparison with the table of pretest probability of chronic coronary syndrome. *Kardiologiia*. 2021; 61(3): 30-35. (In Russ.)]. doi: 10.18087/cardio.2021.3.n1267

11. Мочула А.В., Мальцева А.Н., Шипулин В.В., Завадовский К.В. Оценка миокардиального кровотока и резерва – физиологические основы и клиническое значение перфузионной сцинтиграфии в обследовании пациентов с хроническим коронарным синдромом. *Российский кардиологический журнал*. 2020; 25(2): 3649. [Mochula AV, Maltseva AN, Shipulin VV, Zavadovsky KV. Evaluation of myocardial blood flow and coronary flow reserve – the physiological foundation and clinical significance of myocardial perfusion scintigraphy in the examination of patients with chronic coronary syndrome. *Russian Journal of Cardiology*. 2020; 25(2): 3649. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-2-3649

12. Прищеп О.А., Максимкин Д.А., Шугушев З.Х. Роль внутрисосудистых методов исследования в верификации диагноза ИБС у работников ОАО «Российские железные дороги», связанных с безопасностью движения поездов. *Вестник РУДН. Серия: Медицина*. 2017; 21(2): 246-258. [Prishchep OA, Maksimkin DA, Shugushev ZK. The role of intravascular methods of research to verify the diagnosis of coronary heart disease in workers of JSC "Russian Railways" related to the safety of train traffic. *RUDN Journal of Medicine*. 2017; 21(2): 246-258. (In Russ.)]. doi: 10.22363/2313-0245-2017-21-2-246-258

Сведения об авторах

Аксенова Татьяна Александровна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: tatianaks@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4957-5908

Беломестнова Ксения Эдуардовна – ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: immundus@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7208-4942

Ляпунова Анастасия Константиновна – студентка 6-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: lyapunovaa_a@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8282-1766

Озорнина Вероника Александровна – студентка 6-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: veronozor@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-7078-9252

Горбунов Владимир Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: gorbunovvv2008@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7352-6618

Царенок Светлана Юрьевна – доктор медицинских наук, доцент, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: sveta-tsarenok@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7065-5737

Ильямакова Наталья Александровна – кандидат медицинских наук, главный врач, ЧУЗ «Клиническая больница "РЖД-медицина" г. Чита», e-mail: iljamakovy@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-3960-631X

Сулейманова Анна Юрьевна – врач-кардиолог отделения кардиологии, ЧУЗ «Клиническая больница "РЖД-медицина" г. Чита», e-mail: anna1.sulejmanova@mail.ru

Щербак Владимир Александрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой педиатрии факультета дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: shcherbak2001@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2032-7612

Information about the authors

Tatiana A. Aksenova – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Internal Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: tatianaks@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4957-5908

Kseniya E. Belomestnova – Teaching Assistant at the Department of Internal Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: immundus@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7208-4942

Anastasia K. Lyapunova – sixth-year student at the Faculty of Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: lyapunovaa_a@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8282-1766

Veronika A. Ozornina – sixth-year student at the Faculty of Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: veronozor@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-7078-9252

Vladimir V. Gorbunov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Internal Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: gorbunovvv2008@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7352-6618

Svetlana Yu. Tsarenok – Dr. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Internal Medicine, Chita State Medical Academy, e-mail: sveta-tsarenok@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7065-5737

Natalia A. Iliamakova – Cand. Sc. (Med.), Chief Medical Officer, Clinical Hospital of RZD-Medicine in Chita, e-mail: iljamakovy@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-3960-631X

Anna Yu. Suleymanova – Cardiologist at the Department of Cardiology, Clinical Hospital of RZD-Medicine in Chita, e-mail: anna1.sulejmanova@mail.ru

Vladimir A. Shcherbak – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pediatrics, Faculty of Additional Professional Education, Chita State Medical Academy, e-mail: shcherbak2001@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2032-7612

КАРДИОЭМБОЛИЧЕСКИЙ ВИСЦЕРАЛЬНЫЙ ИНФАРКТ

Отдельнов Л.А. [1, 2],
Птушко С.С. [1],
Уланова Н.Д. [1, 2]

[1] ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России (603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Россия)
[2] ГБУЗ Нижегородской области «Городская клиническая больница № 13 Автозаводского района г. Нижнего Новгорода» (603018, г. Нижний Новгород, ул. Патриотов, 51, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Отдельнов Леонид Александрович,
e-mail: leonotdelnov@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

На основании анализа публикаций последних десяти лет в статье рассматривается проблема инфарктов почек и селезёнки, возникающих в результате острых эмболий висцеральных артерий, как одной из потенциальных причин болей в животе у пациентов с фибрилляцией предсердий. Показано, что именно фибрилляция предсердий является основным этиологическим фактором висцеральных эмболий. Обобщены результаты серий наблюдений висцерального инфаркта, что в условиях редкости данной патологии позволяет сформировать цельное представление о ней. Авторы подчёркивают междисциплинарный характер данной проблемы, акцентируя внимание на том, что с ней могут столкнуться специалисты различных медицинских направлений, включая хирургов, кардиологов и неврологов. Клинические проявления висцерального инфаркта описываются как весьма вариабельные и неспецифичные, с наиболее частым проявлением болевого синдрома, лабораторных маркеров воспаления, а также повышения уровня лактатдегидрогеназы и D-димера. Авторы подчёркивают значимость высокоразрешающих методов лучевой диагностики, таких как компьютерная томография с внутривенным контрастированием и магнитно-резонансная томография, для уточнения диагноза. Особое внимание уделяется необходимости ранней диагностики для возможности реваскуляризации и сохранения функции поражённого органа, в то время как при поздней диагностике акцент делается на профилактике повторных кардиоэмболий и симптоматическом лечении. В анализированных источниках литературы отсутствовали сведения о развитии осложнений висцерального инфаркта, которые бы потребовали выполнения оперативного лечения. Анализ поздних исходов инфаркта почки показал развитие хронической почечной недостаточности и злокачественной артериальной гипертензии у половины больных. Сообщений о развитии каких-либо осложнений и летальности, связанной непосредственно с инфарктом селезёнки, в литературе не встретилось. Статья также затрагивает вопросы прогнозирования, эффективной профилактики и лечения кардиоэмболических висцеральных инфарктов, подчёркивая необходимость дальнейших исследований в этой области.

Ключевые слова: *кардиоэмболия, эмболии висцеральных артерий, висцеральный инфаркт, инфаркт почки, инфаркт селезёнки, боли в животе, фибрилляция предсердий*

Статья поступила: 19.03.2024
Статья принята: 04.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Отдельнов Л.А., Птушко С.С., Уланова Н.Д. Кардиоэмболический висцеральный инфаркт. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 93-102. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.10

CARDIOEMBOLIC VISCERAL INFARCTION

Otdelnov L.A. [1, 2],
Ptushko S.S. [1],
Ulanova N.D. [1, 2]

[1] Privolzhsky Research Medical University (Minin and Pozharsky square 1/10, Nizhny Novgorod 603000, Russian Federation)
[2] Nizhny Novgorod City Clinical Hospital No. 13 of Avtozavodsky District (Patriotov str. 51, Nizhny Novgorod 603018, Russian Federation)

Corresponding author:
Leonid A. Otdelnov,
e-mail: leonotdelnov@yandex.ru

ABSTRACT

Based on the analysis of publications of the last ten years this article discusses the problem of renal and splenic infarcts resulting from acute visceral artery emboli as one of the potential causes of abdominal pain in patients with atrial fibrillation. It has been shown that atrial fibrillation is the main etiological factor of visceral embolisms. The results of a series of observations of visceral infarction are summarized, which, given the rarity of this pathology, allows us to form a complete picture of this pathology. The authors emphasize the interdisciplinary nature of this problem, focusing on the fact that it may be encountered by specialists from different medical fields – surgeons, cardiologists, and neurologists. The clinical manifestations of visceral infarction are described as highly variable and nonspecific, with pain, laboratory markers of inflammation, and elevation of lactate dehydrogenase and D-dimer levels being the most common. The authors emphasize the importance of high-resolution methods of radiation diagnostics, such as computed tomography with intravenous contrast and magnetic resonance imaging, to clarify the diagnosis. Particular attention is paid to the need for early diagnosis to enable revascularization and preservation of the function of the affected organ, while late diagnosis emphasizes the prevention of recurrent cardioemboli and symptomatic treatment. The analyzed literature sources did not contain information about the development of complications of visceral infarction which would require surgical treatment. The analysis of the late outcomes of renal infarction showed the development of chronic renal failure and malignant arterial hypertension in half of the patients. There have been no reports of the development of any complications and mortality directly related to spleen infarction in the analyzed articles. The article also addresses the issues of prognosis, effective prevention and treatment of cardioembolic visceral infarcts, emphasizing the need for further research in this area.

Key words: *cardioembolism, visceral artery emboli, visceral infarct, renal infarction, splenic infarction, abdominal pain, atrial fibrillation*

Received: 19.03.2024
Accepted: 04.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Otdelnov L.A., Ptushko S.S., Ulanova N.D. Cardioembolic visceral infarction. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 93-102. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.10

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

Фибрилляция предсердий (ФП) является самым распространённым и устойчивым нарушением ритма сердца в клинической практике врача как в нашей стране, так и во всём мире, рассматривается как предиктор кардиоэмболических осложнений и ассоциируется с пятикратным увеличением риска ишемического инсульта [1], практически трёхкратным возрастанием шансов развития сердечной недостаточности и двукратным увеличением риска внезапной смерти [2, 3]. Распространённость ФП среди населения Европейской части России составляет около 2,04 % с тенденцией к увеличению с возрастом. Среди пациентов до 40 лет она составляет 0,1 %, а в возрастной группе 80–90 лет достигает уже 9,6 %. Основную часть (82,9 %) всех больных ФП составляют люди в возрасте от 60 до 89 лет [4]. Прослеживается тенденция к росту заболеваемости ФП: в ближайшие 50 лет в странах Европейского союза ожидается практически двукратное увеличение количества пациентов с данной патологией [5, 6].

Существенной проблемой для больных с ФП являются осложнения кардиоэмболического происхождения – ишемический инсульт и другие системные эмболии. Это связано с формированием тромботических масс в ушке либо основной полости левого предсердия. Более 90 % кардиоэмболических осложнений приходится на ишемический инсульт, который в данном случае отличается худшим прогнозом, высокой смертностью и развитием стойкой инвалидизации [7]. Реже встречаются острые эмболии магистральных сосудов конечностей, органов брюшной полости и забрюшинного пространства. И если диагностика первых не вызывает трудностей, то установление диагноза висцерального инфаркта является достаточно сложным. Учитывая тот факт, что висцеральный инфаркт проявляется преимущественно абдоминальным болевым синдромом, эти пациенты в первую очередь оказываются в поле зрения хирургов [8]. Хирургам хорошо известны клиника, диагностика и тактика лечения острой мезентериальной ишемии, но, кроме эмболии брыжеечных сосудов, возможно поражение и других артериальных бассейнов в т. ч. ветвей чревного ствола и почечных артерий с развитием инфаркта почки (ИП) и инфаркта селезёнки (ИС). Установить их истинную распространённость не представляется возможным, ввиду того что диагностика данных состояний затруднена отсутствием не только патогномоничной, но и сколько-либо постоянной симптоматики. Ввиду редкой встречаемости врачи разного профиля недостаточно осведомлены о возможности таких осложнений и, а потому эти состояния нередко становятся случайными находками при проведении компьютерной томографии (КТ) [9]. По настоящий день отсутствует общее понимание стратегии лечения висцерального инфаркта. Предлагаются подчас полярные лечебные подходы – от симптоматической терапии до выполнения органоуносящих операций [10, 11].

В общей структуре экстренных обращений на долю висцерального инфаркта приходится всего около 0,004–0,01 % [12]. Однако ввиду того, что часто эти состояния диагностируются несвоевременно или не диагностируются вовсе, их истинная распространённость представляется более высокой. Это подтверждают результаты патологоанатомических исследований, по данным которых ИП обнаруживается уже в 1,4 % случаев [13]. В структуре кардиоэмболического висцерального инфаркта преобладает поражение почек, на долю которого приходится до 20–40 % [14]. Данная патология встречается одинаково часто у мужчин и женщин с одинаковой частотой поражения правой и левой почки [15].

Таким образом, опыт отдельных врачей включает единичные наблюдения висцерального инфаркта, не позволяющие делать объективных выводов. С целью систематизации данных об этих относительно редких осложнениях предпринято настоящее исследование. Произведён обзор отечественной и зарубежной литературы последних десяти лет по материалам баз данных eLibrary и PubMed. Литературные источники отбирались по запросам: «инфаркт почки», «инфаркт селезёнки», «splenic infarction», «renal infarction», «visceral infarction». Изучались статьи, в которых проанализированы случаи кардиогенных инфарктов почек и селезёнки.

В доступной медицинской литературе последних десяти лет имеется ряд ретроспективных исследований, обобщивших опыт серий клинических наблюдений инфаркта почек и селезёнки. Анализ 38 случаев ИП за десятилетний период в одной из университетских клиник Израиля приводят M. Antopolsky и соавт. (2012) [16]. A.L. Faucon и соавт. в 2018 г. опубликовали анализ 186 наблюдений [13], а в 2016 г. Y.K. Oh и соавт. обобщили опыт лечения 438 больных с ИП в 9 госпиталях Южной Кореи [17]. В 2018 г. O. Wand и соавт. опубликовали анализ 89 случаев ИС [11]. Опыт наблюдений 59 случаев ИП приводит в 2019 г. коллектив авторов из Испании под руководством A. García-García [18], а в 2020 г. E. Weber и соавт. представили результаты наблюдений 34 пациентов с ИП и 104 пациентов с ИС [12]. Исходы и отдалённые результаты лечения 94 больных с ИП приведены в исследовании A. Delezire и соавт. (2021) [19].

ЭТИОЛОГИЯ ВИСЦЕРАЛЬНОГО ИНФАРКТА

Основными этиологическими факторами ИС считаются кардиоэмболия (на фоне ФП, эндокардита, открытого овального окна и перенесённого протезирования сердечных клапанов) и лимфопролиферативные заболевания (лейкемия, лимфома). Кардиоэмболические инфаркты чаще встречаются у пациентов старше 40 лет, тогда как у более молодых преобладают гематологические причины [10, 20]. По наблюдениям 89 случаев ИС, опубликованным O. Wand и соавт. (2018), причинами инфаркта

в 54,4 % случаев явилась кардиоэмболия, в 20 % – сосудистая патология и только в 15,6 % – гематологические заболевания [11].

Кардиоэмболический генез также является превалирующим в этиологии ИП: на его долю приходится до 95 % всех случаев [21]. Следующая по распространённости причина – первичное поражение почечных артерий вследствие атеросклероза, диссекции её стенки и расслаивающей аневризмы аорты [13]. Тромбоз почечных артерий занимает пятое место среди всех тромбозов, а их эмболия – второе место после тромбоэмболии лёгочной артерии [15]. В исследовании Y.K. Oh и соавт. из 438 больных с ИП 55,7 % имели кардиоэмболический инфаркт и лишь 7,5 % – инфаркт, связанный с первичным повреждением почечных артерий, в 30,1 % случаев этиологию установить не удалось [17]. По результатам анализа 59 случаев ИП A. García-García и соавт. отмечают ФП в качестве превалирующей причины – в 49,2 % наблюдений [18]. Этим данным противоречат результаты исследования A.L. Faucon и соавт.: среди 186 больных с ИП авторы обнаружили эмболию лишь в 9,1 % случаев. Ведущей же причиной признано первичное поражение почечных артерий в виде диссекции, выявленное у 81,2 % пациентов [13]. По данным исследования E. Weber и соавт., в которое вошли больные как с ИП, так и с ИС, у первых чаще выявлялась ФП (47,1 % и 12,5 % соответственно) и регистрировались случаи ишемического инсульта (23,5 % и 6,7 % соответственно) [12].

ДИАГНОСТИКА

Диагностика висцерального инфаркта представляется трудной задачей по причине отсутствия специфической клинической картины [14]. В этой связи абсолютное большинство публикаций сосредоточены в первую очередь на анализе клинических проявлений инфаркта.

Проявляясь прежде всего болевым синдромом, инфаркты почек и селезёнки могут протекать под масками почечной колики, пиелонефрита, расслаивающей аневризмы аорты, острого панкреатита и других заболеваний [16]. Болевой синдром различной локализации при ИП встречается с частотой 86–89,3 % [12, 16]. При ИС боли в животе, его латеральных областях и в грудной клетке встречаются с частотой 82,2, 18,9 и 7,8 % соответственно [11]. По наблюдениям других авторов, боли имели лишь 59,5 % больных с ИС, при том, что у 40,5 % болевой синдром вовсе отсутствовал [12].

Кроме болевого синдрома, пациенты могут отмечать тошноту, рвоту, повышение температуры тела до субфебрильных значений, однако данные симптомы непостоянны и далеко не специфичны [15]. Лихорадка, тошнота и рвота при висцеральном инфаркте встречаются, соответственно, с частотой 16 % и 42 % [12, 16].

В ряде случаев висцеральный инфаркт может протекать субклинически [22].

При лабораторном исследовании у больных могут определяться маркеры воспаления [9]. Лейкоцитоз наблюдается в 68 %, а высокие уровни С-реактивного белка (СРБ) регистрируются у 95–97 % больных [11, 12]. Более чувствительным лабораторным маркером представляется лактатдегидрогеназа (ЛДГ). При ИС повышение уровня ЛДГ наблюдается в 72–78 % [11, 12], а при ИП – с частотой 70–90 % [16, 23]. E. Weber и соавт. регистрировали высокие уровни ЛДГ у всех 34 пациентов с ИП [12].

Учитывая тромбоэмболический генез висцерального инфаркта, у больных может регистрироваться повышенный уровень D-димера. O. Wand и соавт. наблюдали высокие уровни D-димера у всех пациентов с ИС [11]. Однако ценность этого лабораторного маркера в ургентной диагностике не представляется существенной. Являясь продуктом деградации фибрина, D-димер свидетельствует лишь о наличии тромба. Соответственно, у больных с ФП и наличием тромба в левом предсердии увеличение концентрации D-димера представляется весьма вероятным [24].

Трансаминазы (аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза) обладают весьма низкой специфичностью и чувствительностью в диагностике висцерального инфаркта. Незначительное превышение референсных интервалов наблюдается менее чем у половины пациентов [16, 25].

При ИП в общем анализе мочи могут отмечаться гематурия (50 %) и протеинурия (36 %) [16].

При ультразвуковом (УЗ) сканировании в чёрно-белом режиме ИС может определяться в виде гипоэхогенных участков, расположенных, как правило, ближе к периферии органа у капсулы (рис. 1). Они начинают быть отличимыми от живой паренхимы лишь спустя 24–48 часов после прекращения кровотока. В режиме цветового допплеровского картирования (ЦДК) определяются лишённые кровотока участки, также возможна диагностика окклюзии селезёночной артерии и вены. Указанные находки необходимо дифференцировать прежде всего с гематомой и разрывом селезёнки, поскольку на определённых стадиях они практически неотличимы от инфаркта. Крайне важное значение здесь имеет анамнез травмы [10].

УЗ-диагностика ИП характеризуется исчезновением кортико-медуллярной дифференцировки в зонах некроза, которые могут выглядеть как гипо-, так и гиперэхогенными в зависимости от давности инфаркта. В режиме ЦДК определяется локальное или полное отсутствие кровотока в поражённой паренхиме [10]. Тем не менее, диагностическая ценность УЗИ в выявлении острого висцерального инфаркта невысока. При ИП, по данным N. Hazanov и соавт., исследование было информативно лишь в 11 % наблюдений, а по данным И.Э. Мамаева – ни в одном из 12 случаев [8, 26].

Более информативным методом инструментальной диагностики является КТ, чувствительность и специфичность которой достигает 100 %. Это позволяет считать метод «золотым стандартом» диагностики [16, 27]. Во всех рассмотренных публикациях диагноз висцерального инфаркта устанавливался именно на основа-

нии КТ. Лучевой семиотикой инфаркта являются клиновидные участки гипоперфузии различной протяжённости либо полное отсутствие контрастирования органа при тотальном поражении (рис. 2–4) [27].



РИС. 1.
Ультразвуковое исследование пациентки с кардиоэмболическим инфарктом селезёнки: у периферии селезёнки определяется участок пониженной эхогенности с неровными контурами и неоднородной эхоструктурой
FIG. 1.
Ultrasound of a patient with cardioembolic splenic infarction: an area of reduced echogenicity with uneven contours and heterogeneous echostructure is determined at the periphery of the spleen

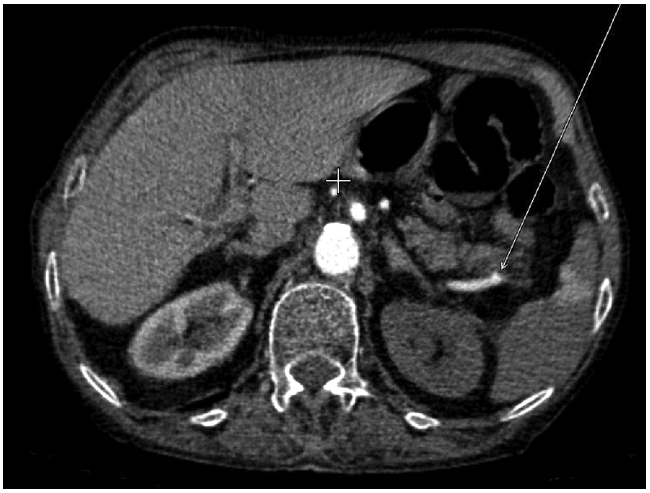


РИС. 2.
КТ брюшной полости больной с фибрилляцией предсердий, артериальная фаза контрастирования: отсутствие контрастирования левой почки и селезёнки; отмечается обрыв контраста в селезёночной артерии
FIG. 2.
CT scan of the abdominal cavity of a patient with atrial fibrillation, arterial enhancement: no contrast of the left kidney and spleen; a break in contrast is noted in the splenic artery



РИС. 3.
КТ брюшной полости, венозная фаза контрастирования: определяется зона инфаркта в селезёнке, не накапливающая контраст
FIG. 3.
CT scan of the abdominal cavity, venous enhancement: an infarction zone in the spleen, which does not accumulate contrast, is determined



РИС. 4.
КТ брюшной полости, артериальная фаза контрастирования: левая почка накапливает контраст лишь в нижнем полюсе, что соответствует субтотальному инфаркту
FIG. 4.
CT scan of the abdominal cavity, arterial enhancement: left kidney accumulates contrast only in the lower pole, which corresponds to subtotal infarction

В эволюции ИП на фоне присоединения инфекции рентгенологическая картина может меняться и напоминать таковую при остром пиелонефрите и опухо-

ли [16]. Учитывая сложность дифференциальной диагностики в ситуациях, когда результаты нативного КТ-исследования не могут объяснить причину болевого синдрома, следует рассмотреть возможность контрастного усиления.

В зависимости от доли органа, не накапливающей контраст, выделяют три группы распространённости инфаркта: 1) поражение объёмом менее трети органа; 2) 1/3–2/3 органа; 3) более 2/3 [12]. Наглядно оценить объём инфаркта, а также проследить динамику на фоне лечения позволяет трёхмерная реконструкция изображения [8]. Анализируя распространённость ИП у 38 больных, M. Antopolsky и соавт. приводят данные о том, что единичный участок инфаркта был выявлен у 55 % (в 34 % случаев он был локализован в нижнем полюсе), множественные участки – у 37 %, и лишь в 8 % имело место тотальное поражение. Инфаркт обеих почек диагностирован у 16 % пациентов, а у 34 % он сочетался с ИС (почти все эти пациенты страдали ФП) [16].

Другим информативным методом инструментальной диагностики является магнитно-резонансная томография (МРТ). Ряд авторов предлагают рассматривать её в качестве метода выбора, поскольку, во-первых, она позволяет дифференцировать острый инфаркт от хронического, а во-вторых, – не связана с повреждающим, нефротоксическим действием контраста [14].

ЛЕЧЕНИЕ

Ввиду редкой встречаемости патологии и отсутствия крупных исследований данной проблемы вопросы лечения висцерального инфаркта остаются противоречивыми. Единство взглядов прослеживается лишь в утверждении необходимости максимально раннего лечения [15]. Имеющиеся публикации по данной проблеме в основном сосредоточены на изучении причин данных состояний и их клинических проявлений, в то время как исходы и отдалённые результаты лечения продолжают оставаться наименее освещёнными вопросами [17]. Можно выделить несколько принципиальных подходов к лечению висцеральных инфарктов: 1) симптоматическое лечение, предусматривающее в первую очередь купирование болевого синдрома; 2) восстановление кровоснабжения органа, включающее использование как консервативных, так и оперативных подходов; 3) терапия основного заболевания и профилактика повторных тромбозов; 4) лечение осложнений.

Ряд авторов считают, что при лечении висцерального инфаркта достаточно лишь обезболивания и инфузионной терапии [12, 20]. По наблюдениям E. Weber и соавт. (2020), из 138 больных с висцеральным инфарктом 36,2 % получали только анальгетическую терапию [12].

Логичной лечебной стратегией является реваскуляризация поражённого органа. Решения данной задачи могут быть весьма вариабельны: от назначения антикоагулянтов до фармакоинвазивного подхода в виде системного или селективного тромболизиса и рентгенэндоваскулярных методов. Принципиальным вопросом, определяющим целесообразность реваскуляризации, является длительность ишемии. Однако и этот вопрос не имеет чёткого ответа. По данным литературы, реваскуляризация, направленная на восстановление почечной функции, целесообразна лишь в срок до 12 часов от начала ишемии, поскольку уже через 2 часа потеря почечной функции наблюдается с частотой 30–50 % [8, 28]. Несмотря на то, что из 16 пациентов, перенёсших рентгенэндоваскулярную реваскуляризацию, восстановления почечной функции не произошло ни в одном случае, K. Ouriel и соавт. отмечают, что эти больные реже имели в отдалённом периоде злокачественную артериальную гипертензию по сравнению с пациентами, получавшими только консервативное лечение [29]. Попытки оперативной реваскуляризации особенно целесообразны у пациентов с почечной недостаточностью и единственной почкой [30].

Базовым терапевтическим подходом при висцеральном инфаркте считается применение антикоагулянтов, однако продолжительность антикоагулянтой терапии не определена [15, 30] и доказательные данные о её эффективности отсутствуют [13].

Для лечения ИП может применяться как системный, так и селективный тромболизис, который показывает достаточную эффективность и безопасность (даже при длительной ишемии), однако данные результаты основываются лишь на единичных наблюдениях [31]. Принимая решение о проведении тромболизиса, следует исключить органическое поражение почечных артерий, требующее оперативной коррекции [13].

Роль оперативного метода в лечении инфарктов селезёнки и почки остаётся неясной. Спленэктомия и нефрэктомия указываются как крайние варианты лечения, однако показания к ним неясны, и в анализированных литературных источниках указаний на их выполнение нам не встретилось. Вероятно, точкой приложения оперативного метода являются осложнения висцерального инфаркта, такие как формирование абсцессов, псевдокист, спонтанного разрыва органа [10, 20, 32]. Частота развития данных осложнений неизвестна, однако следует полагать, что она достаточно низкая, поскольку в анализированной литературе последнего десятилетия, обобщающей десятки и сотни случаев, сообщений об их развитии нам также не встретилось. Для профилактики гнойных осложнений ряд авторов предлагает использование антибиотиков [20]. Но, поскольку продолжительность лизиса некротической ткани и время формирования абсцесса неизвестны, то и длительность курса антибиотиков также неясна. Отсутствие доказательной информации об эффективности профилактического применения антибиотиков и сведений о развитии гнойных осложнений ставит саму необходимость их применения под большой вопрос.

ИСХОДЫ И ОТДАЛЁННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучению исходов и отдалённых результатов лечения посвящено лишь небольшое количество публи-

каций. Изучив исходы ренального инфаркта у 94 больных, A. Delezire и соавт. (2021) уже при установлении диагноза отметили наличие злокачественной артериальной гипертензии у 45 %, а острое почечное повреждение – у 31 % (из них 7 случаев потребовали проведения гемодиализа). Через 60 месяцев у 66 % развилась хроническая почечная недостаточность и у 55 % – злокачественная артериальная гипертензия [19]. A. García-García и соавт. (2019) регистрировали острую почечную недостаточность у 49,2 % пациентов с ИП уже при поступлении, а через 6 месяцев доля больных, имевших хроническую почечную недостаточность, была примерно такой же (50,8 %). Повторные артериальные эмболии в отдалённом периоде регистрировались в 11,9 % случаев [18]. Оценив отдалённые результаты ИП у 438 больных, Y.K. Oh и соавт. сообщают о том, что через 20 месяцев у 2,8 % имел место повторный ренальный инфаркт, у 20 % – острое почечное повреждение, у 10,9 % – снижение скорости клубочковой фильтрации и только у 2,1 % больных развилась тяжёлая почечная недостаточность [17]. Развитие почечной недостаточности обычно ассоциируется с массивным и двухсторонним поражением паренхимы почки [13].

Показатели летальности при висцеральном инфаркте разнятся. По данным S.I. Sohn и соавт. (2021), при ИС она составила 5 % [14], а по сводным данным E. Weber и соавт. (2020), – 38,1 %. При этом авторы указывают на то, что ни у одного пациента летальный исход не был непосредственно связан с висцеральным инфарктом или его осложнениями. У 5,2 % наблюдались повторные кардиоэмболические осложнения: инсульт ($n = 5$); тромбоз глубоких вен нижних конечностей, осложнённый тромбоэмболией лёгочной артерии ($n = 2$); инфаркт миокарда ($n = 1$) [12]. A. García-García и соавт. сообщают о летальности 15,3 %, называя главной её причиной сердечную недостаточность [18]. Проанализировав 94 случая ИП, A. Delezire и соавт. (2021) приводят данные о летальности 21 %, при этом основным предрасполагающим фактором летального исхода называется лишь возраст пациентов [19].

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА

Учитывая вторичный характер кардиоэмболического висцерального инфаркта, необходимо уделять внимание основному заболеванию и профилактике повторных артериальных эмболий другой локализации, что требует междисциплинарного подхода [20]. По данным O. Wand и соавт. (2018), исход при ИС прежде всего зависит от его этиологии. Наибольший риск летального исхода имеют пациенты с ФП [11]. В ситуации, когда диагностика каридоэмболического висцерального инфаркта затруднена, а лечебные подходы чётко не определены, особое значение приобретает их прогнозирование и профилактика. Стандартизировать профилактику кардиоэмболий и выделить пациентов, имеющих высокие риски кардиоэмболических осложнений, позволяет шкала CHA_2DS_2-VASc (табл. 1).

Профилактический регулярный приём оральных антикоагулянтов показан мужчинам с суммарным количеством баллов по шкале CHA_2DS_2-VASc ≥ 2 и женщинам с суммой баллов ≥ 3. Рекомендовано достижение значений международного нормализованного отношения в пределах терапевтического диапазона (2,0–3,0), которые следует регулярно контролировать. В качестве препаратов первой линии показаны прямые пероральные антикоагулянты в полноценной дозировке, такие как апиксабан по 5 мг 2 раза в сутки, или дабигатрана этексилат по 150 мг 2 раза в сутки, или ривароксабан по 20 мг 1 раз в сутки [7]. При назначении антикоагулянтной терапии необходимо оценивать риски кровотечений. Наи-

ТАБЛИЦА 1

ФАКТОРЫ РИСКА ИНСУЛЬТА И СИСТЕМНЫХ ЭМБОЛИЙ У БОЛЬНЫХ ФП И ИХ ОЦЕНКА В БАЛЛАХ (ШКАЛА CHA_2DS_2-VASC)

TABLE 1

RISK FACTORS FOR STROKE AND SYSTEMIC EMBOLISM IN PATIENTS WITH ATRIAL FIBRILLATION AND THEIR SCORES (ACCORDING TO CHA_2DS_2-VASC SCORE)

Факторы риска	Баллы
C – хроническая сердечная недостаточность (congestive heart failure) или дисфункция левого желудочка	1
H – артериальная гипертония (hypertension)	1
A – возраст (age) ≥ 75 лет	2
D – диабет (diabetes mellitus)	1
S – ишемический инсульт (stroke)/транзиторная ишемическая атака/системные эмболии в анамнезе	2
V – сосудистое заболевание (vascular disease): инфаркт миокарда в анамнезе, атеросклероз периферических артерий нижних конечностей, атеросклеротическая бляшка в аорте	1
A – возраст (age) 65–74 года	1
Sc – женский пол (sex category)	1

более распространённой для этого является шкала HAS-BLED (Hypertension, Abnormal renal and liver function, Stroke, Bleeding, Labile INR, Elderly, Drugs or alcohol).

В то время как шкала CHA_2DS_2-VASc призвана выявлять пациентов с высоким риском кардиоэмболических осложнений, шкал, которые бы позволяли прогнозировать именно развитие висцерального инфаркта, не существует. Ряд авторов указывают на связь кардиоэмболического ИП и ИС с некоторыми факторами. Одним из них является ишемический инсульт [33]. По данным P. Piran и соавт. (2020), среди 259 больных с ишемическим инсультом, висцеральный инфаркт был выявлен у 48 (19 %) [34]. Из 100 пациентов с инсультом S.I. Sohn и соавт. (2021) выявили острые и хронические висцеральные инфаркты у 31 % [14]. По данным I. Azher и соавт. (2019), предиктором высокого риска висцерального инфаркта у больных с ишемическим инсультом можно считать повышенный уровень тропонина при поступлении [33]. Одним из наиболее надёжных предикторов острого кардиоэмболического висцерального инфаркта у больных с ФП является степень дилатации левого предсердия. Это ассоциировано с тем, что ремоделирование и нарушение сократительной способности предсердий приводят к большему застою крови и повреждению эндотелия, тем самым предрасполагая к тромбоэмболии. Уже хорошо известна связь между большим объёмом левой камеры сердца и повторным инсультом. Однако эту связь с висцеральным инфарктом ещё требуется подтвердить [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, одной из причин болей в животе у пациентов с ФП может быть развитие острых эмболий висцеральных артерий с развитием инфаркта почек и селезёнки. Особую группу риска представляют пациенты с ишемическим инсультом. Эти особенности обусловливают междисциплинарность данной проблемы, с которой могут столкнуться хирурги, кардиологи и неврологи. Клинические проявления висцерального инфаркта весьма вариабельны и неспецифичны. Наиболее часто отмечается наличие болевого синдрома, лабораторных маркеров воспаления, повышение уровня ЛДГ и D-димера. Внести ясность в диагноз позволяет применение высокоразрешающих методов лучевой диагностики, таких как КТ с внутривенным контрастированием и МРТ. Радиологу при обнаружении признаков инфаркта почки или селезёнки следует обратить пристальное внимание на состояние сердца (увеличение предсердий), наличие стенозирующих тромбов, патологию клапанов, изменения аорты, почечных артерий, признаки инфаркта в бассейнах других висцеральных сосудов. Ранняя диагностика позволяет рассчитывать на успех реваскуляризации и сохранение функции органа; при поздней диагностике акцент смещается в сторону профилактики повторных кардиоэмболий и симптоматического лечения. Уделом хирургического лечения остаются лишь осложнения висцерального инфаркта, частота которых, по-видимому, достаточно низкая. Основные причины неблагоприятных исходов обычно не связаны непосредственно с инфарктом или его осложнениями. В целом вопросы прогнозирования кардиоэмболических висцеральных инфарктов, их эффективной профилактики и лечения остаются нерешёнными и требуют дальнейшего накопления, обобщения и анализа опыта.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Patil S, Gonuguntla K, Rojulpote C, Kumar M, Nadadur S, Nardino RJ, et al. Prevalence and determinants of atrial fibrillation-associated in-hospital ischemic stroke in patients with acute myocardial infarction undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol.* 2021;144:1-7. doi: 10.1016/j.amjcard.2020.12.066

2. Кобалава Ж.Д., Лазарев П.В. Риск развития коронарных осложнений при фибрилляции предсердий. *Кардиология.* 2020; 60(1): 43-52. [Kobalava ZhD, Lazarev PV. Risk of coronary events in atrial fibrillation. *Kardiologiia.* 2020; 60(1): 43-52. (In Russ.)]. doi: 10.18087/cardio.2020.1.n828

3. Ардашев А.В., Беленков Ю.Н., Матюкевич М.Ч., Снежицкий В.А. Фибрилляция предсердий и смертность: прогностические факторы и терапевтические стратегии. *Кардиология.* 2021; 61(2): 91-98. [Ardashev AV, Belenkov YuN, Matsiukevich MCh, Snezhitskiy VA. Atrial fibrillation and mortality: Prognostic factors and direction of prevention. *Kardiologiia.* 2021; 61(2): 91-98. (In Russ.)]. doi: 10.18087/cardio.2021.2.n1348

4. Мареев Ю.В., Поляков Д.С., Виноградова Н.Г., Фомин И.В., Мареев В.Ю., Беленков Ю.Н., и др. Эпидемиология фибрилляции предсердий в репрезентативной выборке Европейской части Российской Федерации. *Кардиология.* 2022; 62(4): 12-19. [Mareev YuV, Polyakov DS, Vinogradova NG, Fomin IV, Mareev VYu, Belenkov YuN, et al. Epidemiology of atrial fibrillation in a representative sample of the European part of the Russian Federation. Analysis of EPOCH-CHF study. *Kardiologiia.* 2022; 62(4): 12-19. (In Russ.)]. doi: 10.18087/cardio.2022.4.n1997

5. Stewart S, Hart CL, Hole DJ, McMurray JJ. Population prevalence, incidence, and predictors of atrial fibrillation in the Renfrew/Paisley study. *Heart*. 2001; 86: 516-521. doi: 10.1136/heart.86.5.516

6. Go AS, Hylek EM, Phillips KA, Chang Y, Henault LE, Selby JV, et al. Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: National implications for rhythm management and stroke prevention: The AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study. *JAMA*. 2001; 285(18): 2370-2375. doi: 10.1001/jama.285.18.2370

7. Аракелян М.Г., Бокерия Л.А., Васильева Е.Ю., Голицын С.П., Голухова Е.З., Горев М.В., и др. Фибрилляция и трепетание предсердий. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал.* 2021; 26(7): 190-260. [Arakelyan MG, Bockeria LA, Vasilieva EYu, Golitsyn SP, Golukhova EZ, Gorev MV,

et al. 2020 clinical guidelines for atrial fibrillation and atrial flutter. *Russian Journal of Cardiology*. 2021; 26(7): 4594. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2021-4594

8. Мамаев И.Э., Сайпулаев Г.Ш., Степаненко К.В., Котов С.В. Инфаркт почки. Анализ 12 случаев острой окклюзии почечной артерии. *Экспериментальная и клиническая урология*. 2022; 15(2): 38-44. [Mamaev IE, Saipulaev GSh, Stepanenko KV, Kotov SV. Renal infarction. Analysis of 12 cases of acute renal artery occlusion. *Experimental and Clinical Urology*. 2022; 15(2). 38-44. (In Russ.)]. doi: 10.29188/2222-8543-2022-15-2-38-44

9. Kalenchic TI, Kabak SL, Didenko NS, Melnichenko YM. Pulmonary thromboembolism and splenic infarction in a patient with chronic atrial fibrillation: A case report. *Cardiology in Belarus*. 2023; 15(4): 542-548.

10. Kamaya A, Wong Y, Cheong J. *Diagnostic ultrasound: Abdomen and pelvis*. 2021.

11. Wand O, Tayer-Shifman OE, Khoury S, Hershko AY. A practical approach to infarction of the spleen as a rare manifestation of multiple common diseases. *Ann Med*. 2018; 50(6): 494-500. doi: 10.1080/07853890.2018.1492148

12. Weber E, Grangeon F, Reynaud Q, Hot A, Sève P, Jardel S, et al. Acute renal and splenic infarctions: A review. *QJM*. 2020; 113(3): 186-193. doi: 10.1093/qjmed/hcz252

13. Faucon AL, Bobrie G, Jannot AS, Azarine A, Plouin PF, Azizi M, et al. Cause of renal infarction: A retrospective analysis of 186 consecutive cases. *J Hypertens*. 2018; 36(3): 634-640. doi: 10.1097/HJH.0000000000001588

14. Sohn SI, Park SW, Lee Y, Park H, Chang H, Choi HA, et al. Determinants of visceral infarction in acute cardioembolic stroke due to atrial fibrillation. *J Stroke*. 2021; 23(2): 277-280. doi: 10.5853/jos.2020.03972

15. Попов С.В., Орлов И.Н., Топузов Т.М., Малевич С.М., Чернышева Д.Ю. Современные аспекты диагностики и лечения инфаркта почки. *Урология*. 2023; 1(1): 101-105. [Popov SV, Orlov IN, Topuzov TM, Malevich SM, Chernysheva DYu. Modern aspects of diagnostics and treatment of renal infarction. *Urologiia*. 2023; 1(1): 101-105. (In Russ.)]. doi: 10.18565/urology.2023.1.101-105

16. Antopolsky M, Simanovsky N, Stalnikowicz R, Salameh S, Hiller N. Renal infarction in the ED: 10-year experience and review of the literature. *Am J Emerg Med*. 2012; 30(7): 1055-1060. doi: 10.1016/j.ajem.2011.06.041

17. Oh YK, Yang CW, Kim YL, Kang SW, Park CW, Kim YS, et al. Clinical characteristics and outcomes of renal infarction. *Am J Kidney Dis*. 2016;67(2):243-250. doi: 10.1053/j.ajkd.2015.09.019

18. García-García A, Demelo-Rodríguez P, Ordieres-Ortega L, Cervilla-Muñoz E, García-Fernández-Bravo I, Pulfer MD, et al. Idiopathic versus provoked renal infarction: Characteristics and long-term follow-up of a cohort of patients in a tertiary hospital. *Kidney Blood Press Res*. 2019; 44(6): 1432-1440. doi: 10.1159/000503425

19. Delezire A, Terrasse M, Bouet J, Laot M, Brun V, Oger E, et al. Acute renal infarction: Long-term renal outcome and prognostic factors. *J Nephrol*. 2021;34(5):1501-1509. doi: 10.1007/s40620-020-00953-4

20. Chapman J, Helm TA, Kahwaji CI. *Splenic infarcts*. StatPearls Publishing; 2024.

21. Vorobev V, Beloborodov V, Balabina N, Tolkachev K, Popov S, Sidirov S, et al. Rare clinical cases of renal artery thrombosis. *Bangladesh Journal of Medical Science*. 2021; 20(3): 550-555. doi: 10.3329/bjms.v20i3.52797

22. Tsai SH, Chu SJ, Chen SJ, Fan YM, Chang WC, Wu CP, et al. Acute renal infarction: A 10-year experience. *Int J Clin Pract*. 2007; 61(1): 62-67. doi: 10.1111/j.1742-1241.2006.01136.x

23. Bourgault M, Grimbert P, Verret C, Pourrat J, Herody M, Halimi JM, et al. Acute renal infarction: A case series. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013; 8(3): 392-398. doi: 10.2215/CJN.05570612

24. Рубаненко А.О., Рубаненко О.А., Дьячков В.А., Щукин Ю.В. Роль D-димера в прогнозировании риска инсульта у больных с фибрилляцией предсердий. *Гематология и трансфузиология*. 2022; 67(2): 261-266. [Rubanenko AO, Rubanenko OA, Dyachkov VA, Shchukin YuV. The role of D-dimer in stroke risk stratification in patients with atrial fibrillation. *Russian Journal of* Hematology *and Transfusiology*. 2022; 67(2): 261-266. (In Russ.)]. doi: 10.35754/0234-5730-2022-67-2-261-266

25. Zhou XJ, Liu LJ, Chen M, Zhou FD. Asynchronous bilateral renal infarction and thrombophilia with associated gene mutations in a 43-year-old man: A case report. *Medicine*. 2016; 95(14): 3258. doi: 10.1097/MD.0000000000003258

26. Hazanov N, Somin M, Attali M, Beilinson N, Thaler M, Mouallem M, et al. Acute renal embolism. Forty-four cases of renal infarction in patients with atrial fibrillation. *Medicine (Baltimore)*. 2004; 83(5): 292-299. doi: 10.1097/01.md.0000141097.08000.99

27. Румер В.Б. КТ-семиотика травматических и нетравматических повреждений селезенки. *Медицинская визуализация*. 2021; 25(2): 50-62. [Rumer VD, Arablinskiy AV. CT semiotics of traumatic and non-traumatic spleen injures. *Medical visualization*. 2021; 25(2): 50-62. (In Russ.)]. doi: 10.24835/1607-0763-946

28. Yoshida T, Ikehara N, Miyabe H, Sakata S, Yajima K, Mukai S, et al. Two cases with renal infarction diagnosed in the early course using contrast-enhanced CT. *Hypertens Res*. 2004; 27(7): 523-526. doi: 10.1291/hypres.27.523

29. Ouriel K, Andrus CH, Ricotta JJ, DeWeese JA, Green RM. Acute renal artery occlusion: When is revascularization justified? *J Vasc Surg*. 1987; 5(2): 348-355. doi: 10.1067/mva.1987.avs0050348

30. Sharma R, Walizai T, Hacking C, Walizai T, Baba Y, Shah V, et al. Renal infarction. Reference article. *Radiopaedia.org*. URL: https://radiopaedia.org/articles/renal-infarction [date of access: 08.03.2024]. doi: 10.53347/rID-12426

31. Li HL, Chan YC, Guo Z, Zhou R, Cheng SW. Endovascular thrombus aspiration and catheter-directed thrombolysis for acute thromboembolic renal artery occlusion. *Vasc Endovascular Surg*. 2022; 56(5): 521-524. doi: 10.1177/15385744221086136

32. Толмачев И.А., Белых А.Н., Божченко А.П., Лобан И.Е., Сафрай А.Е. Инфаркт или травматический разрыв селезенки? *Судебно-медицинская экспертиза*. 2017; 60(3): 39-41. [Tolmachev IA, Belykh AN, Bozhchenko AP, Loban IE, Safrai AE. The infarction or the traumatic rupture of the spleen? *Forensic Medical Expertise*. 2017; 60(3): 39-41. (In Russ.)]. doi: 10.17116/sudmed201760339-41

33. Azher I, Kaushal A, Chang A, Cutting S, Mac Grory B, Burton T, et al. Serum troponin level in acute ischemic stroke identifies patients with visceral infarcts. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2019; 28(5): 1173-1177. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.01.004

34. Piran P, Atalay YB, Gupta A, Patel P, Murthy SB, Navi BB, et al. Relationship between presence of visceral infarction and functional outcome among patients with acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2020; 49(3): 316-320. doi: 10.1159/000508826

Сведения об авторах

Отдельнов Леонид Александрович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии им. Б.А. Королёва, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; врач хирургического отделения № 1, ГБУЗ Нижегородской области «Городская клиническая больница № 13 Автозаводского района г. Нижнего Новгорода», e-mail: leonotdelnov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-4446-2082

Птушко София Сергеевна – студентка лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ptushkosofia@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1278-9497

Уланова Нина Дмитриевна – ассистент кафедры эндокринологии и внутренних болезней, ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; врач-терапевт, ГБУЗ Нижегородской области «Городская клиническая больница № 13 Автозаводского района г. Нижнего Новгорода», e-mail: ulanova.nina.1996@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-5107-6051

Information about the authors

Leonid A. Otdelnov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Surgery named after B.A. Korolev, Privolzhsky Research Medical University; Surgeon at the Surgical Department No. 1, Nizhny Novgorod City Clinical Hospital No. 13 of Avtozavodsky District, e-mail: leonotdelnov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-4446-2082

Sofia S. Ptushko – Student at the Faculty of Medicine, Privolzhsky Research Medical University, e-mail: ptushkosofia@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1278-9497

Nina D. Ulanova – Teaching Assistant at the Department of Endocrinology and Internal Medicine, Privolzhsky Research Medical University; Primary Care Physician, Nizhny Novgorod City Clinical Hospital No. 13 of Avtozavodsky District, e-mail: ulanova.nina.1996@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-5107-6051

СЕРДЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ И МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ: МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Гарганеева А.А. [1],
Тукиш О.В. [1],
Кужелева Е.А. [1],
Муслимова Э.Ф. [1],
Гуля М.О. [1],
Жаргасова В.А. [2],
Попов С.В. [1]

[1] Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а, Россия)
[2] ООО «Медлайт» (693010, г. Южно-Сахалинск, ул. Хабаровская, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Тукиш Ольга Викторовна,
e-mail: olgatukish@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Сердечная недостаточность (СН) является основной причиной смертности, частых госпитализаций и низкого качества жизни. Фундаментальные механизмы, участвующие в возникновении и прогрессировании СН, в настоящее время точно не определены. Митохондрии играют ключевую роль в процессах клеточного метаболизма, выполняя множество биологических функций. Функциональная активность митохондрий имеет неразрывную связь с их структурой. При сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ) в условиях повторяющейся гипоксии/реоксигенации тканей, а также под влиянием процессов субклинического воспаления происходит патологическая перестройка митохондриома кардиомиоцитов (КМЦ). Исследования, проведённые к настоящему времени, позволяют предположить, что митохондрии могут быть ключом к пониманию начала и прогрессирования хронической сердечной недостаточности (ХСН). Анализ литературы демонстрирует, что изучение митохондрий у больных ХСН является актуальной темой, а число публикаций в системе PubMed/MEDLINE, касающихся исследований в данной области, прогрессивно увеличивается; в системе eLIBRARY найдено 100 публикаций по данной тематике.

В настоящем обзоре мы рассмотрели современные методы оценки структуры и функции митохондрий в экспериментальных и клинических работах и провели анализ возможности применения данных методов исследования у больных ССЗ. Показано, что, несмотря на достаточно широкий спектр возможностей изучения структурно-функционального состояния митохондрий КМЦ при ХСН, оцениваемые косвенные признаки митохондриальной дисфункции являются суррогатными маркерами, степень информативности которых необходимо изучить в сопоставлении с реальным состоянием ультраструктуры митохондрий КМЦ, клинической картиной заболевания и прогнозом пациентов. Актуализирована необходимость проведения клинических исследований, направленных на изучение ассоциации прямых ультраструктурных характеристик митохондрий КМЦ с косвенными признаками митохондриальной дисфункции, с клиническим течением и исходами ХСН. Это позволит получить принципиально новые фундаментальные знания о механизмах развития и прогрессирования данного патофизиологического феномена, оценить степень информативности маркеров нарушения митохондриальной функции при ХСН, что послужит основанием для внедрения изучаемых диагностических методов в реальную клиническую практику.

Ключевые слова: *хроническая сердечная недостаточность, митохондрии, митохондриальная дисфункция, митохондриальная ДНК, дыхание митохондрий, окислительное фосфорилирование*

Статья поступила: 12.04.2024
Статья принята: 10.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Гарганеева А.А., Тукиш О.В., Кужелева Е.А., Муслимова Э.Ф., Гуля М.О., Жаргасова В.А., Попов С.В. Сердечная недостаточность и митохондриальная дисфункция: методы исследования в эксперименте и клинической практике. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 103-114. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.11

HEART FAILURE AND MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION: RESEARCH METHODS IN EXPERIMENT AND CLINICAL PRACTICE

Garganeeva A.A. [1],
Tukish O.V. [1],
Kuzheleva E.A. [1],
Gulya M.O. [1],
Muslimova E.F. [1],
Zhargasova V.A. [2],
Popov S.V. [1]

[1] Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Kievskaya str. 111A, Tomsk 634012, Russian Federation)
[2] Medlight LLC (Khabarovskaya str. 15, Yuzhno-Sakhalinsk 693010, Russian Federation)

Corresponding author:
Olga V. Tukish,
e-mail: olgatukish@yandex.ru

ABSTRACT

Heart failure is the leading cause of death, frequent hospitalizations, and poor quality of life. The fundamental mechanisms involved in the occurrence and progression of heart failure are currently not precisely defined. Mitochondria play a key role in the processes of cellular metabolism, performing many biological functions. The functional activity of mitochondria is inextricably linked to their structure. In cardiovascular diseases, in conditions of repeated hypoxia/reoxygenation of tissues, as well as under the influence of subclinical inflammation processes, pathological restructuring of the cardiomyocyte mitochondriome occurs. Studies conducted to date suggest that mitochondria may be the key to understanding the onset and progression of chronic heart failure (CHF). An analysis of the literature demonstrates that the study of mitochondria in patients with CHF is an urgent topic, and the number of publications in the PubMed/MEDLINE system concerning research in this area is progressively increasing, 100 publications on this topic have been found in the eLibrary system. In this review, we reviewed modern methods for evaluating the structure and function of mitochondria in experimental and clinical studies and analyzed the possibility of using these research methods in patients with cardiovascular diseases. It is shown that, despite a fairly wide range of possibilities for studying the structural and functional state of mitochondria of cardiomyocytes in CHF, the estimated indirect signs of mitochondrial dysfunction are surrogate markers, the degree of informativity of which must be studied in comparison with the actual state of the cardiomyocytes mitochondrial ultrastructure, the clinical picture of the disease and the prognosis of patients. The necessity of conducting clinical studies aimed at studying the association of direct ultrastructural characteristics of cardiomyocytes mitochondria with indirect signs of mitochondrial dysfunction with the clinical course and outcomes of CHF is actualized, which will allow us to obtain fundamentally new fundamental knowledge about the mechanisms of development and progression of the pathophysiological phenomenon of CHF, to assess the degree of informativeness of markers of mitochondrial dysfunction in patients with CHF, which will serve as the basis for the widespread introduction of these diagnostic methods into real clinical practice.

Key words: *chronic heart failure, mitochondria, mitochondrial dysfunction, mitochondrial DNA, mitochondrial respiration, oxidative phosphorylation*

Received: 12.04.2024
Accepted: 10.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Garganeeva A.A., Tukish O.V., Kuzheleva E.A., Gulya M.O., Muslimova E.F., Zhargasova V.A., Popov S.V. Heart failure and mitochondrial dysfunction: research methods in experiment and clinical practice. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 103-114. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.11

ВВЕДЕНИЕ

Сердечная недостаточность (СН) является основной причиной смертности, частых госпитализаций и низкого качества жизни [1]. Несмотря на многочисленные исследования, фундаментальные механизмы, участвующие в возникновении и прогрессировании СН, в настоящее время точно не определены. Однако известно, что патологические изменения, происходящие при СН, проявляются как на тканевом, так и на клеточном уровне. Согласно современным представлениям, внутриклеточные изменения в кардиомиоцитах (КМЦ) при СН характеризуются в том числе нарушением структуры и функции митохондрий, индикатором которых является накопление фрагментированных и повреждённых органелл в клетке [2, 3]. Митохондрии играют ключевую роль в процессах клеточного метаболизма, выполняя множество биологических функций, таких как синтез аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и обеспечение энергозависимых процессов в клетках, регуляция динамического равновесия внутриклеточного кальция и магния, участие в синтезе ферментов системы цитохромов и поддержание внутриклеточного гомеостаза. Функциональная активность митохондрий имеет неразрывную связь с их структурой, при этом сохранение стабильности митохондриома в целом, проявляющееся в балансе процессов деления, слияния, фрагментации, митофагии повреждённых органелл, обеспечивается системой качества митохондрий. При сердечно-сосудистых заболеваниях (ССЗ) в условиях повторяющейся гипоксии/реоксигенации тканей, а также под влиянием процессов субклинического воспаления происходит патологическая перестройка митохондриома КМЦ, сопровождающаяся нарушением структуры и функции митохондрий и накоплением повреждённых, дисфункциональных органелл, которые являются источником избытка активных форм кислорода (АФК). Согласно современным представлениям, накопление АФК нарушает адекватную биоэнергетику КМЦ и способствует индукции митохондриального пути апоптоза клеток [4].

В настоящее время структура и функция митохондрий КМЦ при ССЗ активно исследуются отечественными и зарубежными учёными. При этом наибольший интерес представляет оценка митохондриальных структурно-функциональных изменений при хронической сердечной недостаточности (ХСН), при которой имеет место нарушение энергетически затратных процессов сокращения и расслабления кардиомиоцитов, приводящее к систолической и диастолической дисфункции желудочков сердца и клинически проявляющееся симптомами и признаками ХСН.

Анализ современной литературы демонстрирует, что изучение митохондрий у больных с ХСН является актуальной развивающейся темой, о чём свидетельствует прогрессивное увеличение публикаций в международных базах цитирования. В системе данных PubMed/MEDLINE в последние годы число публикаций, касающихся исследований в области структуры и функции митохондрии при сердечной недостаточности (запрос по терминам «mitochondria» AND «heart failure»), увеличилось с 22 в 2000 г. до 181 в 2019 г. и 245 г. в 2023 г.

Исследования, проведённые к настоящему времени, позволяют предположить, что митохондрии могут быть ключом к пониманию начала и прогрессирования ХСН. Как результат, более глубокое осмысление роли митохондриальной дисфункции в патогенезе ХСН может улучшить её диагностику, лечение и прогноз, увеличивая тем самым возможность контроля над течением заболевания.

Вместе с тем следует отметить, что большинство исследований структуры и функции митохондрий в КМЦ имеют экспериментальный характер и проводятся преимущественно на лабораторных животных или клеточных линиях с искусственным моделированием патологического процесса. Исследования структуры и функции митохондрий КМЦ человека встречаются в литературе гораздо реже, что связано, безусловно, со сложностью получения биопсийного материала, а изучение функции внутриклеточных органелл *in vivo* является технически, методологически и этически крайне сложной задачей. В настоящем обзоре мы рассмотрели современные методы оценки структуры и функции митохондрий в экспериментальных и клинических работах и провели анализ возможности применения данных методов исследования у больных ССЗ.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МИТОХОНДРИЙ

Возможность изучения морфологии митохондрий появилась с изобретением электронного микроскопа, когда была преодолена ограниченная разрешающая способность оптического микроскопа. В настоящее время электронная микроскопия является «золотым стандартом» для изучения ультраструктуры митохондрий [5]. Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) позволяет исследовать гетерогенность популяций митохондрий в клетках в норме и при патологии, проводить анализ морфологии данных органелл с определением количественных параметров митохондриальной ультраструктуры (соотношение протяжённости внутренней и наружной мембран митохондрий, общая площадь митохондрий на единицу площади анализируемой клетки и др.), а также выявлять повреждённые дисфункциональные органеллы. При этом ограничением метода является оценка ультраструктуры клеток лишь в одной двухмерной плоскости.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) сочетает традиционную систему ПЭМ и регулировки сканирования, обеспечивая при исследовании образцов получение микрофотографий с высоким разрешением, информацией на уровне атомов, позволяет изучать трёхмерную структуру митохондрий в сложном микроокружении, содержащем все клеточные компоненты. Такие методы исследования, как эпифлуоресцентная микроскопия, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия высокого разрешения, могут использовать-

ся для анализа изображений морфологических изменений в митохондриях с высокой точностью, значительно превышающей ПЭМ [6, 7].

С разработкой более высокотехнологичных методов исследования ультраструктуры внутриклеточных органелл, таких как атомно-силовая микроскопия (АСМ), появилась возможность визуализации клеточных структур в режиме реального времени и изучения динамических процессов, происходящих с клетками. Однако данный метод имеет узкий спектр применения, что связано, в частности, с особенностями используемых АСМ-зондов [8, 9].

Таким образом, несмотря на высокую информативность различных методов электронной микроскопии высокого разрешения, каждый из них имеет свои ограничения, при этом наиболее доступным для исследования структуры митохондрий всё же остаётся метод ПЭМ.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ

Митохондриальный мембранный потенциал (ММП) необходим для выработки АТФ и нормального функционирования дыхательной цепи. Снижение ММП приводит к истощению АТФ наряду с изменениями pH межмембранного пространства и матрикса митохондрий. Увеличение ММП всего на 10 мВ приводит к увеличению продукции АФК на 70–90 % [10]. Данный показатель используется с целью оценки функции митохондрий и обладает достаточной чувствительностью [11]. Он тесно связан с клеточным гомеостазом и чаще всего используется для определения метаболического состояния митохондрий. В настоящее время оценка ММП *in vitro* проводится с помощью проточной цитометрии с использованием молекулярных зондов с красителями [12]. В исследованиях демонстрируется связь динамики ММП с развитием апоптоза и некроза клеток при коронарной и сердечной недостаточности [13].

В литературе описывается методика позитронно-эмиссионной томографии, позволяющей количественно определять мембранный потенциал *in vivo* в абсолютных единицах. Предлагается использование данного метода для изучения патофизиологии ССЗ, оценки стадии заболевания, прогноза и ответа на проводимую терапию. Вместе с тем чувствительность и специфичность данного метода при ССЗ у человека на сегодняшний день изучена недостаточно.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО КАЛЬЦИЯ

Ионы кальция играют важную роль в передаче сигналов, свёртывании крови, трансмембранном транспорте ионов, клеточном делении [14]. Митохондриальный кальций является ключевым регулятором механизмов синтеза АТФ, контролируя окислительное фосфорилирование [15]. Важность физиологической роли кальция и кальций-аккумулирующая способность митохондрий вызывает большой интерес с 1960-х годов [16]. В настоящее время известно, что избыточное поглощение и накопление митохондриями кальция может привести к их набуханию, нарушению целостности в результате активации переходной поры проницаемости (mPTP, mitochondrial permeability transition pore), инициируя таким образом гибель клетки как путём апоптоза, так и путём некроза в зависимости от конкретных биологических условий [17]. Также есть данные, что нарушение регуляции поступления кальция является характерным для сердечной дисфункции. Кальций и аденозиндифосфат (АДФ) активно регулируют продукцию АФК в митохондриях сердца [18]. Хотя в настоящее время причины данного явления слабо изучены, по данным литературы, существует ряд гипотез. Так, предполагается, что в основе повышения продукции АФК могут лежать существенные изменения комплексов дыхательной цепи, активация дегидрогеназ матрикса митохондрий в результате воздействия кальция, изменение баланса восстановленных форм никотинамидадениндинуклеотида (NADH, nicotinamide adenine dinucleotide + hydrogen) и никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate + hydrogen) и истощение антиоксидантной системы. Таким образом, резко сниженный окислительно-восстановительный потенциал митохондрий приводит к повышенному высвобождению пероксида водорода [19]. В этом контексте АФК могут препятствовать сопряжению возбуждения и сокращения, вызывая аритмии, гипертрофию, апоптоз или некроз клеток сердца [20]. Вместе с тем определение физиологической и патофизиологической роли митохондриального кальция всё ещё остается предметом активных исследований.

Большая часть современных знаний о митохондриальном обмене кальция при СН получена на животных моделях. Методы определения митохондриального кальция включают осаждение, электрохимический анализ, хелатное титрование этилендиаминтетраацетата, пламенную спектрофотометрию, атомно-абсорбционную спектроскопию, флуоресцентную спектрофотометрию. При этом электрохимический анализ является наиболее удобным и простым в применении, не требует высокой оптической чувствительности приборов [21]. Однако при использовании этого метода необходимо учитывать влияние других внутриклеточных ионов, таких как натрий, калий, фосфат и сульфат.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕХОДНЫХ ПОР МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ

Переходные поры митохондриальной проницаемости представляют собой класс белковых комплексов между внутренней и внешней мембранами митохондрий, которые обеспечивают прохождение веществ с молекулярной массой < 1,5 кДа и служат структурной основой для изменений проницаемости мембраны митохондрий [22]. Кроме того, mPTP очень чувствительны к изменениям внутриклеточных и внеклеточных кон-

центраций ионов и играют важную роль в системах передачи сигналов. В настоящее время предполагается, что аномальное раскрытие mPTP тесно связано с патологическими изменениями концентрации кальция, окислительным стрессом и мутациями в митохондриальной ДНК (мтДНК) [23]. Напротив, величина ММП и концентрация митохондриального кальция являются основными факторами раскрытия mPTP, приводящими к высвобождению в цитозоль цитохрома С и других веществ, связанных с гибелью клеток [24]. Для обнаружения mPTP разработаны различные методы, такие как патч-зажим, спектрофотометрические методы и методы маркировки активных веществ. Метод патч-зажима является самым ранним и может отражать активность ионных каналов путём регистрации токов в ионных каналах для оценки функции митохондрий [25]. По сравнению с методами маркировки активных веществ и патч-зажима спектрофотометрия является более простым и наиболее часто применяемым методом исследования mPTP.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА

Поскольку одной из основных функций митохондрий является выработка АТФ, то его можно считать ключевым показателем состояния энергетического метаболизма клетки и функции митохондрий [26]. Он играет важную роль в транспорте веществ, преобразовании энергии и передаче информации. Известно, что при повреждении митохондрий снижается выработка АТФ и увеличивается продукция АФК, что может являться причиной развития и прогрессирования ряда заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых [26].

Для измерения уровней АТФ в митохондриях в настоящее время доступно несколько методов. Они включают в себя хроматографию, электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и ферментативный анализ [27]. Хроматография и электрофорез относятся к химическим методам, которые были разработаны в XVIII и XIX веках и постепенно совершенствовались. Различия между ВЭЖХ и классической жидкостной хроматографией включают более высокую скорость анализа, более мелкие и однородные частицы в качестве упаковочного материала и высокую эффективность работы колонки с мелкими частицами [28]. Высокоэффективная жидкостная хроматография может использоваться для определения различий в энергетических веществах клеток в разных состояниях, проста в эксплуатации и обладает высокой чувствительностью.

Ферментативный метод основан на спектрофотометрии, при которой выработку АДФ оценивают путём измерения поглощающей способности NAD^+ в фосфоенолпирувате [29]. Методы флуоресцентного анализа были усовершенствованы в последние годы и широко используются для определения активности синтеза АТФ в митохондриях [30]. Использование флуоресцентных зондов в ряде случаев позволяет специфически идентифицировать АТФ в митохондриях с высокой чувствительностью [31, 32].

В последние годы появился многоцветный индикатор АТФ. В отличие от предыдущих индикаторов, которые могут определять только внутриклеточную АТФ, многоцветный индикатор АТФ основан на единственном флуоресцентном белковом индикаторе красного, зелёного и синего цветов [33]. Он может одновременно обнаруживать АТФ в разных органеллах одной клетки и одновременно определять динамику АТФ в митохондриях клеток млекопитающих и будет играть важную роль в продвижении исследований энергетического метаболизма в будущем.

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

Цепь переноса электронов, или дыхательная цепь митохондрий, выполняющая функции по выработке энергии, регуляции клеточного апоптоза и метаболизма кальция [34, 35], состоит из пяти комплексов, каждый из которых имеет важное значение и может играть ключевую роль в развитии заболеваний, связанных с дисфункцией митохондрий. Показано, что уменьшение образования макроэргических молекул неразрывно связано с нарушением транспорта электронов в дыхательной цепи митохондрий и разобщением реакций митохондриальных комплексов, что в свою очередь способствует активации гликолиза и снижению синтеза АТФ и активации каспаза-зависимого пути апоптоза [36]. Также дисфункция на уровне I и II комплексов приводит к повышению скорости образования супероксидного радикала [37]. Интенсификация анаэробных процессов окисления способствует накоплению недоокисленных продуктов обмена, сдвигу pH внутри клетки в кислую сторону, что ведёт к активации проапоптотических сигнальных молекул (белки семейства Bid/Bax) и запуску каспаза-независимого пути апоптоза, что усиливает апоптоз клеток [38]. Обнаружение и изучение активности митохондриальных комплексов дыхательной цепи является актуальной задачей, для решения которой в настоящее время в качестве метода первой линии применяются спектрофотометрические анализы [39].

Однако точность и чувствительность данных методов могут в большой степени изменяться в зависимости от различных внешних биохимических вмешательств, которые могут привести к изменениям кинетики ферментов [40]. В последние годы был достигнут большой прогресс в неинвазивном измерении митохондриальных комплексов с помощью спектроскопии ближнего инфракрасного диапазона. Этот метод аналогичен спектрофотометрии, но на него в меньшей степени влияет внешняя среда [41].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА МИТОХОНДРИЯМИ

Среди клеточных органелл митохондрии потребляют больше всего кислорода в клетках, и это потребление

кислорода отражает функцию митохондрий [42]. Оценка изменения дыхательной функции митохондрий в условиях различных патологий может являться базисом для разработки новых стратегий терапии «митохондриальных болезней», позволяющих устранить энергодефицит и сопряжённые с ним апоптоз и окислительную модификацию клеточных структур [43].

Полярографический метод определения содержания кислорода является ценным методом оценки потребления кислорода митохондриями, позволяющим проводить исследование окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий. Определение скорости дыхания митохондрий может проводиться в нескольких субстратных состояниях. При этом митохондрии могут находиться в пяти состояниях: V1 – дыхание осуществляется только за счёт имеющихся в митохондриях эндогенных субстратов и систем окисления и фосфорилирования; V2 – наступает после дополнительного внесения субстрата; V3 – возникает после совместного внесения АДФ и субстрата окисления, что сопровождается резким активированием процесса (лимитировать дыхание может только проницаемость митохондриальных мембран и скорость окисления); V4 – наступает вследствие исчерпания всей внесённой АДФ и её превращения в АТФ.

Для оценки функционального состояния митохондрий и сопряжения процессов окисления и фосфорилирования используется коэффициент дыхательного контроля по Чансу и Вильямсу (ДК) – отношение скорости поглощения кислорода в состоянии III к скорости поглощения кислорода в состоянии IV (отношение V3/V4) с нормальным значением, находящимся в диапазоне от 3 до 10 у. е. [44]. Низкое значение ДК указывает на нарушение синтеза митохондриальной АТФ и митохондриальную дисфункцию, а повышенное – на высокую клеточную активность и ускоренный метаболизм [45].

Кроме того, исследуется скорость потребления кислорода клетками (OCR, oxygen consumption rate) и скорость внеклеточного фосфорилирования (ECAR, extracellular acidification rate) в режиме реального времени для характеристики метаболического состояния клеток. Если OCR вызывается переносом электронов в митохондриях, то ECAR образуется в результате молочнокислого брожения (гликолитическое подкисление) и углекислого газа, вырабатываемого митохондриями (митохондриальное подкисление) [46].

Скорость потребления кислорода используется для изучения функции окислительного фосфорилирования митохондрий [47]. Как правило, сначала измеряют базальное дыхание в нормальном состоянии, а затем добавляют олигомицин для ингибирования АТФ-синтазы. Скорость потребления кислорода обусловлена утечкой протонов. С добавлением разобщающего агента окислительного фосфорилирования, такого как FCCP (карбонилцианид-4-(трифторметокси)-фенилгидразон), действие которого обусловлено пассивным переносом протонов через мембрану, перенос электронов теряет ограничения протонного градиента и протекает с максимальной скоростью [48]. Таким образом, OCR резко возрастает, достигая максимального потребления кислорода (максимального дыхания); разница между этим значением и основным дыханием называется запасной дыхательной ёмкостью. Наконец, добавление ингибитора переноса электронов, такого как антимицин А, полностью подавляет перенос электронов и снижает скорость потребления кислорода до минимума [49]. Скорость внеклеточного фосфорилирования часто используется для изучения метаболических состояний, таких как гликолиз [46].

ИЗМЕРЕНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

Считается, что основной причиной развития митохондриальной дисфункции служит образование АФК [50]. Известно, что основными источниками АФК в повреждённых кардиомиоцитах являются I и III комплексы дыхательной цепи митохондрий [51]. Существует прямая связь между мембранным потенциалом митохондрий и уровнем продукции АФК [52].

Митохондрии являются основным местом выработки АФК, образующихся в процессе клеточного окислительного фосфорилирования [53]. Уровни внутриклеточных АФК, включая супероксидные радикалы, перекись водорода и продукты её переработки (пероксиды и гидроксильные радикалы), поддерживаются на низком физиологическом уровне посредством функционирования внутриклеточной системы антиоксидантной защиты. При патологических состояниях нарушается баланс между функциональными возможностями внутриклеточной антиоксидантной системы и количеством кислородных радикалов, что приводит к повреждению митохондриальных и клеточных ферментов, липидов и нуклеиновых кислот с развитием окислительного стресса [54].

Распространённые методы обнаружения АФК включают метод химической реакции, метод селективного электрода, спектрофотометрию и прямое обнаружение с помощью наборов. Метод химических реакций характеризуется высокой чувствительностью, низкой стоимостью и простотой в эксплуатации; однако он обладает низкой специфичностью, и на результаты измерений легко влияют некоторые окислительно-восстановительные реакции или реакции, катализируемые ферментами. Тетранитрометан, нитротетразолиевый синий хлорид (NBT, nitro blue tetrazolium chloride), цитохром С, адреналин и восстановленный кофермент I обычно используются для спектрофотометрических методов; они вступают в реакцию с супероксидными анион-радикалами с образованием цитохромов железа со специфическим поглощением (обнаруживаемым при длине волны 550 нм), которое может быть использовано для прямого измерения уровней АФК [55]. NBT-тест высокочувствителен и обычно используется для гистохимической локализации кислородных радикалов. Цитохром С обладает окислительной активностью и может быть использован для обнаружения образования кислородных радикалов. Однако он легко восстанавливается, и поэтому его применение ограничено для точного определения АФК. За последнее десятилетие был разработан ряд наборов для опреде-

ления уровня АФК (mtROS, mitochondrial reactive oxygen species) непосредственно во внутриклеточной или митохондриальной среде.

До широкого использования наборов уровни АФК измерялись косвенно путём выявления продуктов окислительного повреждения. Так, уровни малонового диальдегида (МДА) отражают степень перекисного окисления липидов в организме и могут быть измерены с помощью химического колориметрического метода определения тиобарбитуровой кислоты (ТБК). Также разработаны методы обнаружения АФК на основе флуоресцентных белков путём их сочетания с прокариотическими редокс-чувствительными белками [56]. Рекомбинантные белки вводятся в клетки с помощью плазмид или аденовирусов и органелл-мишеней для определения внутриклеточного окислительно-восстановительного статуса по изменению спектра флуоресценции [57].

В последние годы появилась технология электронного спинового резонанса или парамагнитного резонанса (ЭПР), принцип которого аналогичен ядерному магнитному резонансу [58]. Этот метод позволяет измерить присутствие свободных радикалов в биологических образцах.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

Как известно, отличительной особенностью митохондрий является наличие собственной дезоксирибонуклеиновой кислоты (мтДНК). Митохондриальный геном представлен кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК, кодирующей белки комплексов дыхательной цепи, молекулы информационной рибонуклеиновой кислоты (иРНК) и транспортной рибонуклеиновой кислоты (тРНК). При этом мтДНК по сравнению с ядерной ДНК является наиболее уязвимой в отношении повреждения её свободными радикалами и накопления ошибок в процессе репликации, проявляющихся в виде полиморфизмов и мутаций, вследствие отсутствия защитных гистонов и системы репарации [59]. Дисфункция мтДНК может быть количественной (например, изменение числа копий мтДНК и делеции) и качественной (например, разрывы нитей, точечные мутации и окислительное повреждение) [60].

Первые предположения о связи митохондриальных нарушений с развитием ряда заболеваний выдвигались достаточно давно, однако установить причину развития митохондриальных заболеваний удалось после открытия и расшифровки митохондриального генома, а также обнаружения его мутаций в 80-е гг. XX в. С тех пор число новых выявленных мутаций мтДНК постоянно растёт, как и объём информации об их взаимосвязи с отдельными патологиями органов и систем, в том числе и с ССЗ [61, 62]. В настоящее время известно, что мутации мтДНК вызывают нарушения нормального функционирования органелл и клеток и потенцируют процессы запрограммированной клеточной гибели [63]. В ряде исследований показана взаимосвязь мутаций мтДНК с развитием неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, а также нарушением адаптации клеток к гипоксии [64].

Повреждение мтДНК можно обнаружить с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH, fluorescence *in situ* hybridization), технологии секвенирования ДНК и зондового метода [65]. В настоящее время в экспериментальных исследованиях используются флуоресцентные меченные зонды на основе нуклеиновых кислот для гибридизации с соответствующими молекулами ДНК или РНК-мишеней в клетках. Однако флуоресцентная сигнализация обладает низкой специфичностью по сравнению с ПЦР и не является методом выбора для обнаружения мтДНК [66].

Показано, что мтДНК может высвобождаться из клетки в виде циркулирующей свободной митохондриальной ДНК (CCF-mtDNA, circulating cell-free mitochondrial DNA) через внеклеточные везикулы (EVs, extracellular vesicles) [67]. CCF-мтДНК может служить молекулярным паттерном, связанным с повреждением, приводящим к активации процессов воспаления, способствующих развитию и прогрессированию ССЗ [68].

ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ МТХ

Одним из современных инструментальных методов оценки митохондриальной функции КМЦ является сцинтиграфия миокарда с радиофармпрепаратами (РФП), меченными 99mTc. Накопление липофильного катионного агента 99mTc-метоксиизобутилизонитрила (99mTc-MIBI) в миокарде пропорционально миокардиальному кровотоку [69]. Физической основой метода являются проникновение РФП в клетку через сарколемму кардиомиоцита и его аккумуляция в отрицательно заряженных митохондриях (порядка 90 %), что было доказано при помощи сканирующей электронной микроскопии и рентгеновского микроанализа на колониях эмбриональных клеток куриных сердец [70]. Дальнейшее удержание индикатора в митохондриях также обусловлено мембранным потенциалом [71]. В эксперименте P. Crane и соавт. [72] на субклеточной фракции митохондрий изолированных сердец крыс показано, что при увеличении концентрации ионов кальция (модель ишемизированного миокарда) происходило дозозависимое ускоренное вымывание 99mTc-MIBI из митохондрий, что является признаком их повреждения. Вместе с тем исследований, определяющих степень корреляции скорости вымывания 99mTc-MIBI с ультраструктурным состоянием митохондрий в КМЦ человека при ХСН, крайне мало. Так, исследовательская группа японских ученых выявила, что у пациентов с дилатационной кардиомиопатией скорость вымывания 99mTc-MIBI коррелирует с выраженностью повреждений митохондрий (в соответствии с тяжестью дегенерации крист) ($r = 0{,}88$; $p = 0{,}048$), количеством гликоген-положительных зон в цитоплазме КМЦ ($r = 0{,}90$; $p = 0{,}044$) по данным электронной микроскопии [73].

Другим методом исследования митохондрий кардиомиоцитов *in vivo* является фосфорная магнитно-резонансная спектроскопия, которая представляет собой неинвазивный метод, позволяющий получать информацию

об энергетическом состоянии клеток сердца посредством измерения соотношения фосфокреатинин/АТФ в миокарде, а также абсолютного уровня высокоэнергетических фосфатов [74]. При этом на большинстве сканеров магнитно-резонансной томографии необходимо наличие специализированного программного обеспечения и дополнительного оборудования, что затрудняет внедрение данного метода в клиническую практику [75]. Согласно данным систематического обзора, соотношение фосфокреатинин/АТФ, измеренное посредством фосфорной магнитно-резонансной спектроскопии, ассоциировано с нарушением систолической и диастолической функции сердца, концентрацией натрийуретического пептида, клиническими признаками застоя у больных с сердечной недостаточностью [75].

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, митохондрии являются центрами энергетического метаболизма клетки и имеют решающее значение для клеточного роста и развития, а их структурно-функциональные изменения ассоциированы с возникновением и прогрессированием ряда заболеваний, включая болезни сердечно-сосудистой системы.

С начала прошлого века разработано множество методов исследования структуры и функций митохондрий, начиная от открытия этих внутриклеточных органелл до возможности наблюдения их микроструктур с помощью электромагнитного излучения и использования флуоресцентных зондов для определения физиологических параметров митохондрий. Вместе с тем прямые исследования митохондриальной структуры и функции проводятся преимущественно на лабораторных животных или клеточных линиях, тогда как в реальной клинической практике данные методы на сегодняшний день не получили широкого распространения.

Согласно современным представлениям, митохондриальная дисфункция может быть фундаментальной основой развития и прогрессирования ХСН, в том числе у пациентов, перенёсших реваскуляризацию миокарда [76, 77]. У пациентов с ХСН дисфункциональные митохондрии характеризуются дисперсией размеров, дезорганизацией крист, изменением локализации относительно миофибрилл [78]. Наряду с этим на сегодняшний день остаётся дискутабельной тема о влиянии митохондриальной дисфункции на прогноз и клиническое течение ХСН. Прямое изучение структурно-функциональных особенностей митохондрий в КМЦ человека является крайне сложной задачей, в связи с чем подобные исследования проводятся крайне редко и на очень небольших когортах пациентов [73]. В клинических исследованиях с целью определения структурно-функционального состояния митохондрий КМЦ используются преимущественно косвенные лабораторные (определение концентрации митохондриальных маркеров в плазме крови, таких как цитохром С, оценка скорости поглощения кислорода митохондриями лейкоцитов периферической крови [79], определение числа копий мтДНК в крови) и инструментальные методы (однофотонная эмиссионная компьютерная томография миокарда с оценкой скорости вымывания 99mTc-MIBI и фосфорная магнитно-резонансная спектроскопия (31P MRS)) [80], диагностическая и прогностическая значимость которых на сегодняшний день изучена недостаточно.

Несмотря на достаточно широкий спектр возможностей изучения структурно-функционального состояния митохондрий КМЦ при СС3, включая ХСН, оцениваемые косвенные признаки митохондриальной дисфункции являются суррогатными маркерами, степень информативности которых необходимо изучить в сопоставлении с реальным состоянием ультраструктуры митохондрий КМЦ, клинической картиной заболевания и прогнозом пациентов. Таким образом, на сегодняшний день существует необходимость изучения ассоциации прямых ультраструктурных характеристик митохондрий в КМЦ с косвенными признаками митохондриальной дисфункции, а также с клиническим течением и исходами ХСН, что позволит получить принципиально новые фундаментальные знания о механизмах развития и прогрессирования данного патофизиологического феномена, оценить степень информативности суррогатных маркеров нарушения митохондриальной функции у пациентов с ХСН, что послужит основанием для внедрения изучаемых диагностических методов в реальную клиническую практику.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Благодаря достижениям современной науки структурно-функциональное состояние митохондрий КМЦ у пациентов с ХСН может быть оценено с помощью ряда косвенных диагностических методов, однако их чувствительность и специфичность, клиническое и прогностическое значение на сегодняшний день изучены недостаточно. Необходимо проведение клинических исследований, подтверждающих возможность использования и информативность доступных методов исследования митохондрий у пациентов с ХСН в сопоставлении с результатами непосредственной оценки ультраструктуры данных органелл с помощью электронной микроскопии образцов миокарда.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 23-75-00009).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. McDonagh T, Metra M. 2021 рекомендации ESC по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности. *Российский кардиологический журнал*. 2023; 28(1): 5168. [McDonagh T, Metra M. 2021 ESC guidelines for the diagnosis

and treatment of acute and chronic heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2023; 28(1): 5168. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2023-5168

2. Scheffer DDL, Garcia AA, Lee L, Mochly-Rosen D, Ferreira JCB. Mitochondrial fusion, fission, and mitophagy in cardiac diseases: Challenges and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2022; 36(13-15): 844-863. doi: 10.1089/ars.2021.0145

3. Цыпленкова В.Г. Гистологические и ультраструктурные характеристики миокарда при сердечной недостаточности. Кардиология. 2013; 9: 58-62. [Tsyplenkova VG. Histological and ultrastructural characteristics of myocardium in heart failure. *Kardiologiia*. 2013; 9: 58-62. (In Russ.)].

4. Khoynezhad A, Jalali Z, Tortolani AJ. Apoptosis: Pathophysiology and therapeutic implications for the cardiac surgeon. *Ann Thorac Surg*. 2004; 78(3): 1109-1118. doi: 10.1016/j.athoracsur.2003.06.034

5. Wiessner M, Maroofian R, Ni MY, Pedroni A, Müller JS, Stucka R, et al. Biallelic variants in HPDL cause pure and complicated hereditary spastic paraplegia. *Brain*. 2021; 144(5): 1422-1434. doi: 10.1093/brain/awab041

6. Huang L, Chen H, Luo Y, Rivenson Y, Ozcan A. Recurrent neural network-based volumetric fluorescence microscopy. *Light Sci Appl*. 2021; 10(1): 62. doi: 10.1038/s41377-021-00506-9

7. Судаков Н.П., Клименков И.В., Катышев А.И., Никифоров С.Б., Гольдберг О.А., Пушкарёв Б.Г., и др. Митохондриальная дисфункция при атеросклерозе и инфаркте миокарда: молекулярные и цитохимические маркеры. *Acta biomedica scientifica*. 2016; 1(3-2): 131-134. [Sudakov NP, Klimenkov IV, Katyshev AI, Nikiforov SB, Goldberg OA, Pushkaryov BG, et al. Mitochondrial dysfunction at atherosclerosis and myocardial infarction: Molecular and cytochemical cell-markers. *Acta biomedica scientifica*. 2016; 1(3-2): 131-134. (In Russ.)]. doi: 10.12737/article_590823a517c941.46556762

8. Wong HH, Seet SH, Maier M, Gurel A, Traspas RM, Lee C, et al. Loss of C2orf69 defines a fatal autoinflammatory syndrome in humans and zebrafish that evokes a glycogen-storage-associated mitochondriopathy. *Am J Hum Genet*. 2021; 108(7): 1301-1317. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.05.003

9. Fernström J, Ohlsson L, Asp M, Lavant E, Holck A, Grudet C, et al. Plasma circulating cell-free mitochondrial DNA in depressive disorders. *PLoS One*. 2021; 16(11): e0259591. doi: 10.1371/journal.pone.0259591

10. Pelletier-Galarneau M, Detmer FJ, Petibon Y, Normandin M, Ma C, Alpert NM, et al. Quantification of myocardial mitochondrial membrane potential using PET. *Curr Cardiol Rep*. 2021; 23(6): 70. doi: 10.1007/s11886-021-01500-8

11. Newman NJ, Yu-Wai-Man P, Carelli V, Moster ML, Biousse V, Vignal-Clermont C, et al. Efficacy and safety of intravitreal gene therapy for Leber hereditary optic neuropathy treated within 6 months of disease onset. *Ophthalmology*. 2021; 128(5): 649-660. doi: 10.1016/j.ophtha.2020.12.012

12. Kuwahara Y, Roudkenar MH, Suzuki M, Urushihara Y, Fukumoto M, Saito Y, et al. The Involvement of mitochondrial membrane potential in cross-resistance between radiation and docetaxel. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2016; 96(3): 556-565. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.07.002

13. Kadenbach B, Ramzan R, Moosdorf R, Vogt S. The role of mitochondrial membrane potential in ischemic heart failure. *Mitochondrion*. 2011; 11(5): 700-706. doi: 10.1016/j.mito.2011.06.001

14. Marchi S, Patergnani S, Missiroli S, Morciano G, Rimessi A, Wieckowski MR, et al. Mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium homeostasis and cell death. *Cell Calcium*. 2018; 69: 62-72. doi: 10.1016/j.ceca.2017.05.003

15. Glancy B, Willis WT, Chess DJ, Balaban RS. Effect of calcium on the oxidative phosphorylation cascade in skeletal muscle mitochondria. *Biochemistry*. 2013; 52(16): 2793-2809. doi: 10.1021/bi3015983

16. Denton RM, McCormack JG, Edgell NJ. Role of calcium ions in the regulation of intramitochondrial metabolism. Effects of Na+, Mg2+ and ruthenium red on the Ca2+-stimulated oxidation of oxoglutarate and on pyruvate dehydrogenase activity in intact rat heart mitochondria. *Biochem J*. 1980; 190(1): 107-117. doi: 10.1042/bj1900107

17. Bauer TM, Murphy E. Role of mitochondrial calcium and the permeability transition pore in regulating cell death. *Circ Res*. 2020; 126(2): 280-293. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.316306

18. Duong QV, Hoffman A, Zhong K, Dessinger MJ, Zhang Y, Bazil JN. Calcium overload decreases net free radical emission in cardiac mitochondria. *Mitochondrion*. 2020; 51: 126-139. doi: 10.1016/j.mito.2020.01.005

19. Kembro JM, Cortassa S, Aon MA. Complex oscillatory redox dynamics with signaling potential at the edge between normal and pathological mitochondrial function. *Front Physiol*. 2014; 5: 257. doi: 10.3389/fphys.2014.00257

20. D'Oria R, Schipani R, Leonardini A, Natalicchio A, Perrini S, Cignarelli A, et al. The role of oxidative stress in cardiac disease: From physiological response to injury factor. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; 2020: 5732956. doi: 10.1155/2020/5732956

21. Guo Q, Bi J, Wang H, Zhang X. Mycobacterium tuberculosis ESX-1-secreted substrate protein EspC promotes mycobacterial survival through endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis. *Emerg Microbes Infect*. 2021; 10(1): 19-36. doi: 10.1080/22221751.2020.1861913

22. Chinopoulos C. Mitochondrial permeability transition pore: Back to the drawing board. *Neurochem Int*. 2018; 117: 49-54. doi: 10.1016/j.neuint.2017.06.010

23. Briston T, Selwood DL, Szabadkai G, Duchen MR. Mitochondrial permeability transition: A molecular lesion with multiple drug targets. *Trends Pharmacol Sci*. 2019; 40(1): 50-70. doi: 10.1016/j.tips.2018.11.004

24. Burke PJ. Mitochondria, bioenergetics and apoptosis in cancer. *Trends Cancer*. 2017; 3(12): 857-870. doi: 10.1016/j.trecan.2017.10.006

25. Shah SS, Lannon H, Dias L, Zhang JY, Alper SL, Pollak MR, et al. APOL1 kidney risk variants induce cell death via mitochondrial translocation and opening of the mitochondrial permeability transition pore. *J Am Soc Nephrol*. 2019; 30(12): 2355-2368. doi: 10.1681/ASN.2019020114

26. Lee P, Chandel NS, Simon MC. Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020; 21(5): 268-283. doi: 10.1038/s41580-020-0227-y

27. Rambold AS, Pearce EL. Mitochondrial dynamics at the interface of immune cell metabolism and function. *Trends Immunol*. 2018; 39(1): 6-18. doi: 10.1016/j.it.2017.08.006

28. Guntur AR, Gerencser AA, Le PT, DeMambro VE, Bornstein SA, Mookerjee SA, et al. Osteoblast-like MC3T3-E1 cells prefer glycolysis for ATP production but adipocyte-like 3T3-L1 cells prefer

oxidative phosphorylation. *J Bone Miner Res*. 2018; 33(6): 1052-1065. doi: 10.1002/jbmr.3390

29. Dorr BM, Fuerst DE. Enzymatic amidation for industrial applications. *Curr Opin Chem Biol*. 2018; 43: 127-133. doi: 10.1016/j.cbpa.2018.01.008

30. Ishida A, Yamada Y, Kamidate T. Colorimetric method for enzymatic screening assay of ATP using Fe(III)-xylenol orange complex formation. *Anal Bioanal Chem*. 2008; 392(5): 987-994. doi: 10.1007/s00216-008-2334-z

31. Ušaj M, Moretto L, Vemula V, Salhotra A, Månsson A. Single molecule turnover of fluorescent ATP by myosin and actomyosin unveil elusive enzymatic mechanisms. *Commun Biol*. 2021; 4(1): 64. doi: 10.1038/s42003-020-01574-0

32. Vasta JD, Corona CR, Wilkinson J, Zimprich CA, Hartnett JR, Ingold MR, et al. Quantitative, wide-spectrum kinase profiling in live cells for assessing the effect of cellular ATP on target engagement. *Cell Chem Biol*. 2018; 25(2): 206-214.e11. doi: 10.1016/j.chembiol.2017.10.010

33. Mita M, Sugawara I, Harada K, Ito M, Takizawa M, Ishida K, et al. Development of red genetically encoded biosensor for visualization of intracellular glucose dynamics. *Cell Chem Biol*. 2022; 29(1): 98-108.e4. doi: 10.1016/j.chembiol.2021.06.002

34. Mollazadeh H, Tavana E, Fanni G, Bo S, Banach M, Pirro M, et al. Effects of statins on mitochondrial pathways. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2021; 12(2): 237-251. doi: 10.1002/jcsm.12654

35. Vercellino I, Sazanov LA. The assembly, regulation and function of the mitochondrial respiratory chain. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022; 23(2): 141-161. doi: 10.1038/s41580-021-00415-0

36. Ferrari D, Stepczynska A, Los M, Wesselborg S, Schulze-Osthoff K. Differential regulation and ATP requirement for caspase-8 and caspase-3 activation during CD95- and anticancer drug-induced apoptosis. *J Exp Med*. 1998; 188(5): 979-984. doi: 10.1084/jem.188.5.979

37. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 2016: 1245049. doi: 10.1155/2016/1245049

38. Khacho M, Tarabay M, Patten D, Khacho P, MacLaurin JG, Guadagno J, et al. Acidosis overrides oxygen deprivation to maintain mitochondrial function and cell survival. *Nat Commun*. 2014; 5: 3550. doi: 10.1038/ncomms4550

39. Wang M, Ren X, Wang L, Lu X, Han L, Zhang X, et al. A functional analysis of mitochondrial respiratory chain cytochrome bc1 complex in Gaeumannomyces tritici by RNA silencing as a possible target of carabrone. *Mol Plant Pathol*. 2020; 21(12): 1529-1544. doi: 10.1111/mpp.12993

40. Cogliati S, Lorenzi I, Rigoni G, Caicci F, Soriano ME. Regulation of mitochondrial electron transport chain assembly. *J Mol Biol*. 2018; 430(24): 4849-4873. doi: 10.1016/j.jmb.2018.09.016

41. Weinberg SE, Singer BD, Steinert EM, Martinez CA, Mehta MM, Martínez-Reyes I, et al. Mitochondrial complex III is essential for suppressive function of regulatory T cells. *Nature*. 2019; 565(7740): 495-499. doi: 10.1038/s41586-018-0846-z

42. Nesci S, Pagliarani A, Algieri C, Trombetti F. Mitochondrial F-type ATP synthase: Multiple enzyme functions revealed by the membrane-embedded FO structure. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2020; 55(4): 309-321. doi: 10.1080/10409238.2020.1784084

43. Banh RS, Iorio C, Marcotte R, Xu Y, Cojocari D, Rahman AA, et al. PTP1B controls non-mitochondrial oxygen consumption by regulating RNF213 to promote tumour survival during hypoxia. *Nat Cell Biol*. 2016; 18(7): 803-813. doi: 10.1038/ncb3376

44. Baumann K. mtDNA robs nuclear dNTPs. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019; 20(11): 663. doi: 10.1038/s41580-019-0182-7

45. Zhu SC, Chen C, Wu YN, Ahmed M, Kitmitto A, Greenstein AS, et al. Cardiac complex II activity is enhanced by fat and mediates greater mitochondrial oxygen consumption following hypoxic re-oxygenation. *Pflugers Arch*. 2020; 472(3): 367-374. doi: 10.1007/s00424-020-02355-8

46. Gu X, Ma Y, Liu Y, Wan Q. Measurement of mitochondrial respiration in adherent cells by seahorse XF96 cell mito stress test. *STAR Protoc*. 2020; 2(1): 100245. doi: 10.1016/j.xpro.2020.100245

47. Eagleson KL, Villaneuva M, Southern RM, Levitt P. Proteomic and mitochondrial adaptations to early-life stress are distinct in juveniles and adults. *Neurobiol Stress*. 2020; 13: 100251. doi: 10.1016/j.ynstr.2020.100251

48. Nishida M, Yamashita N, Ogawa T, Koseki K, Warabi E, Ohue T, et al. Mitochondrial reactive oxygen species trigger metformin-dependent antitumor immunity via activation of Nrf2/mTORC1/p62 axis in tumor-infiltrating CD8T lymphocytes. *J Immunother Cancer*. 2021; 9(9): e002954. doi: 10.1136/jitc-2021-002954

49. Nishida Y, Nawaz A, Kado T, Takikawa A, Igarashi Y, Onogi Y, et al. Astaxanthin stimulates mitochondrial biogenesis in insulin resistant muscle via activation of AMPK pathway. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2020; 11(1): 241-258. doi: 10.1002/jcsm.12530

50. Панов А.В., Дикалов С.И., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Колесникова Л.И., Колесников С.И. Митохондрии: старение, метаболический синдром и сердечно-сосудистая патология. Становление новой парадигмы. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(4): 33-44. [Panov AV, Dikalov SI, Darenskaya MA, Rychkova LV, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Mitochondria: Aging, metabolic syndrome and cardiovascular diseases. formation of a new paradigm. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(4): 33-44. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2020-5.4.5

51. Boengler K, Kosiol M, Mayr M, Schulz R, Rohrbach S. Mitochondria and ageing: Role in heart, skeletal muscle and adipose tissue. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2017; 8(3): 349-369. doi: 10.1002/jcsm.12178

52. Sanderson TH, Reynolds CA, Kumar R, Przyklenk K, Hüttemann M. Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: Pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation. *Mol Neurobiol*. 2013; 47(1): 9-23. doi: 10.1007/s12035-012-8344-z

53. Koch RE, Josefson CC, Hill GE. Mitochondrial function, ornamentation, and immunocompetence. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2017; 92(3): 1459-1474. doi: 10.1111/brv.12291

54. Zhu X, Liu G, Bu Y, Zhang J, Wang L, Tian Y, et al. *In situ* monitoring of mitochondria regulating cell viability by the RNA-specific fluorescent photosensitizer. *Anal Chem*. 2020; 92(15): 10815-10821. doi: 10.1021/acs.analchem.0c02298

55. Yang J, Chen Z, Liu N, Chen Y. Ribosomal protein L10 in mitochondria serves as a regulator for ROS level in pancreatic cancer cells. *Redox Biol*. 2018; 19: 158-165. doi: 10.1016/j.redox.2018.08.016

56. Jiang X, Wang L, Carroll SL, Chen J, Wang MC, Wang J. Challenges and opportunities for small-molecule fluorescent probes in redox biology applications. *Antioxid Redox Signal*. 2018; 29(6): 518-540. doi: 10.1089/ars.2017.7491

57. Ortega-Villasante C, Burén S, Blázquez-Castro A, Barón-Sola Á, Hernández LE. Fluorescent *in vivo* imaging of reactive

oxygen species and redox potential in plants. *Free Radic Biol Med*. 2018; 122: 202-220. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.005

58. Gotham JP, Li R, Tipple TE, Lancaster JR Jr, Liu T, Li Q. Quantitation of spin probe-detectable oxidants in cells using electron paramagnetic resonance spectroscopy: To probe or to trap? *Free Radic Biol Med*. 2020; 154: 84-94. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.04.020

59. Wanrooij PH, Tran P, Thompson LJ, Carvalho G, Sharma S, Kreisel K, et al. Elimination of rNMPs from mitochondrial DNA has no effect on its stability. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020; 117(25): 14306-14313. doi: 10.1073/pnas.1916851117

60. Chiang JL, Shukla P, Pagidas K, Ahmed NS, Karri S, Gunn DD, et al. Mitochondria in ovarian aging and reproductive longevity. *Ageing Res Rev*. 2020; 63: 101168. doi: 10.1016/j.arr.2020.101168

61. Корепанов В.А., Реброва Т.Ю., Атабеков Т.А., Афанасьев С.А. Возможная роль митохондриальной дисфункции в аритмогенезе при ишемической болезни сердца. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2023; 38(4): 236-242. [Korepanov VA, Rebrova TY, Atabekov TA, Afanasiev SA. Potential role of mitochondrial dysfunction in arrhythmogenesis in coronary artery disease. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2023; 38(4): 236-242. (In Russ.)]. doi: 10.29001/2073-8552-2023-38-4-236-242

62. Kuzheleva EA, Garganeeva AA, Tukish OV, Nesova AK, Golubenko MV, Andreev SL, et al. The role of rs2238296 of the mitochondrial DNA polymerase gamma gene in combination with polymorphic variants of antioxidant defense genes in the development of postinfarction left ventricular aneurysm. *Russian Journal of Genetics*. 2023; 59: 97-103. doi: 10.1134/s1022795423010076

63. Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science*. 2005; 309(5733): 481-484. doi: 10.1126/science.1112125

64. Понасенко А.В., Цепокина А.В., Тхоренко Б.А., Голубенко М.В., Губиева Е.К., Трефилова Л.П. Изменчивость митохондриальной ДНК в развитии атеросклероза и инфаркта миокарда (обзор литературы). *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2018; 7(4S): 75-85. [Ponasenko AV, Tsepokina AV, Tkhorenko BA, Golubenko MV, Gubieva EK, Trephilova LP. Variability of mitochondrial DNA in the development of atherosclerosis and myocardial infarction (a review). *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2018; 7(4S): 75-85. (In Russ.)]. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-4S-75-85

65. Wang J, Balciuniene J, Diaz-Miranda MA, McCormick EM, Aref-Eshghi E, Muir AM, et al. Advanced approach for comprehensive mtDNA genome testing in mitochondrial disease. *Mol Genet Metab*. 2022; 135(1): 93-101. doi: 10.1016/j.ymgme.2021.12.006

66. Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, Abdellatif M, Abdoli A, Abel S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition). *Autophagy*. 2021; 17(1): 1-382. doi: 10.1080/15548627.2020.1797280

67. Li H, Slone J, Fei L, Huang T. Mitochondrial DNA variants and common diseases: A mathematical model for the diversity of age-related mtDNA mutations. *Cells*. 2019; 8(6): 608. doi: 10.3390/cells8060608

68. West AP, Shadel GS. Mitochondrial DNA in innate immune responses and inflammatory pathology. *Nat Rev Immunol*. 2017; 17(6): 363-375. doi: 10.1038/nri.2017.21

69. Carvalho PA, Chiu ML, Kronauge JF, Kawamura M, Jones AG, Holman BL, et al. Subcellular distribution and analysis of technetium-99m-MIBI in isolated perfused rat hearts. *J Nucl Med*. 1992; 33(8): 1516-1522.

70. Backus M, Piwnica-Worms D, Hockett D, Kronauge J, Lieberman M, Ingram P, et al. Microprobe analysis of Tc-MIBI in heart cells: Calculation of mitochondrial membrane potential. *Am J Physiol*. 1993; 265(1 Pt 1): C178-C187. doi: 10.1152/ajpcell.1993.265

71. Kawamoto A, Kato T, Shioi T, Okuda J, Kawashima T, Tamaki Y, et al. Measurement of technetium-99m sestamibi signals in rats administered a mitochondrial uncoupler and in a rat model of heart failure. *PLoS One*. 2015; 10(1): e0117091. doi: 10.1371/journal.pone.0117091

72. Crane P, Laliberté R, Heminway S, Thoolen M, Orlandi C. Effect of mitochondrial viability and metabolism on technetium-99m-sestamibi myocardial retention. *Eur J Nucl Med*. 1993; 20(1): 20-25. doi: 10.1007/BF02261241

73. Hayashi D, Ohshima S, Isobe S, Cheng XW, Unno K, Funahashi H, et al. Increased (99m)Tc-sestamibi washout reflects impaired myocardial contractile and relaxation reserve during dobutamine stress due to mitochondrial dysfunction in dilated cardiomyopathy patients. *J Am Coll Cardiol*. 2013; 61(19): 2007-2017. doi: 10.1016/j.jacc.2013.01.074

74. Tsampasian V, Swift AJ, Assadi H, Chowdhary A, Swoboda P, Sammut E, et al. Myocardial inflammation and energetics by cardiac MRI: A review of emerging techniques. *BMC Med Imaging*. 2021; 21(1): 164. doi: 10.1186/s12880-021-00695-0

75. Meyerspeer M, Boesch C, Cameron D, Dezortová M, Forbes SC, Heerschap A, et al. 31P magnetic resonance spectroscopy in skeletal muscle: Experts' consensus recommendations. *NMR Biomed*. 2020; 34(5): e4246. doi: 10.1002/nbm.4246

76. Holley CT, Long EK, Lindsey ME, McFalls EO, Kelly RF. Recovery of hibernating myocardium: What is the role of surgical revascularization? *J Card Surg*. 2015; 30(2): 224-231. doi: 10.1111/jocs.12477

77. Bøtker HE, Cabrera-Fuentes HA, Ruiz-Meana M, Heusch G, Ovize M. Translational issues for mitoprotective agents as adjunct to reperfusion therapy in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Cell Mol Med*. 2020; 24(5): 2717-2729. doi: 10.1111/jcmm.14953

78. Unno K, Isobe S, Izawa H, Cheng XW, Kobayashi M, Hirashiki A, et al. Relation of functional and morphological changes in mitochondria to myocardial contractile and relaxation reserves in asymptomatic to mildly symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2009; 30(15): 1853-1862. doi: 10.1093/eurheartj/ehp184

79. Афанасьев С.А., Муслимова Э.Ф, Реброва Т.Ю., Цапко Л.П., Керчева М.А., Голубенко М.В. Особенности функционального состояния митохондрий лейкоцитов периферической крови у пациентов с острым инфарктом миокарда. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020; 169(4): 435-437. [Afanas'ev SA, Muslimova EF, Rebrova TY, Tsapko LP, Kercheva MA, Golubenko MV. Peculiarities of the functional state of mitochondria of peripheral blood leukocytes in patients with acute myocardial infarction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2020; 169(4): 435-437. (In Russ.)]. doi: 10.1007/s10517-020-04903-9

80. Tsampasian V, Cameron D, Sobhan R, Bazoukis G, Vassiliou VS. Phosphorus magnetic resonance spectroscopy (31P MRS) and cardiovascular disease: The importance of energy. *Medicina (Kaunas)*. 2023; 59(1): 174. doi: 10.3390/medicina59010174

Сведения об авторах

Гарганеева Алла Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением патологии миокарда, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: aag@cardio-tomsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-9488-6900

Тукиш Ольга Викторовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения патологии миокарда, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: olgatukish@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7661-5808

Кужелева Елена Андреевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения патологии миокарда, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: snigireva1209@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-8070-2234

Муслимова Эльвира Фаритовна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: muslimovef@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-7361-2161

Гуля Марина Олеговна – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отделения рентгеновских и томографических методов диагностики, врач-рентгенолог лаборатории радионуклидных методов исследования, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: mgulyatomsk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5689-9754

Федюнина Вера Александровна – врач-кардиолог, ООО «Медлайт», e-mail: vera-aleksandrovna-1993@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1437-8250

Попов Сергей Валентинович – доктор медицинских наук, академик РАН, директор, Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН», e-mail: psv@cardio-tomsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-9050-4493

Information about the authors

Alla A. Garganeeva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Myocardial Pathology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: aag@cardio-tomsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-9488-6900

Olga V. Tukish – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Myocardial Pathology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: olgatukish@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7661-5808

Elena A. Kuzheleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Myocardial Pathology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: snigireva1209@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-8070-2234

Elvira F. Muslimova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Molecular Cell Pathology and Genodiagnostics, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: muslimovef@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-7361-2161

Marina O. Gulya – Cand. Sc. (Med.), Radiologist at the Laboratory of Radionuclide Research Methods, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: mgulyatomsk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5689-9754

Vera A. Fediunina – Cardiologist, Medlight LLC, e-mail: vera-aleksandrovna-1993@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1437-8250

Sergey V. Popov – Dr. Sc. (Med.), Member of the RAS, Director, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, e-mail: psv@cardio-tomsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-9050-4493

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ
MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

ASSESSMENT OF THE INFLAMMATORY RESPONSE IN CONVALESCENTS OF A NEW CORONAVIRUS INFECTION IN THE CATAMNESIS

Lobova T.G.,
Vitkina T.I.

Vladivostok Branch of the Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Restorative Treatment (Russkaya str. 73G, Vladivostok 690105, Russian Federation)

Corresponding author:
Tatyana G. Lobova,
e-mail: lobova.tg@dvfu.ru

ABSTRACT

Background. *The pathogenetic mechanism of the development of a prolonged systemic inflammatory process in patients who have suffered a new coronavirus infection remains an urgent problem. One of the proposed mechanisms leading to hyperinflammation in COVID-19 is the involvement of the inflammasome of NOD-like receptor protein 3 (NLRP3), gasdermin D protein (GSDMD), which are effector molecules of pyroptosis, in triggering the continuous production of an increased number of inflammatory markers due to activation by the SARS-CoV-2 virus.*
The aim. *To evaluate the inflammatory response in convalescents of a new coronavirus infection in the catamnesis based on the dynamics of pyroptosis, interleukin response and indicators of the vascular link of hemostasis.*
Materials and methods. *The blood of 41 patients in the recovery period was examined; one month, three and six months after the infection. The cellular composition of peripheral blood, the level of ESR, CRP, ferritin, D-dimer were determined by classical methods; and the concentration of interleukins (IL) -1β, IL-6, IL-18, NLRP3 inflammasomes, and gasdermine D (GSDMD) was determined by ELISA methods.*
Results. *It was revealed that for all the parameters studied, there is a slow decrease in the level of values by six months. Despite the improvement in the morphological picture, altered cells are found in the peripheral blood after six months. The levels of GSDMD, platelets, IL-1β, D-dimer, ESR, IL-18, NLRP3 do not reach the values of the control group after six months, which indicates a stable hyperinflammatory response of the immune system.*
Conclusion. *Dysregulation of the NLRP3 inflammasome and gasdermine D can lead to an inadequate immune response of the body to infection, which contributes to the maintenance of the hyperinflammatory process and long-term recovery. Further study of triggers and inducers involved in the pathophysiological processes of inflammation triggered by COVID-19 will allow us to develop an approach to personalized treatment and rehabilitation of patients.*

Key words: *COVID-19, long-term effects, markers of inflammation, NLRP3, gasdermine D*

Received: 20.06.2024
Accepted: 12.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Lobova T.G., Vitkina T.I. Assessment of the inflammatory response in convalescents of a new coronavirus infection in the catamnesis. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 115-122. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.12

ОЦЕНКА ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ У РЕКОНВАЛЕСЦЕНТОВ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В КАТАМНЕЗЕ

Лобова Т.Г.,
Виткина Т.И.

Владивостокский филиал ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения (690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Лобова Татьяна Геннадьевна,
e-mail: lobova.tg@dvfu.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Патогенетический механизм развития продолжительного системного воспалительного процесса у пациентов, перенёсших новую коронавирусную инфекцию, остаётся актуальной проблемой. Один из предполагаемых механизмов, приводящих к гипервоспалению при COVID-19, – это участие инфламмасомы NOD-подобного рецепторного белка 3 (NLRP3, NOD-like receptor protein 3), белка газдермина D (GSDMD, gasdermin D protein), являющихся эффекторными молекулами пироптоза, в запуске непрерывной продукции повышенного количества маркеров воспаления, обусловленном активацией вирусом SARS-CoV-2.*

Цель работы. *Установить особенности воспалительного ответа у пациентов после перенесённого COVID-19 в период от месяца до полугода.*

Материалы и методы. *Исследована кровь 41 пациента, находящегося в периоде выздоровления и через 1, 3 и 6 месяцев после перенесённой инфекции. Классическими методами определяли клеточный состав периферической крови, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), уровни С-реактивного белка, ферритина, D-димера; иммуноферментным анализом – концентрацию интерлейкина (IL) 1β, IL-6, IL-18, инфламмасомы NLRP3, GSDMD.*

Результаты. *Выявлено, что по всем исследуемым параметрам происходит медленное снижение уровня значений к сроку 6 месяцев после перенесённой инфекции. Несмотря на улучшение морфологической картины, в периферической крови спустя 6 месяцев встречаются изменённые клетки. Уровни GSDMD, тромбоцитов, IL-1β, D-димера, СОЭ, IL-18, NLRP3 не приходят к значениям контрольной группы через полгода, что свидетельствует об устойчивом гипервоспалительном ответе иммунной системы.*

Заключение. *Нарушения регуляции инфламмасомы NLRP3 и GSDMD могут приводить к неадекватному иммунному ответу организма на инфекцию, что способствует поддержанию гипервоспалительного процесса и длительному выздоровлению. Дальнейшее изучение триггеров и индукторов, участвующих в патофизиологических процессах воспаления, запускаемых COVID-19, позволит разработать подход к персонифицированному лечению и реабилитации пациентов.*

Ключевые слова: *COVID-19, отдалённые последствия, маркеры воспаления, NLRP3, газдермин D*

Статья получена: 20.06.2024
Статья принята: 12.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Лобова Т.Г., Виткина Т.И. Оценка воспалительной реакции у реконвалесцентов новой коронавирусной инфекции в катамнезе. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 115-122. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.12

INTRODUCTION

The XXI century pandemic caused by SARS-CoV-2 has brought severe consequences for humanity, posing numerous questions to the medical community and is still considered an unresolved global health problem [1–4]. Currently, there is a significant decline in the disease, but the long-term effects of the infection remain a global issue [5, 6]. After recovering from COVID-19, patients are diagnosed with cardiovascular disorders, respiratory failure, and metabolic disorders [7, 8]. These problems have manifested even in patients who had a mild case of the coronavirus. Numerous studies confirm immune system dysfunction even long after recovery [9, 10].

The pathophysiological mechanism of inflammation that persists after recovery cannot be considered separately from the pathogenesis of the novel coronavirus infection. It is associated with a peculiar virus-induced dysregulation of innate and acquired immunity and damage to the vascular endothelium, leading to a hyperinflammatory response. An essential link in the immunopathogenesis of COVID-19 is pyroptosis, caused by stimulation of the inflammasome response, which contributes to excessive release of inflammatory mediators and further activation of innate immune cells [11]. Moreover, immune cells undergoing pyroptosis and secreting proinflammatory interleukins (IL) -1ß, IL-18, and IL-6 can exacerbate lymphocyte dysfunction, contributing to the dysregulation of adaptive immunity [12, 13]. Thus, it can be assumed that the ongoing clinical manifestations after recovery may be associated with the persistence of the proinflammatory profile caused by COVID-19 [14].

The NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome is a protein complex that regulates innate immune responses by activating caspase-1 with further cleavage of gasdermin D with an N-terminal fragment that triggers the production of inflammatory cytokines IL-1ß and IL-18 [15–18]. Numerous studies have demonstrated the importance of the NLRP3 inflammasome in the development of inflammation-related diseases [19–23]. However, at the moment, there are practically no studies devoted to considering the inflammasome-mediated mechanisms of COVID-19 in the long term. The study of markers of inflammation, the inflammasome (NLRP3), and gasdermin D (GSDMD) will allow us to observe the involvement of the body's immune response in the decreed periods of the body's recovery after infection.

The aim of the work was to evaluate the inflammatory response in convalescents of a new coronavirus infection in the catamnesis based on the dynamics of pyroptosis, interleukin response and indicators of the vascular link of hemostasis.

MATERIALS AND METHODS

On the basis of the City Allergo-Respiratory Center of the Vladivostok Polyclinic No. 3, the Far Eastern Federal University Medical Complex, patients were recruited in 2021. The study included 56 people (age 38 ± 5 years). The inclusion criterion for patients was a previous novel coronavirus infection confirmed by a PCR test. Exclusion criteria were the presence of chronic diseases in the acute stage, obesity, diabetes mellitus, oncological diseases, bad habits, and the presence of an acute inflammatory process of a non-infectious nature in patients. The main group (41 people, average age – 42 ± 5 years) included individuals who tested positive for SARS-CoV-2 by PCR, and the disease was mild. The contingent was represented by 12 males (30 %) and 29 females (70 %). One person (2.4 %) had chronic pyelonephritis in remission, two (4.8 %) had chronic pharyngitis, and one (2.4 %) had chronic cystitis. The control group consisted of employees of the medical center who underwent weekly PCR and ELISA examinations for admission to work. The control group consisted of 15 people (average age – 41 ± 5 years) who did not have COVID-19 (confirmed by PCR test, IgG ELISA). The control group included 4 males (26 %) and 11 females (74 %). Chronic diseases in remission: one person (6.6 %) with chronic pharyngitis.

The examination was performed at different time periods: 0 – early (after recovery and confirmation of negative status for SARS-CoV-2), then after 1 month, 3 months, and 6 months. At the first visit, participants filled in a questionnaire, where they gave details of the timing of infection, the conditions under which treatment was received (inpatient or outpatient), a description of their condition (complaints), prescribed medications, allergic reactions, obesity, and diabetes mellitus. Informed consent was obtained from all participants in accordance with the requirements of the Declaration of Helsinki (2013) under a protocol approved by the Biomedical Ethics Committee of the Far Eastern Federal University. Throughout the study period, testing for IgM to SARS-CoV-2 was performed using an enzyme-linked immunosorbent assay with reagent kits (Vector-Best, Russia) using a BEPP 2000 analyzer (Siemens, Germany). Sera that did not contain IgM to SARS-CoV-2 were used in the work.

Biochemical, hematological, and coagulation tests were performed directly on the day of biomaterial collection. For enzyme-linked immunosorbent assays, the selected blood serum was stored at a temperature of minus 80 °C for no more than 3 months. Samples with hemolysis and high lipid content were excluded. The content of hematological parameters of peripheral blood was determined using a Nihon Kohden MEK 6010 analyzer (Japan). The content of ferritin and C-reactive protein (CRP) was determined using Rendox FN3452 and CP 7950 test systems on a Sapfir 500 biochemical analyzer (Japan). Morphological changes in blood cells were determined by microscopic method using Axioscope 5 with magnification ×10; 100. The content of IL-1B, -6, and -18 in peripheral blood serum was determined by ELISA (Vector-Best, Russia). The content of NLRP3 (inflammasome) cytosolic polyprotein complexes was determined using a reagent kit Human NACHT, LRR and PYD Domains-Containing Protein 3 (NLRP3/C1 or f7/CIAS1/NALP3/PYPAF1) (Biomatik ELISA Kit, Israel). And gasdermin D protein (GSDMD) was determined using Human GSDMR Simple Step ELISA Kit (Abcam, UK) by ELISA on a BEP 2000 analyzer (Siemens, Germany).

Ethical review

The clinical study was approved by the Ethics Committee (Protocol No. 15/2021 dated December 27, 2021).

Statistical analysis

Statistical processing was performed using the Statistica 10.0 program (StatSoft, currently maintained by TIBCO Software Inc., USA). Data were presented as median and quartiles. The statistical significance of differences between groups was assessed using the Kruskal – Wallis test. The critical level of significance (p) when testing statistical hypotheses was taken at $p < 0.05$.

RESULTS

In patients who had undergone coronavirus infection in the early period after recovery and confirmation of negative status for SARS-CoV-2, elevated values of a number of indicators were revealed compared to the control group. The level of D-dimer increased by 376 % ($p < 0.001$), CRP – by 292 % ($p < 0.001$), NLRP3 – by 86 % ($p < 0.001$), ESR – by 50 % ($p = 0.022$), and leukocytes – by 39 % ($p = 0.034$). The cytokine status was also characterized by increased levels of indicators: IL-1ß increased by 220 % ($p < 0.001$), IL-18 – by 90 % ($p < 0.001$), and IL-6 by 58 % ($p = 0.004$). This picture may indicate the activation of the inflammasome by the remnants of the virus's vital activity products and the fading inflammatory process in the early stages of recovery.

Changes in the morphology of lymphocytes and monocytes were noted. Lymphocytes with broad cytoplasm containing granules were detected; the nucleus of monocytes acquired irregular shapes, and the cytoplasm contained a large number of vacuoles. Such a morphological picture of immunocompetent cells is characteristic of their active production of cytokines and the absorption of microorganisms by phagocytes, as well as the remnants of the cell mass resulting from pyroptosis (Fig. 1).

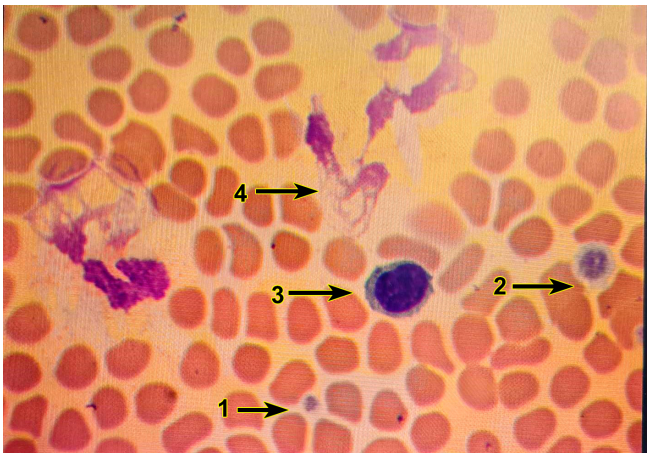


FIG. 1.

*Morphological picture in patients who have undergone a new coronavirus infection; the arrows in the photo show a large platelet (**1**, **2**); broad-plasma granular lymphocyte (**3**), granulocyte residues (**4**); magnification ×1000*

Giant platelets (less mature forms) are often (10–15 cells per 100 leukocytes) found in a stained hematological preparation. Macroplatelets can appear in the peripheral blood as a result of secondary thrombocythemia [8], as a consequence of an infectious disease and the inflammatory process.

The revealed disorders characterize the continuing high intensity of the inflammatory process and indicate the risk of complications during this period.

One month after recovery, a significant decrease in the content of D-dimer (by 31.4 %; $p = 0.004$) in blood plasma in patients who had a coronavirus infection was revealed compared to the previous period, which may be associated with anticoagulant therapy, as well as indicate a decrease in the formation of fibrin clots and their lysis. A decrease in NLRP3 by 56 % ($p = 0.006$), monocytes by 29 % ($p = 0.021$), and, to a lesser extent, leukocytes by 16 % ($p = 0.034$) may indicate a decrease in the activation of the immune system by the SARS-CoV-2 virus. A decrease in platelet levels (by 21 %; $p = 0.019$) during the first month is a positive prognostic sign. However, upon microscopy of a stained peripheral blood preparation, 2–4 % (per 100 leukocytes) of giant platelets are found. The morphological picture in this period continues to maintain similar tendencies with the initial time point, 5–10 % of granular broad-plasma lymphocytes, 3–5 % of destroyed granulocytes.

One month after recovery, patients who had suffered a new coronavirus infection showed a decrease in peripheral blood ESR by 25 % ($p = 0.027$) was revealed, however, a decrease in CRP level by 84 % ($p = 0.003$) is more informative than ESR, since it is a more specific indicator of inflammation, and its production starts earlier and decreases faster. With adequate therapy, the CRP level falls approximately on the 6–10th day, while the ESR falls after 2 weeks or later. Cytokines one month after recovery tend to decrease in peripheral blood: IL-6 – by 55 % ($p = 0.002$), IL-1 – by 40 % ($p = 0.004$), which shows a decrease in inflammation. A slower decrease in IL-18 is observed compared to other studied cytokines – by 16 % ($p = 0.005$). The morphological changes in lymphocytes and platelets observed in the current period most likely indicate this process. Quantitative changes in the studied parameters one month after recovery from the novel coronavirus infection are presented in Figure 2.

The picture of a decrease in markers of inflammation in peripheral blood one month after the period of convalescence indicates a decrease in the inflammatory process, the beginning of the body's recovery after infection. In patients who had a new coronavirus infection, there was a decrease in blood serum by the third month a further decrease, compared to the previous period, by the third month of the NLRP3 level (by 20 %; $p = 0.006$), is also an important indicator characterizing the tendency to decrease the activation of inflammasomes. There is also a decrease in the number of leukocytes by 9.3 % ($p = 0.03$), which indicates a positive dynamic of a decrease in the inflammatory response. The continued decrease in the number of platelets by 29 % ($p = 0.033$) and D-dimer by 43 % ($p = 0.024$) confirms the improvement in thrombodynamics and the reduction of inflammation in the vascular bed.

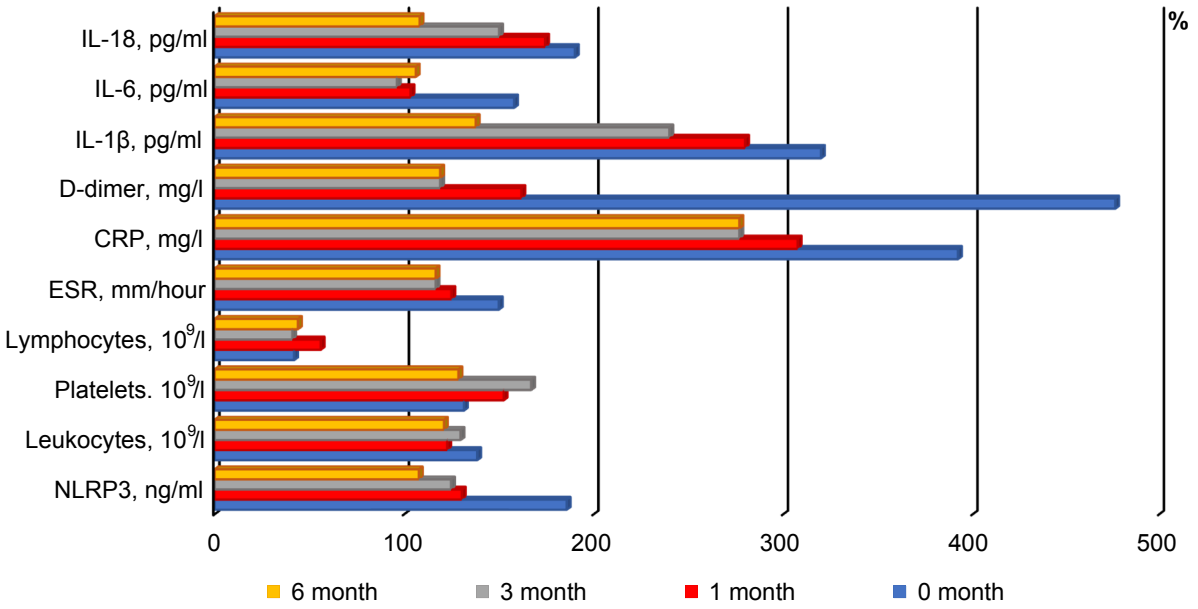


FIG. 2.

Dynamics of peripheral blood parameters after 1, 3 and 6 months; the indicators are presented as a percentage relative to the control group, the parameters of which are taken as 100 %

Other markers of inflammation, such as CRP and ESR, decreased by 31 % ($p = 0.029$) and 25 % ($p = 0.025$), respectively, indicating a decrease in the acuteness of the inflammatory process. This fact is also evidenced by the level of cytokines, which decreased by 7 % ($p = 0.041$) for IL-18, by 40 % ($p = 0.032$) for IL-1ß, and by 24 % ($p = 0.036$) for IL-6, demonstrating a positive trend in the reduction of inflammatory response activity. The dynamics of inflammation markers in this period are shown in Figure 2.

The morphological picture in this recovery period has changed in a positive direction, with granular broad-plasma lymphocytes being less common at 3–6 % per 100 leukocytes, and giant platelets are practically not encountered at 1–3 % per 100. In the third month, there is a continued decrease in inflammatory markers in peripheral blood, with the exception of platelets, which indicates a slower recovery of disorders in the platelet hemostasis link. High hemostasis parameters draw close attention during this period and deserve monitoring and assessment of the risk of thrombosis and disorders of vascular microcirculation in patients.

In patients who had a new coronavirus infection by the sixth month of the recovery period, compared with the previous period, NLRP3 decreased in serum by 17 % ($p = 0.021$), which indicates a decrease in the activation of inflammasomes by pathogens. A 38 % decrease in platelet count ($p = 0.024$) and an 18 % decrease in leukocytes ($p = 0.037$) indicate a reduction in inflammation. At the same time, D-dimer remains at the same level, not reaching the values of the control group, and ESR is at the upper limit of normal. In patients who had a new coronavirus infection, a decrease in the number of cytokines in serum by six months: IL-18 – by 42 % ($p = 0.018$), IL-6 – by 18 % ($p = 0.035$), and IL-1ß – by 17 % ($p = 0.032$) indicates a significant improvement in the recovery process and a subsiding of the inflammation syndrome. The dynamics of indicators are presented in Figure 2.

Despite a significant decrease in inflammation parameters in the first six months from the convalescence period, not all studied inflammation markers reach the level of the control group values, which may indicate an ongoing sluggish inflammation process. One of the significant indicators in the study is gasdermin D. Its dynamics at the decreed periods are presented in Figure 3. After recovery, the level of gasdermin D is high – 752 % ($p < 0.001$) compared to the control group, then there is a decrease in GSDMD one month from the convalescence period by 37 % ($p = 0.004$), three months – by 22 % ($p = 0.011$), six months – by 15 % ($p = 0.026$). The analysis suggests that gasdermin D, along with other markers of inflammation, tended to decrease after 6 months, but at a significantly slower rate.

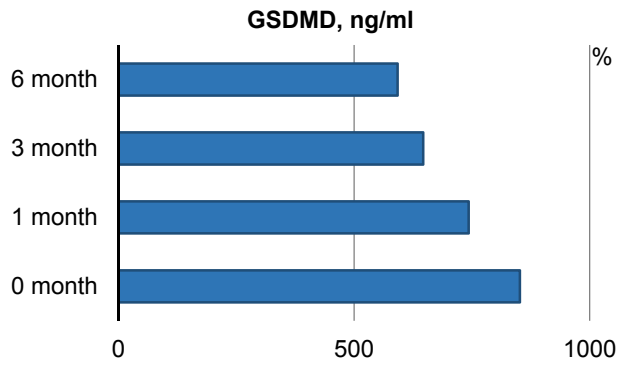


FIG. 3.

Dynamics of gasdermin D in the decreed terms; the indicators are presented as a percentage relative to the control group, the parameters of which are taken as 100 %

As the study showed, indicators such as gasdermin D, IL-1ß, D-dimer, ESR, platelets, and NLRP3 did not reach the level of the control group's values, which characterizes the ongoing process of the body's recovery after infection six months later. The morphological picture in this period has changed in a positive direction, with granular broad-plasma lymphocytes being less common at 1–2 % per 100 leukocytes, and giant platelets are practically not encountered at 0–1 % per 100. Despite the improvement in the morphological picture, the altered cells found in peripheral blood six months after recovery indicate a sluggish inflammation process.

DISCUSSION

According to official statistics, more than 18 million cases of COVID-19 infection have been detected in Russia since the beginning of the pandemic. The consequences of this disease among the population are still making themselves felt. This is due to the fact that COVID-19, unlike "classical" acute respiratory viral infections, is characterized by peculiarities of the course and complications that can affect almost all organs and systems of the human body [23].

Examination of patients at different decreed periods allows us to identify the main markers of inflammation studied in clinical medical practice, determine their significance, and develop tactics for treatment and rehabilitation. In our study, it was found that, mainly for all the studied analytes, there is a slow decrease in the level of parameters by six months, which gives us an idea of the dynamics of the body's recovery. However, not all parameters reached the values of the control group. This poses a certain threat to health and requires adequate therapeutic correction and dynamic control.

The NLRP3 inflammasome is involved in the formation of pathological processes based on an inflammatory reaction. The mechanism of NLRP3 inflammasome activation is closely related to the GSDMD protein. Recent studies have shown that signaling pathways associated with NLRP3 activation affect the production of a large number of cytokines, which further forms hyperinflammation and leads to an imbalance of innate and acquired immunity.

GSDMD is an important mediator of the body's defense against microbial infection and danger signals. The pore-forming activity of the N-terminal cleavage product causes cell swelling and lysis, causing cell pyroptosis. As a result of cell death, the reproduction of intracellular pathogens is prevented, but at the same time, the cytoplasmic contents – the inflammatory interleukin-1, are released into the extracellular space to attract and activate immune cells to the site of infection. The proposed pathophysiological mechanism is schematically presented in Figure 4.

IL-18, synthesized by monocytes and macrophages, can significantly increase the production of IFN-γ and increase the activity of NK lymphocytes. COVID-19 in the acute period is characterized by an increase in the above markers, which is reflected in a number of publications [15, 17]. Our study demonstrated a slow, uneven attenuation of this process for almost 6 months after the disease, but the pyroptotic process, as the data analysis shows, continues to remain at a fairly high level.

Leukocytes play a significant role in the "utilization" of the virus and the products of its vital activity, and actively respond to inflammasome signals, which cannot but affect their morphofunctional picture detected by microscopy of peripheral blood smears, as shown in the photo. Morphofunctional disorders are observed for a long time, up to six months after recovery from the novel coronavirus infection, which suggests a long-term multiorgan inflammatory process mediated by an imbalance in the immune system response.

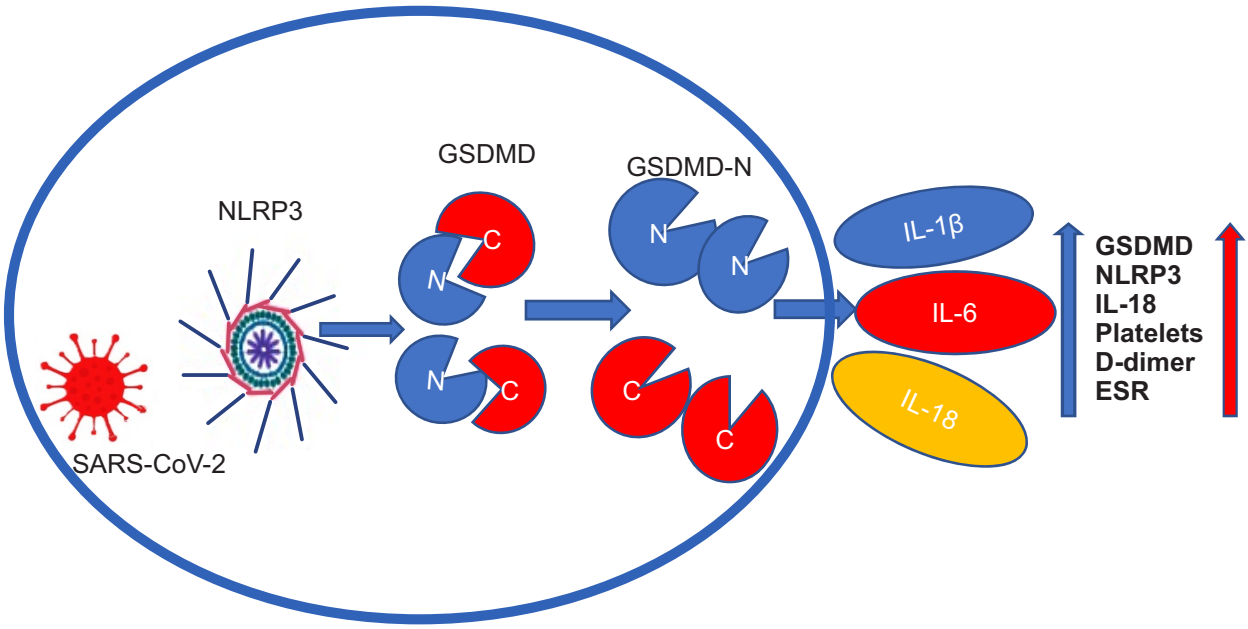


FIG. 4.
Diagram of the pathogenetic mechanism of cytokine formation affecting the content of inflammatory markers

A meta-analysis of 11 large clinical trials was published in a scientific article in March 2023. Four hundred fifty thousand patients out of 5 million participants had cardiovascular complications. The incidence of cardiovascular complications is 2.3 times higher in individuals with long-term COVID-19 compared with those in the control group [24]. Numerous scientific studies demonstrate to us that inflammasomes and pyroptosis contribute to the progression of inflammatory diseases, metabolic disorders, including those associated with damage to the vascular link of the hemostasis. The mechanisms of these associations require further clarification.

Thus, despite a gradual decrease in inflammatory markers, the value of a number of studied parameters, such as GSDMD, platelets, IL-1ß, D-dimer, ESR, IL-18, and NLRP3, does not reach the level of the control group by the sixth month, which indicates a stable hyperinflammatory response of the immune system, requiring further study of triggers and inducers involved in the pathophysiological processes of inflammation triggered by this infection. Monitoring these indicators makes it possible to assess the immune system's response at different periods of recovery after a novel coronavirus infection and to carry out prognostic and preventive measures in terms of improving the algorithm for the management of convalescents of a new coronavirus infection, prevention of post-COVID syndrome and complications from the cardiovascular system.

The limitation of the study is the relatively small sample size. A positive point is a comprehensive assessment of the inflammatory process with the involvement of highly specific markers of the inflammasome-mediated inflammation process.

CONCLUSION

The study shows the dynamics of the inflammatory process, accompanied by morphological and coagulation disorders, and highlights the significant role of the inflammasome-mediated component in the formation of a long-term immune response in patients who have undergone a novel coronavirus infection. Activation of NLRP3 by the SARS-CoV-2 virus, the critical role of GSDMD in pore formation during pyroptosis, and the secretion of large amounts of cytokines as a consequence of the above processes open up new opportunities for the future development of drugs aimed at blocking GSDMD and the NLRP3-mediated immune response, preventing the consequences of the novel coronavirus infection.

Conflict of interest

The authors declare that the presented article, its topic, subject, and content do not affect competing interests.

REFERENCES

1. De Wit E, Van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: Recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2016; 14(8): 523-534. doi: 10.1038/nrmicro.2016.81

2. Yong SJ. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: Putative pathophysiology, risk factors, and treatments. *Infect Dis (Lond)*. 2021; 53(10): 737–754. doi: 10.1080/23744235.2021.1924397

3. Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI, El-Bouseary MM, Sonbol FI, Batiha GE. Hyperviscosity syndrome in COVID-19 and related vaccines: Exploring of uncertainties. *Clin Exp Med*. 2023; 23(3): 679-688. doi: 10.1007/s10238-022-00836-x

4. Rychkova LV, Darenskaya MA, Petrova AG, Semenova NV, Moskaleva EV, Kolesnikov SI, et al. The relationship of individual indicators of immune status with the activity of the "lipoperoxidation — antioxidant protection" system in newborns with COVID-19. *Infection and Immunity*. 2023; 13(3): 497-505. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-ARB-8057

5. Shchelkanov MYu, Kolobukhina LV, Burgasova OA, Kruzhkova IS, Maleev VV. COVID-19: Etiology, clinical picture, treatment. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2020; 10(3): 421-445. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-CEC-1473

6. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents*. 2020; 55(3): 105924. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924

7. Batiha GES, Al-kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Welson NN. Pathophysiology of post-COVID syndromes: A new perspective. *Virol J*. 2022; 19(1): 158. doi: 10.1186/s12985-022-01891-2

8. Shuwa HA, Shaw TN, Knight SB, Wemyss K, McClure FA, Pearmain L, et al. Alterations in T and B cell function persist in convalescent COVID-19 patients. *Med*. 2021; 2(6): 720-735.e4. doi: 10.1016/j.medj.2021.03.013

9. Cherevikova IA, Tkachuk EA, Polyakov VM, Vasilyeva NS, Prokhorova ZhV, Votineva AS, et al. Assessment of consequences of COVID-19 in adolescents by the method of questionnaire. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(6): 223-233. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2023-8.6.22

10. Abadier M, Pramod AB, McArdle S, Markey A, Fan Z, Gutierrez E, et al. Effector and regulatory T cells twist at high shear stress due to induced tether and sling formation. *Cell Rep*. 2017; 21(13): 3885-3899. doi: 10.1016/j.celrep.2017.11.099

11. Williams EJ, Negewo NA, Baines KJ. Role of the NLRP3 inflammasome in asthma: Relationship with neutrophilic inflammation, obesity, and therapeutic options. *J Allergy Clin Immunol*. 2021; 147(6): 2060-2062. doi: 10.1016/j.jaci.2021.04.022

12. Freidlin IS. The relationship between innate and adaptive immunity in infections (revision of the classical dogma). *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2011; 1(3): 199-206. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-2011-3-199-206

13. Nuzzo D, Picone P. Potential neurological effects of severe COVID-19 infection. *Neurosc Res*. 2020; 158: 1-5. doi: 10.1016/j.neures. 2020.06.009

14. Liao B, Liu Z, Tang L, Li L, Gan Q, Shi H, et al. Longitudinal clinical and radiographic evaluation reveals interleukin-6 as an indicator of persistent pulmonary injury in COVID-19. *Int J Med Sci*. 2021; 18(1): 29-41. doi: 10.7150/ijms.49728

15. Gagarina EE, Martynova EV, Ivanov KI. Inflammasomes: The role in the pathogenesis of diseases and therapeutic potential. *Scientific Notes of Kazan University. The Natural Sciences Series*. 2020; 162(1): 80-111. (In Russ.). doi: 10.26907/2542-064X.2020.1.80-111

16. Liu X, Zhang Z, Ruan J, Pan W, Magupalli VG, Wu H, et al. The gasdermine D activated by the inflammasome causes pyrop-

tosis due to the formation of pores in the membrane. *Nature*. 2016; 535(7610): 153-158. doi: 10.1038/nature18629

17. Vitkina TI, Lobova TG, Bogomaz TT, Korableva EV. Inflammasome-mediated mechanisms of systemic inflammation in COVID-19 and asthma. *Russian Open Medical Journal*. 2024; 13(2): e0201. doi: 10.15275/rusomj.2024.0201

18. Que X, Zheng S, Song Q, Pei H, Zhang P. Fantastic voyage: The journey of NLRP3 inflammasome activation. *Genes Dis*. 2023; 11(2): 819-829. doi: 10.1016/j.gendis.2023.01.009

19. Low RN, Low RJ, Akrami A. A review of cytokine-based pathophysiology of Long COVID symptoms. *Front Med (Lausanne)*. 2023; 10: 1011936. doi: 10.3389/fmed.2023.1011936

20. Pinkerton JW, Kim RY, Robertson AAB, Hirota JA, Wood LG, Knight DA, et al. Lung inflammasomes. *Mol Immunol*. 2017; 86: 44-55. doi: 10.1016/j.molimm.2017.01.014

21. Sun R, Hedl M, Abraham C. IL23 induces IL23R recycling and amplifies innate receptor-induced signalling and cytokines in human macrophages, and the IBD-protective IL23R R381Q variant modulates these outcomes. *Gut*. 2020; 69(2): 264-273. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316830

22. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, et al. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010; 464(7285): 104-107. doi: 10.1038/nature08780

23. de Sa KSG, Amaral LA, Rodrigues TS, Ishimoto AY, de Andrade WAC, de Almeida L, et al. Gasdermin-D activation promotes NLRP3 activation and host resistance to Leishmania infection. *Nat Commun*. 2023; 14(1): 1049. doi: 10.1038/s41467-023-36626-6

24. Lee J, Kothari A, Bhatt G, Gupta N, Ali AE, Najam N, et al. Cardiac complications among Long Covid patients: A systematic review and meta-analysis. *JACC: Journal of the American College of Cardiology*. 2023; 81(8 suppl): 2115. doi: 10.1016/S0735-1097(23)02559-7

Information about the authors

Tatyana G. Lobova – Postgraduate, Vladivostok Branch of the Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Restorative Treatment, e-mail: tash30@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1721-6548

Tatyana I. Vitkina – Dr. Sc. (Biol.), Professor of the RAS, Head of the Laboratory of Medical Ecology and Recreational Resources, Leading Research Officer at the Laboratory of Biomedical Research, Vladivostok Branch of the Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Restorative Treatment, e-mail: lobova.tg@dvfu.ru, https://orcid.org/0000-0002-1009-9011

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА КИСЛОЙ СФИНГОМИЕЛИНАЗЫ НА ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС, КОНЕЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ГЛИКИРОВАНИЯ И МИОЗИНОВЫЙ ФЕНОТИП КАМБАЛОВИДНОЙ МЫШЦЫ КРЫС В УСЛОВИЯХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ

Протопопов В.А.,
Секунов А.В.,
Мугизов А.М.,
Свидерский И.В.,
Брындина И.Г.

ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (426056, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Секунов Алексей Васильевич,
e-mail: alexeisekunov@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Функциональная разгрузка постуральных мышц сопровождается трансформацией мышечного фенотипа в сторону экспрессии «быстрых» изоформ тяжёлых цепей миозина (MyHC, myosin heavy chains), а также увеличением активности кислой сфингомиелиназы (ASM, acid sphingomyelinase), содержания церамидов, активных форм кислорода (АФК) и конечных продуктов гликирования (КПГ). Однако взаимосвязь сфинголипидных механизмов с регуляцией КПГ-ассоциированных процессов и пластичностью мышц до настоящего времени остаётся неизученной.*

Цель исследования. *Определить взаимосвязь кислой сфингомиелиназы и церамид-ассоциированного увеличения активных форм кислорода с зависимым от конечных продуктов гликирования путём регуляции экспрессии различных изоформ тяжёлых цепей миозина при 7-дневной функциональной разгрузке m. soleus крыс, а также оценить эффективность препарата группы FIASMA в предотвращении изменения мышечного фенотипа.*

Методы. *Белых крыс-самцов подвергали 7-дневному антиортостатическому вывешиванию (АОВ) с предварительным введением амитриптилина. В полученных m. soleus посредством флуоресцентной микроскопии исследовали уровни ASM, церамида, изоформ MyHC, АФК, NADPH-оксидазы 2 (NOX2, NADPH oxidase 2), MyoD1 (myoblast determination protein 1), КПГ и рецепторов КПГ (RAGE, receptor for advanced glycation end-products). Вестерн-блоттинг использовали для определения NOX2, RAGE и КПГ-модифицированных белков в гомогенатах тканей. В модели ex vivo посредством инкубации мышцы с экзогенными КПГ изучали изменения MyoD1 в миоядрах.*

Результаты. *Функциональная разгрузка привела к уменьшению массы и диаметра m. soleus, трансформации миозинового фенотипа, росту уровней ASM, церамида, АФК, NOX2, КПГ, RAGE и ядерного MyoD. При этом уровни NOX2 и КПГ-модифицированных белков остались без изменений. Применение амитриптилина частично нивелировало потерю массы мышц и уменьшение диаметра мышечных волокон, снижая при этом соотношение «быстрых» волокон к «медленным». Также применение амитриптилина уменьшало уровни ASM, церамида, АФК, RAGE и MyoD1. Инкубация мышц с экзогенным КПГ приводила к увеличению MyoD1 в области миоядер.*

Выводы. *Активация ASM на фоне разгрузки может способствовать MyoD1-ассоциированной трансформации изоформ MyHC посредством увеличения АФК, способствующих стимуляции сигнальных путей RAGE.*

Ключевые слова: *функциональная разгрузка, кислая сфингомиелиназа, конечные продукты гликирования, окислительный стресс, мышечный фенотип, MyoD, амитриптилин*

Для цитирования: Протопопов В.А., Секунов А.В., Мугизов А.М., Свидерский И.В., Брындина И.Г. Влияние ингибитора кислой сфингомиелиназы на окислительный стресс, конечные продукты гликирования и миозиновый фенотип камбаловидной мышцы крыс в условиях функциональной разгрузки. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 123-135. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.13

Статья поступила: 24.07.2024
Статья принята: 29.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

THE EFFECT OF ACID SPHINGOMYELINASE INHIBITOR ON OXIDATIVE STRESS, ADVANCE GLYCATION END PRODUCTS AND MYOSIN PHENOTYPE OF RAT SOLEUS MUSCLE UNDER CONDITIONS OF FUNCTIONAL UNLOADING

Protopopov V.A.,
Sekunov A.V.,
Mugizov A.M.,
Svidersky I.V.,
Bryndina I.G.

Izhevsk State Medical Academy
(Kommunarov str. 281, Izhevsk 426056,
Russian Federation)

Corresponding author:
Alexey A. Sekunov,
e-mail: alexeisekunov@yandex.ru

ABSTRACT

Introduction. *Functional unloading of muscles is accompanied by slow-to-fast transformation of muscle myosin phenotype, an increase in acid sphingomyelinase (ASM) activity, ceramide, reactive oxygen species (ROS), and advanced glycation end products (AGEs). The association of sphingolipids, AGEs-associated processes and muscle plasticity has not been studied.*

The aim. *To assess the relationship of ASM and ceramide-associated increase in ROS to the AGEs-dependent pathway regulating the expression of various myosin heavy chains (MyHC) isoforms during 7-day functional unloading of rat m. soleus, and to evaluate the efficacy of the FIASMA drug in preventing muscle phenotype change.*

Methods. *White male rats were subjected to 7-day hindlimb suspension (HS) combined with administration of the acid sphingomyelinase inhibitor amitriptyline. Fluorescence microscopy was used to detect the levels of ASM, ceramide, MyHC isoforms, ROS, NADPH oxidase 2 (NOX2), MyoD1 (myoblast determination protein 1), AGEs and their receptors (RAGE, receptor for advanced glycation end-products) in the soleus muscle. Western blotting was used for detection of NOX2, RAGE and AGEs-modified proteins in muscle homogenates. The changes in MyoD1 level in myonuclei were studied ex vivo by incubating the muscle with exogenous AGEs.*

Results. *Unloading led to a decrease in the muscle mass and fiber diameter, transformation of myosin phenotype, an increase in ASM, ceramide, ROS, NOX2, AGEs, RAGE and nuclear MyoD1 content. NOX2 and AGEs-modified proteins did not change. Amitriptyline mitigated the loss of muscle mass and fiber diameter reduction, decreased fast to slow shift. It also decreased ASM, ceramide, ROS, RAGE, and mionuclear MyoD1. Muscle incubation with exogenous AGEs increased in MyoD1 in myonuclei.*

Conclusion. *ASM activation during soleus muscle unloading contributes to the MyoD1-related slow-to-fast myosin transformation associated with ROS overproduction and RAGE signaling.*

Key words: *functional unloading, acid sphingomyelinase, advanced glycation end products, oxidative stress, muscle phenotype, MyoD, amitriptyline*

Received: 24.07.2024
Accepted: 29.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Protopopov V.A., Sekunov A.V., Mugizov A.M., Svidersky I.V., Bryndina I.G. The effect of acid sphingomyelinase inhibitor on oxidative stress, advance glycation end products and myosin phenotype of rat soleus muscle under conditions of functional unloading. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 123-135. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.13

ВВЕДЕНИЕ

Функциональная разгрузка постуральных мышц – одно из базовых состояний в патологии гравитационно-зависимых систем организма [1]. Данное состояние непосредственно связано с неиспользованием (disuse) скелетной мускулатуры и наиболее часто встречается при воздействии на организм космической микрогравитации и условий длительного нахождения на постельном режиме по причине травм, соматических или неврологических заболеваний [2].

Известно, что при функциональной разгрузке молекулярные изменения в мышечном волокне могут затрагивать анаболические и катаболические сигнальные пути, а также за счёт различных механизмов реализовать сдвиги мышечного фенотипа [3]. Ранее мы показали, что сфинголипидный сигналинг может играть значительную роль в изменении мышечного фенотипа при функциональной разгрузке [4]. В частности, было установлено, что использование препарата из группы функциональных ингибиторов кислой сфингомиелиназы (FIASMA) эффективно предотвращает избыточное накопление церамида в *m. soleus* и частично уменьшает перестройку регуляции экспрессии тяжёлых цепей миозина (MyHC, myosin heavy chains) в сторону «быстрых» изоформ. Кислая сфингомиелиназа (ASM, acid sphingomyelinase) и продукты её активации также способны влиять и на ряд других процессов в мышечном волокне, характерных для функциональной разгрузки [5]. Также ранее мы показали, что сфингомиелиназа может индуцировать быстрый прирост активных форм кислорода (АФК) в скелетных мышцах, а её ингибитор амитриптилин предотвращает прирост АФК и их прооксидантного источника НАДФН-оксидазы 2 (NOX2, NADPH oxidase 2) на фоне функциональной разгрузки камбаловидных мышц в течение двух недель. В свою очередь, связанный с АФК окислительный стресс способен индуцировать в мышечном волокне изменения, ассоциированные с энергетическим обменом, повреждением биомембран и клеточной гибелью [6].

С другой стороны, установлено, что механизмы развития окислительного стресса, а также экспрессии MyHC в скелетных мышцах и миобластах могут контролироваться посредством сигнальных путей конечных продуктов гликирования (КПГ) и их рецепторов (RAGE, receptor for advanced glycation end-products) [7]. КПГ представляют собой гетерогенную группу соединений – белков, липидов или ДНК, неферментативным путём связанных с глюкозой или другими сахарами и их производными (метилглиоксаль, ацетальдегид и др.) [8]. Существует несколько путей образования КПГ: реакции Майяра, полиоловый путь и перекисное окисление липидов. Роль КПГ и их рецепторов неоднократно обсуждалась в аспекте патогенеза дисфункций скелетных мышц, в частности при сахарном диабете [9]. Ещё одной мишенью сигналинга КПГ/RAGE являются провоспалительные механизмы, ассоциированные с активацией ядерного фактора каппа B (NF-κB, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), а также экспрессии некоторых цитокинов. В одной из недавних работ было показано, что последствия разгрузки скелетных мышц мышей в течение 14 дней могут быть частично предотвращены посредством применения ингибитора рецепторов RAGE [10]. Работа авторов была посвящена в основном исследованию механизмов, связанных с воспалительными процессами, в то же время механизмы развития окислительного стресса, который может способствовать как образованию КПГ, так и увеличению экспрессии RAGE, при этом не изучались.

В контексте мышечной пластичности особенно интересен RAGE-активируемый путь p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase) через Cdc42/Rac1/MKK6. Данный сигнальный путь непосредственно влияет на экспрессию миогенного транскрипционного фактора MyoD (myoblast determination protein), связанного с регуляцией MyHC в процессе дифференцировки мышечного волокна [11].

Учитывая ранее полученные нами данные о предотвращении генерации АФК посредством ингибирования ASM [12], а также роль АФК в стимуляции образования КПГ и усилении экспрессии RAGE, мы предположили, что данные процессы могут быть взаимосвязаны и в условиях бездействия скелетных мышц включаться в патогенез атрофии и изменений мышечного фенотипа.

Результаты исследования могут быть полезны для разработки эффективных методов профилактики и терапии атрофии и дисфункции мышц у пациентов с травмами и другими заболеваниями, находящихся на длительном постельном режиме, а также у космонавтов при продолжительных космических полётах.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить взаимосвязь кислой сфингомиелиназы и церамид-ассоциированного увеличения активных форм кислорода с зависимым от конечных продуктов гликирования путём регуляции экспрессии различных изоформ тяжёлых цепей миозина при 7-дневной функциональной разгрузке *m. soleus* крыс, а также оценить эффективность препарата группы FIASMA в предотвращении изменения мышечного фенотипа.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные и экспериментальный протокол

Эксперименты проводились на самцах крыс линии Wistar массой 200–250 г. Мышечная разгрузка моделировалась по модели разгрузки задних конечностей (HS, hindlimb suspension) Новикова – Ильина в модификации Morey – Holton. Животные подвергались антиортостатическому вывешиванию (АОВ) под углом 30° в течение 7 дней со свободным доступом к воде и пище, а также со свободным передвижением по клетке. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 685/1 от 10.03.2020). Эксперименты проводились в соответствии с правилами работы с экспериментальными животными (Приложение к Приказу Минздрава

РФ № 267 от 19.06.2003). Для воздействия на ASM использовался препарат группы FIASMA амитриптилин (ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия), который вводили животным с питьём в растворе (250 мг/л) в течение 7 дней до начала HS и на протяжении всего эксперимента.

Все животные были разделены на четыре группы: 1) виварный контроль (Cntr; $n = 6$); 2) HS в течение 7 дней (7d HS; $n = 6$); 3) HS на фоне применения амитриптилина (7d HS + AMI; $n = 6$); 4) группа, в которой исследования проводили *ex vivo* на *m. soleus*, полученных от интактных крыс ($n = 4$). После окончания эксперимента всех животных наркотизировали внутрибрюшинно тилетамином и золазепамом (Золетил, Вирбак, Франция, 10 мг/кг 0,1 мл), извлекали *m. soleus*, после чего сразу декапитировали. Для иммуногистохимического исследования мышечный биоматериал подвергали шоковой заморозке через мультипоровый криовиал в атмосфере жидкого азота [13]. Для иммуноблоттинга биоматериал сортировали в отдельные эппендорфы и замораживали. Все приготовленные образцы ткани хранили при –80 °C.

Для оценки атрофии фиксировали отношение массы *m. soleus* к массе тела животного, а также проводили измерения диаметра мышечных волокон на поперечных срезах, меченных антителами к мембранному маркеру кавеолину-3.

Флуоресцентные исследования

Для оценки иммунофлуоресценции изготавливали серийные срезы *m. soleus* толщиной 14 мкм на микротоме HM525 NX Cryostat (Thermo Fisher Scientific, США). Срезы фиксировали 4%-м параформальдегидом в течение 15 мин и пермеабилизировали с 1%-м Тритотоном-X100 и 5%-м бычьим сывороточным альбумином (BSA, bovine serum albumin). Срезы инкубировали в течение ночи при 4 °C, используя первичные антитела к церамиду (mouse IgG, 1:300; Enzo Life Sciences Inc., США), антитела к кислой сфингомиелиназе (rabbit IgG, 1:200$ Affinity Biosciences, США), антитела к «быстрым» (rabbit IgG, 1:200; Abcam, Великобритания) и «медленным» (mouse IgG, 1:200; Abcam, Великобритания) изоформам MyHC, антитела к КПГ (mouse IgG; Cloud-Clone Corp., США), RAGE (rabbit IgG, 1:200; Affinity Biosciences, США), кавеолину-3 (rabbit IgG, 1:200; Affinity Biosciences, США) и MyoD1 (rabbit IgG, 1:200; Affinity Biosciences, США). После инкубации срезы промывали и наносили соответствующие вторичные антитела Alexa Fluor 647 (goat anti-mouse IgG, 1:300; Abcam, Великобритания) или Alexa Fluor 488 (goat anti-rabbit IgG, 1:300; Abcam, Великобритания) на 45 мин при 37 °C.

Исследование АФК проводили с использованием H2DCFDA (2′,7′-дихлородигидрофлуоресцеин диацетат; Lumiprobe, Россия), как было показано ранее [12]. Реактив наносили на криосекции мышечной ткани в концентрации 10 μM и инкубировали в течение 30 минут без доступа к свету с последующей флуоресцентной микроскопией.

Для исследования *ex vivo m. soleus* одной из конечностей каждой из крыс инкубировали с экзогенным AGE-BSA, *m. soleus* второй конечности служила контролем и инкубировалась в буферном растворе без добавления AGE-BSA. AGE-BSA изготавливали заранее путём инкубации BSA (50 мг/мл) с 0,5 М глюкозой в 0,2 М фосфатном буфере в течение 4 дней при 50 °C в стерильных условиях. Извлечённые мышцы одной из конечностей каждой из крыс помещали в камеру с буфером (NaCl 137 мМ; KCl 5 мМ; $CaCl_2$ 2 мМ; $MgCl_2$ 2 мМ; $NaHCO_3$ 24 мМ; NaH_2PO_4 1 мМ; глюкоза 11 мМ; pH = 7,4) с добавлением AGE-BSA (16 мкг/мл); мышцу другой конечности инкубировали в том же буфере без добавления AGE-BSA в течение 2 ч. После инкубации мышцы фиксировали в растворе 4%-го параформальдегида в течение 1 ч, отмывали в физиологическом растворе и инкубировали с первичными поликлональными антителами к MyoD1 (rabbit IgG, 1:1000; Affinity Biosciences, США) в течение ночи при 4 °C. Вторичные антитела Fluor 647 (goat anti-rabbit IgG, 1:300; Affinity Biosciences, США) наносили на 60 мин при 37 °C. Ядра окрашивали с помощью красителя DAPI.

Флуоресцентный сигнал детектировали с помощью микроскопа Nikon Eclipce E200 (Nikon Corporation, Япония), оснащённого EF-2E эпифлуоресцентной насадкой и цифровой RGB-камерой высокого разрешения Nikon серии DS-FI3 (Nikon Corporation, Япония). Результаты оценки и обработки флуоресцентного сигнала представлены в условных единицах (у. е.), формируемых программным обеспечением Fiji на основании преобразования показателей количества и яркости пикселей в изображении.

Вестерн-блоттинг

Количественную оценку компонентов окислительного стресса и сигналинга КПГ производили методом иммуноблоттинга. В пробах белок выравнивали относительно его концентраций, рассчитанных по общепринятому методу Бредфорда. Разделение белков проводили с использованием электрофореза в градиентном (4–12 %) SDS-полиакриламидном геле (SDS-PAGE, sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis). Перенос на нитроцеллюлозные мембраны оценивали посредством окраски Ponceau S. Полученные мембраны инкубировали с первичными антителами к NOX2 (rabbit IgG, 1:1000; Affinity Biosciences, США), КПГ и RAGE (rabbit IgG, 1:1000; Affinity Biosciences, США) в течение ночи при 4 °C. Вторичные антивидовые антитела с пероксидазной меткой (goat anti-rabbit IgG, 1:500; Abcam, Великобритания) наносили на нитроцеллюлозные мембраны и инкубировали в течение 1 ч при 37 °C. Проявляли полосы с помощью диаминбензидиновой реакции. Цифровые изображения анализировали в программе ImageLab Software (Bio-Rad, США), и представляли результаты в виде условных единиц, преобразованных программным обеспечением на основании градиента серого цвета.

Статистическая обработка

Статистическая обработка результатов производилась методом вариационной статистики на языке программирования Python (v. 3.12). Оценка статистической значимости различий между группами проводилась посредством непараметрических методов. Для сравнения данных, полученных от трёх групп, применялся критерий Краскела – Уоллиса, для уточнения парных межгрупповых различий применялся метод парной оценки

Манна – Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные иммунофлуоресценции и иммуноблоттинга были представлены в виде медианы и значений 1-го и 3-го квартилей (Q1; Q3).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка массы камбаловидных мышц и диаметра мышечных волокон при 7-дневной функциональной разгрузке

Анализ диаметра Ферета мышечных волокон, а также измерение относительной массы мышц проводились нами для оценки степени атрофии мышц при 7-дневной функциональной разгрузке и эффектов влияния блокатора кислой сфингомиелиназы.

В группе 7-дневной разгрузки как относительная масса мышц, так и диаметр мышечных волокон имели более низкие значения по сравнению с группой контроля ($p = 0,002$). На фоне применения амитриптилина, напротив, масса мышц увеличивалась в сравнении с группой разгрузки без препарата ($p = 0,026$). Подобная тенденция к увеличению также была обнаружена нами при исследовании диаметра мышечных волокон, который уменьшался при АОВ ($p = 0,008$), однако в данном случае статистически значимых изменений в группе разгрузки на фоне введения амитриптилина по сравнению с группой разгрузки без препарата обнаружено не было. В то же время статистически значимых различий в группе применения амитриптилина на фоне вывешивания также не наблюдалось и при сравнении с контрольными животными (рис. 1).

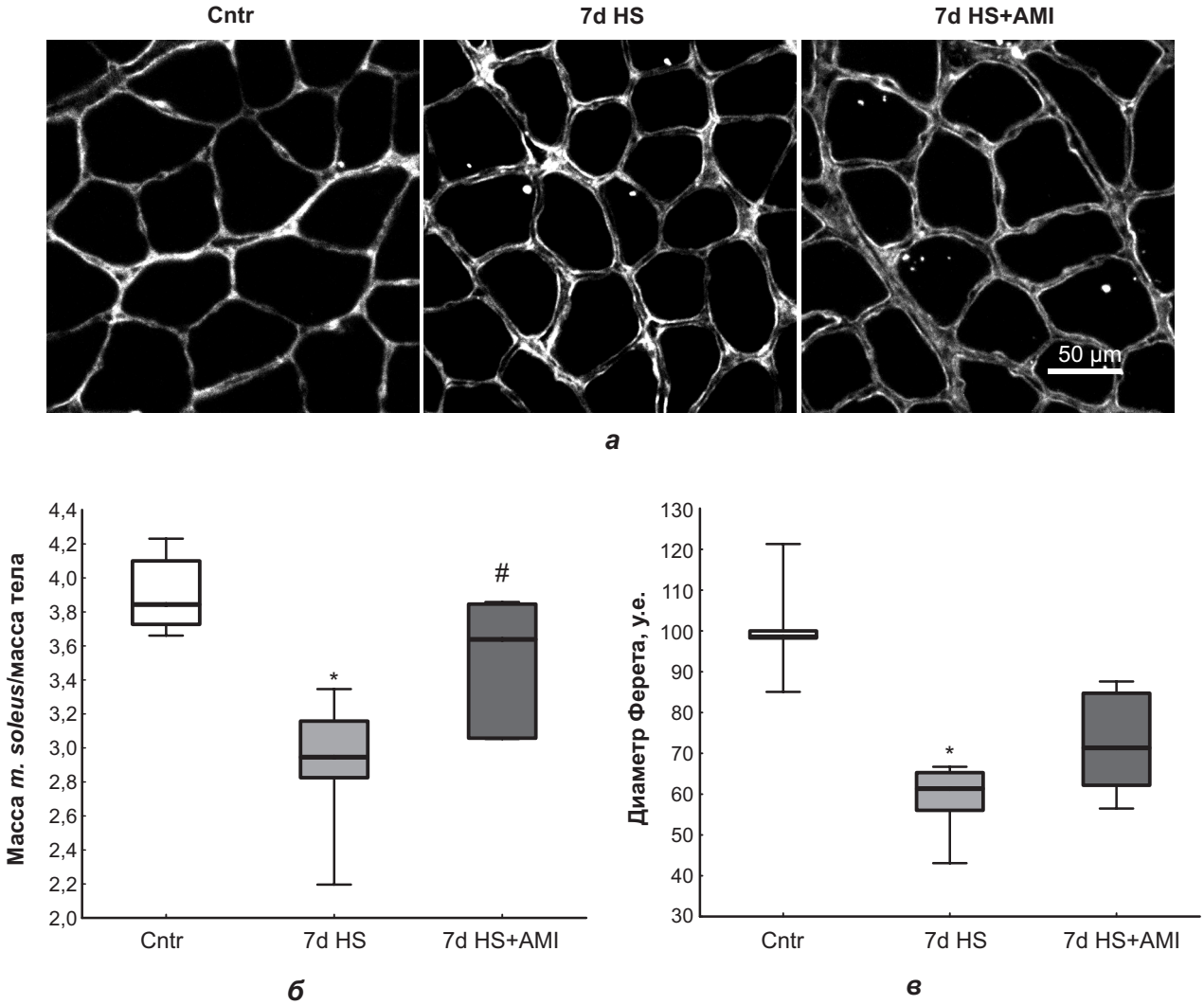


РИС 1.

*Относительная масса m. soleus крыс и диаметр Ферета мышечных волокон при 7-дневной функциональной разгрузке без введения амитриптилина (7d HS) и на фоне его применения (7d HS + AMI): Cntr – контроль; * – различия статистически значимы при $p < 0,05$ в сравнении с контролем; # – различия статистически значимы при $p < 0,05$ в сравнении с вывешиванием*

FIG. 1.

*Relative mass of rat soleus muscles and Feret diameter of muscle fibers during 7-day hindlimb suspension (7d HS) and 7-day hindlimb suspension with amitriptyline administration (7d HS + AMI): Cntr – control animals; * – differences are statistically significant at $p < 0.05$ in comparison with the control rats; # – differences are statistically significant at $p < 0,05$ in comparison with HS rats*

Оценка мышечного фенотипа и уровней кислой сфингомиелиназы и церамида в *m. soleus* крыс при 7-дневной функциональной разгрузке

Для того чтобы охарактеризовать компоненты сфинголипидного сигналинга и мышечный фенотип при 7-дневной функциональной разгрузке, нами был проведён анализ иммунофлуоресценции церамида, ASM, «быстрой» и «медленной» изоформ MyHC на поперечных криосекциях *m. soleus* крыс (рис. 2). Функциональная разгрузка к 7-му дню АОВ характеризовалась существенным приростом интенсивности, детектируемой от комплексов антител, иммунореактивных к церамиду и ASM ($p = 0{,}001$ и $p = 0{,}001$ соответственно). Применение амитриптилина частично нивелировало данный прирост: показатели иммунофлуоресценции церамида и ASM стали статистически значимо ниже, чем в груп-

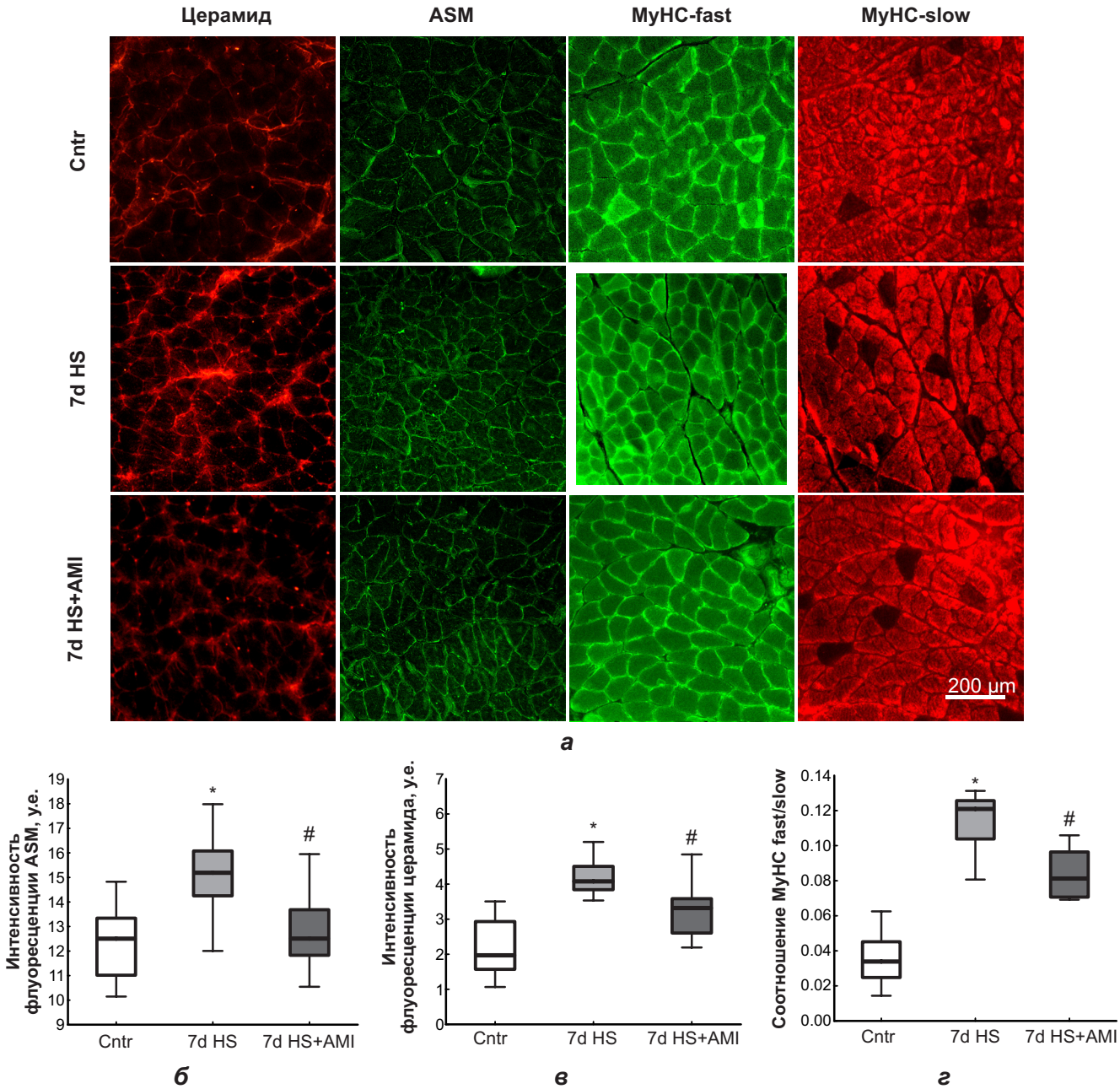


РИС. 2.

*Иммунофлуоресцентное исследование церамида, ASM, «быстрой» и «медленной» изоформ MyHC в камбаловидных мышцах крыс при 7-дневном антиортостатическом вывешивании без введения амитриптилина (7d HS) и на фоне его применения (7d HS + AMI): Cntr – контроль; * – различия статистически значимы при p < 0,05 в сравнении с контролем; # – p < 0,05 в сравнении с вывешиванием*

FIG. 2.

*Immunofluorescence study of ceramide, ASM, "fast" and "slow" MyHC isoforms in rat soleus muscles at 7-day hindlimb suspension (7d HS) and 7-day hindlimb suspension with amitriptyline administration (7d HS + AMI): Cntr – control animals; * – differences are statistically significant at p < 0.05 in comparison with the control rats; # – differences are statistically significant at p < 0.05 in comparison with HS rats*

пе вывешивания без применения ингибитора ($p = 0,001$ и $p = 0,005$ соответственно) (рис. 2а–в).

Для оценки изменения мышечного фенотипа мы проанализировали количественное отношение волокон, экспрессирующих «быстрые» и «медленные» изоформы MyHC (рис. 2а, г). Закономерно, что 7-дневная функциональная разгрузка сопровождалась сдвигом данного отношения в сторону значительного увеличения количества волокон, экспрессирующих «быстрые» изоформы MyHC ($p < 0,001$). Применение амитриптилина способствовало частичному предотвращению изменения фенотипа *m. soleus*, на что указывала более низкая величина соотношения «быстрых» и «медленных» волокон ($p = 0,029$).

Влияние ингибитора кислой сфингомиелиназы амитриптилина на изменения NADPH-оксидазы 2 и активных форм кислорода в *m. soleus* крыс при 7-дневной функциональной разгрузке

Исследование АФК было проведено нами на поперечных криосекциях мышечной ткани (рис. 3а, б). В группе животных, подвергнутых функциональной разгрузке, мы наблюдали статистически значимый прирост детектируемого флуоресцентного сигнала, вызванного взаимодействием H2DCFDA с АФК ($p < 0,001$). Более низкие показатели яркости флуоресценции демонстрировала группа животных, получавших амитриптилин до и в течение функциональной разгрузки ($p < 0,001$).

Иммунофлуоресцентный анализ NOX2 показал статистически значимый прирост прооксидантного маркера в группе разгрузки; применение амитриптилина характеризовалось тенденцией к снижению NOX2 по сравнению с группой разгрузки (рис. 3а, в). Анализ тотального содержания NOX2, согласно результатам вестерн-блоттинга, несмотря на наличие тенденции к росту в группе вывешивания без препарата, не показал статистически значимых различий в сравнении с контролем (рис. 3г).

Оценка конечных продуктов гликирования и их рецепторов в *m. soleus* крыс при 7-дневной функциональной разгрузке

Исследование было проведено нами посредством анализа иммунофлуоресценции КПГ на поперечных криосекциях мышечной ткани, а также посредством оценки их уровня в гомогенатах мышечной ткани с помощью вестерн-блоттинга (рис. 4). Полученные данные продемонстрировали статистически значимый прирост КПГ по сравнению с контрольной группой ($p = 0,001$) в иммунофлуоресцентных исследованиях. Использование амитриптилина характеризовалось незначительной тенденцией к снижению иммунофлуоресценции КПГ по сравнению с функциональной разгрузкой, однако наблюдался более высокий уровень КПГ по сравнению с контрольной группой. Иммуноэкспрессия КПГ в гомогенатах мышечной ткани показала, что белки с молекулярной массой 75–100 кДа имеют некоторую преимущественную подверженность гликозилированию (рис. 4в).

Иммунофлуоресценция и тотальное содержание RAGE в *m. soleus* в значительной степени увеличивались на фоне 7-дневной функциональной разгрузки ($p = 0,002$). Применение амитриптилина значительно снижало интенсивность иммунофлуоресценции RAGE в области сарколеммы, согласно данным иммунофлуоресцентного анализа, а также показало тенденцию к снижению тотального содержания, согласно результатам вестерн-блоттинга (рис. 5). В то же время уровни иммунофлуоресценции и тотального содержания RAGE оставались увеличенными по сравнению с группой контроля (рис. 5).

Анализ индуцированной конечными продуктами гликирования ядерной иммунофлуоресценции MyoD1 в *m. soleus* крыс

На поперечных криосекциях мышечной ткани мы проанализировали иммунофлуоресценцию MyoD1, а именно её изменение в областях ядерного DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) окрашивания (рис. 6а, б). Функциональная разгрузка в течение 7 дней продемонстрировала статистически значимый прирост уровня ядерно-локализованного MyoD1 ($p = 0,041$). При этом мы не обнаружили разницы по уровню интенсивности иммунофлуоресцентного сигнала от MyoD1 в группе, получавшей амитриптилин до и во время вывешивания по сравнению с контролем.

В *ex vivo* исследовании иммунофлуоресценции MyoD1 (рис. 6в, г) на фоне предварительной инкубации препарата *m. soleus* с AGE-BSA было обнаружено значительное повышение иммунофлуоресцентного сигнала, ко-локализованного с областями DAPI-окрашивания миоядер ($p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе мы исследовали роль активации ASM и церамид-ассоциированного увеличения АФК с КПГ/RAGE/MyoD1-зависимым путём регуляции экспрессии быстрых и медленных изоформ MyHC при 7-дневной функциональной разгрузке *m. soleus* крыс. Применение препарата группы FIASMA амитриптилина при функциональной разгрузке в качестве способа воздействия на сфингомиелиназный гидролиз показало, что уменьшение ASM-зависимых генераций сарколеммального церамида в мышце частично предотвращает сдвиг миозинового фенотипа и ядерную транслокацию MyoD1, снижает уровень АФК и RAGE, частично предотвращает потерю массы мышц и диаметра мышечных волокон, но не влияет на КПГ В исследованиях *ex vivo* мы показали, что добавление AGE-BSA в качестве экзогенного КПГ способно приводить к значительному увеличению ядерной иммунофлуоресценции MyoD1 – предположительно, вследствие индукции ядерной транслокации данного транскрипционного фактора в результате активации пути КПГ/RAGE/MyoD1.

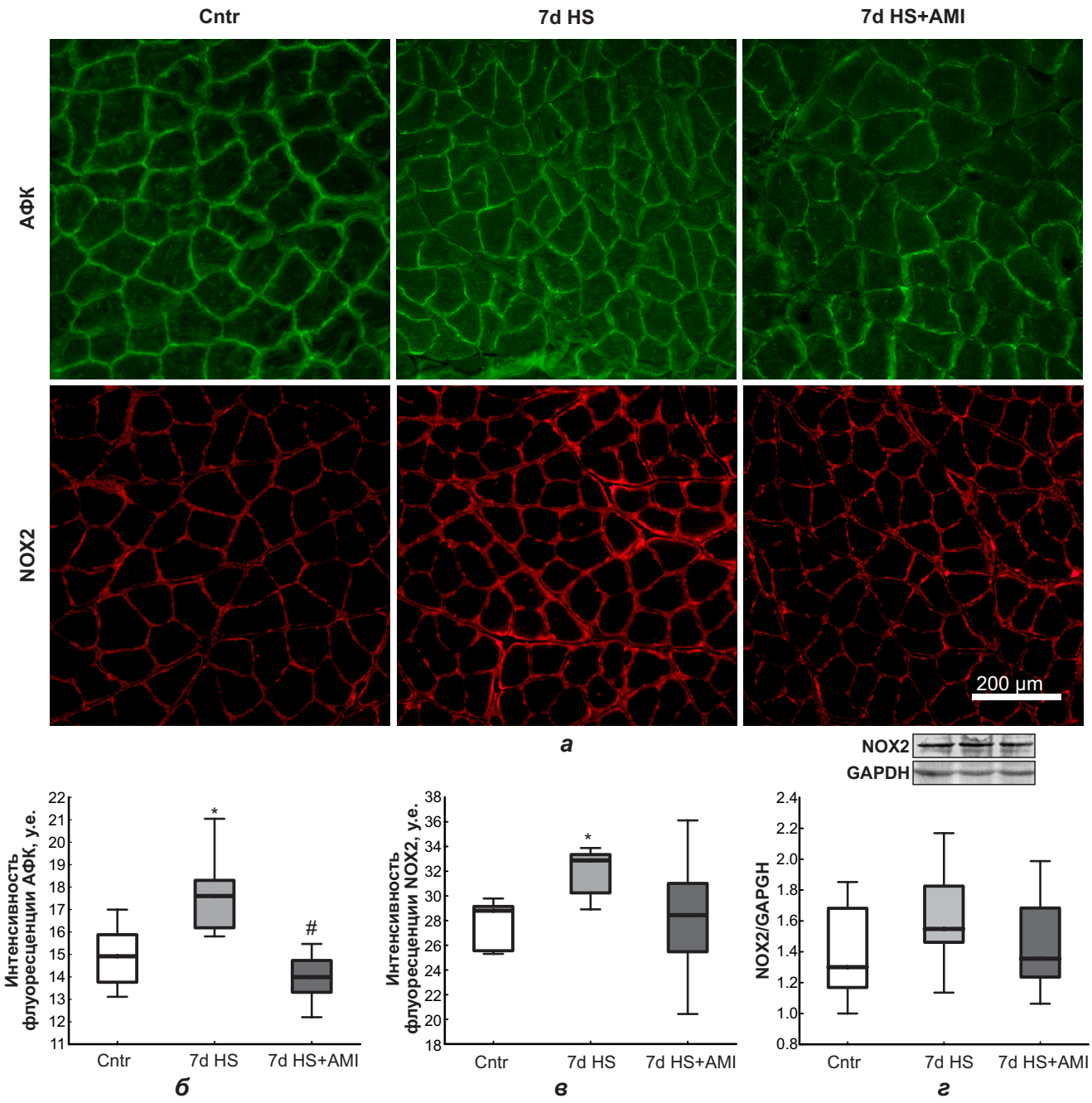


РИС. 3.

*Иммунофлуоресценция АФК и уровень протеина NOX2 (вестерн-блоттинг) в камбаловидных мышцах крыс при 7-дневном антиортостатическом вывешивании без ингибитора ASM (7d HS) и при применении амитриптилина (7d HS + AMI): Cntr – контроль; * – различия статистически значимы при p < 0,05 в сравнении с контролем; # – p < 0,05 в сравнении с вывешиванием*

FIG. 3.

*Immunofluorescence study of ROS and NOX2 level in rat soleus muscles at 7-day hindlimb suspension (7d HS) and 7-day hindlimb suspension with amitriptyline administration (7d HS + AMI): Cntr – control animals; * – differences are statistically significant at p < 0.05 in comparison with the control rats; # – differences are statistically significant at p < 0.05 in comparison with HS rats*

Известно, что функциональная разгрузка сопровождается различными изменениями структуры и функции скелетных мышц. В наших предшествующих исследованиях мы показали, что ингибиторы кислой сфингомиелиназы кломипрамин и амитриптилин способны эффективно уменьшать уровень церамида, АФК и прооксидантных ферментов; частично нивелировать сдвиг изоформ MyHC в сторону «быстрых»; частично предотвращать снижение массы мышц и диаметра мышечных волокон на фоне 14-дневной функциональной разгрузки [4, 12]. В данном исследовании на сроке 7 дней после разгрузки мы также подтверждаем, что ингибитор FIASMA амитриптилин статистически значимо предотвращает рост уровня церамида, ASM, АФК, а также ча-

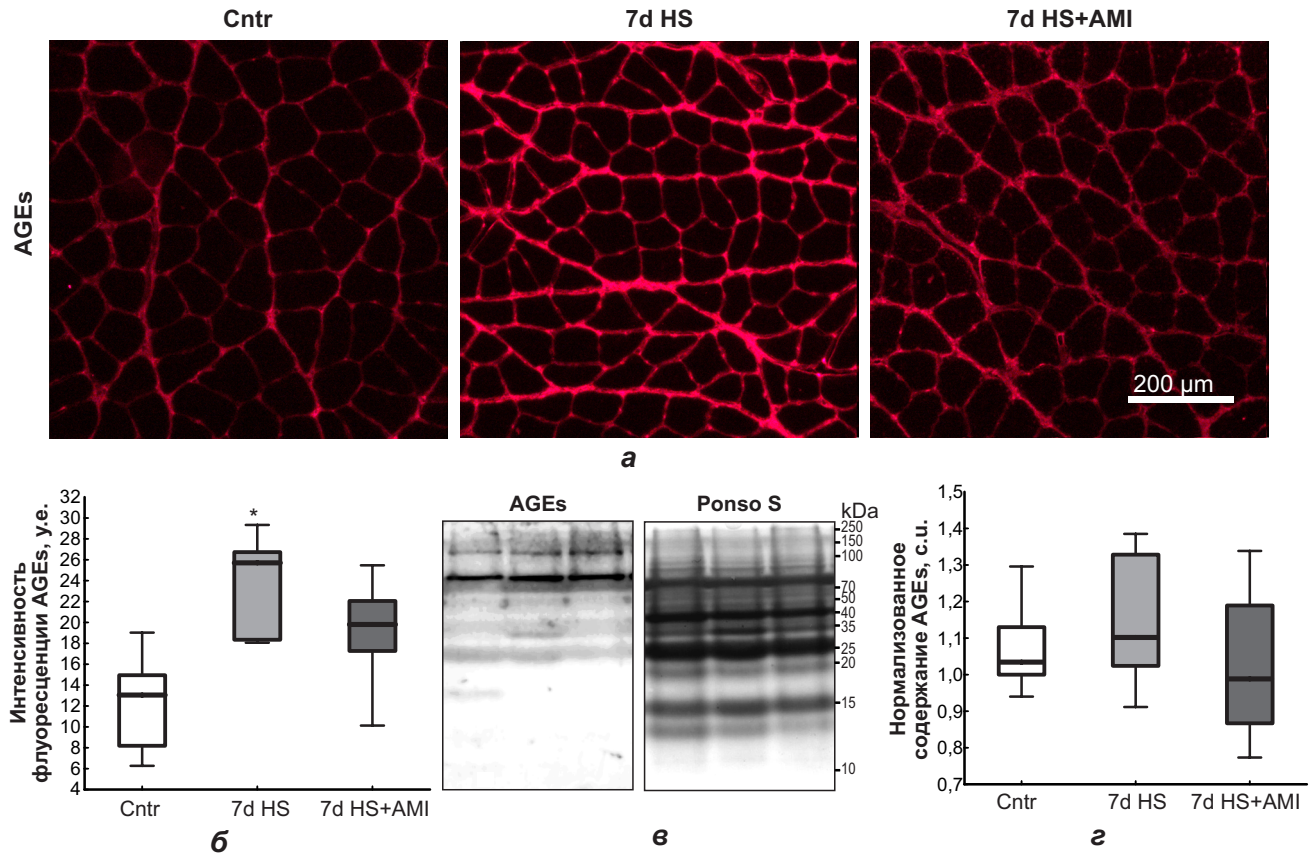


РИС. 4.

*Исследование иммунофлуоресценции (**а, б**) и уровня КПГ (**в, г**; вестерн-блоттинг) в камбаловидных мышцах крыс при 7-дневном антиортостатическом вывешивании (7d HS) и 7-дневном антиортостатическом вывешивании с применением амитриптилина (7d HS + AMI) в течение 7 дней: Cntr – контроль; * – различия статистически значимы при p < 0,05 в сравнении с контролем; # – p < 0,05 в сравнении с вывешиванием*

FIG. 4.

*Immunofluorescence (**а, б**) and immunoexpression study of AGEs (**в, г**) in rat soleus muscles at 7-day hindlimb suspension (7d HS) and 7-day hindlimb suspension with amitriptyline administration (7d HS + AMI): Cntr – control animals; * – differences are statistically significant at p < 0.05 in comparison with the control rats; # – p < 0.05 in comparison with HS rats*

стично предотвращает увеличение RAGE, трансформацию мышечного фенотипа от «медленного» к «быстрому», потерю относительной массы мышц и уменьшение диаметра мышечных волокон.

Как утверждалось ранее, сигнальные пути КПГ посредством взаимодействия со своими рецепторами RAGE способны приводить к развитию окислительного стресса и воспаления [7]. С другой стороны, сигнальный путь RAGE может опосредованно стимулировать транскрипционный фактор MyoD1 и быть связанным с активацией транскрипции быстрых изоформ миозина [11, 14]. В работе T. Egawa и соавт. впервые было показано, что функциональная разгрузка на фоне 14 дней сопровождается увеличением КПГ и их рецепторов RAGE в камбаловидных мышцах мышей. Авторы данной работы также показали, что ингибирование RAGE сопровождается уменьшением изменений, ассоциированных с воспалением, а также ограничивает снижение мышечной массы, уменьшение размеров мышечных волокон и количество волокон медленного типа [10]. В данной работе не изучались изменения, ассоциированные с другими мишенями сигналинга RAGE, а именно NOX2 и MyoD1.

В нашем исследовании на фоне 7-дневной разгрузки мы также обнаружили увеличение RAGE и КПГ в камбаловидных мышцах (иммунофлуоресцентная микроскопия), однако результаты КПГ-модифицированных белков, по данным вестерн-блоттинга, не характеризовались значительными изменениями во всех исследуемых группах. Учитывая, что КПГ могут быть образованы не только из белковых молекул, но также из липидов и ДНК, можно предположить, что данные, полученные нами посредством иммунофлуоресцентного метода, характеризуют наиболее полную картину изменений. В то же время нельзя исключить, что 7-дневный срок разгрузки не приводит к выраженным модификациям белков, опосредованным процессом гликации, по сравнению с более длительным сроком 14-дневной разгрузки, исследованным в работе T. Egawa и соавт.

Примечательно, что применение амитриптилина на фоне разгрузки приводило к статистически значимому уменьшению уровней RAGE по сравнению с груп-

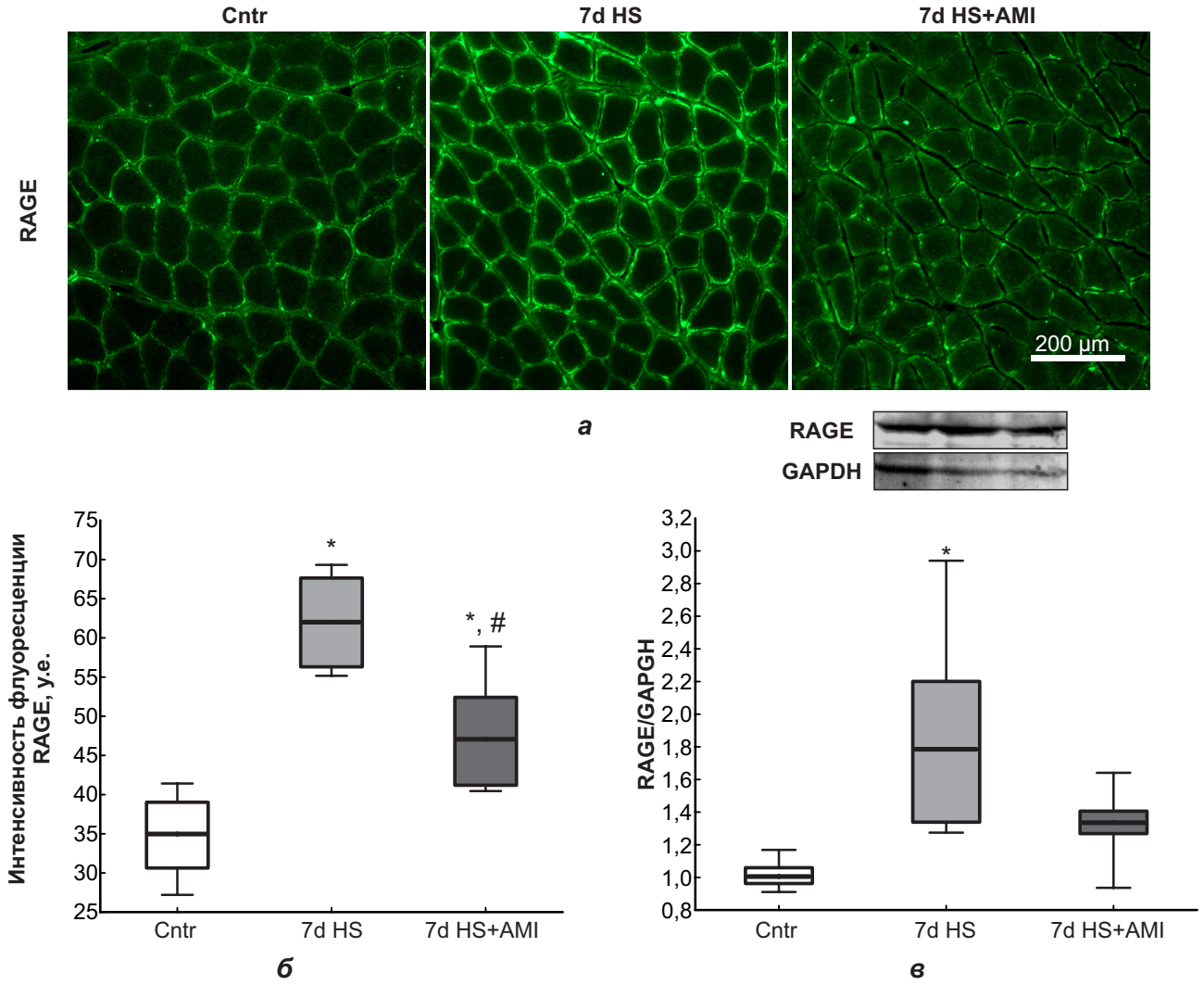


РИС. 5.

*Исследование иммунофлуоресценции и уровня белка RAGE методом иммуноблоттинга в камбаловидных мышцах крыс при антиортостатическом вывешивании в течение 7 дней (7d HS) и вывешивании с применением амитриптилина (7d HS + AMI) (**а–в**); Cntr – контроль; * – различия статистически значимы при p < 0,05 в сравнении с контролем; # – p < 0,05 в сравнении с вывешиванием*

FIG. 5.

*Immunofluorescence study and immunoblot analysis of RAGE protein in rat soleus muscles at 7-day hindlimb suspension (HS) and 7-day hindlimb suspension with amitriptyline administration (7d HS + AMI) (**а–в**): Cntr – control animals; * – differences are statistically significant at p < 0.05 in comparison with the control rats; # – differences are statistically significant at p < 0.05 in comparison with HS rats*

пой разгрузки без препарата, однако препарат практически не повлиял на повышенный уровень КПГ. Уменьшение уровня RAGE на фоне ингибитора ASM амитриптилина можно объяснить снижением генерации церамида. ASM предположительно предотвращает процесс, при котором повышение уровня церамида способствует увеличению продукции АФК и дальнейшей стимуляции экспрессии RAGE. Известно, что между активными формами кислорода и RAGE также существует перекрёстная взаимосвязь. Так, с одной стороны, активация RAGE способствует образованию АФК, а с другой – АФК могут стимулировать экспрессию RAGE [15]. Ранее нами было показано, что добавление экзогенной сфингомиелиназы к камбаловидной мышце в модели *ex vivo* может приводить к более чем 6-кратному увеличению продукции АФК [12]. Мы предполагаем, что предотвращение образования АФК посредством уменьшения церамида и сфингомиелиназы при разгрузке на фоне применения амитриптилина способствует уменьшению образования АФК и, как следствие, к уменьшению экспрессии и активации сигнальных путей, ассоциированных с рецепторами RAGE.

Для оценки механизмов, связанных с изменением фенотипа волокон камбаловидных мышц на фоне разгрузки мы изучили одну из мишеней сигнального пути RAGE – транскрипционный фактор MyoD1. Известно, что уровни MyoD1 в большей степени экспрессируются в «быстрых» мышцах по сравнению с «медленными», а сам фактор играет роль в активации транскрипции быстрых цепей миозина и, как следствие, в трансформа-

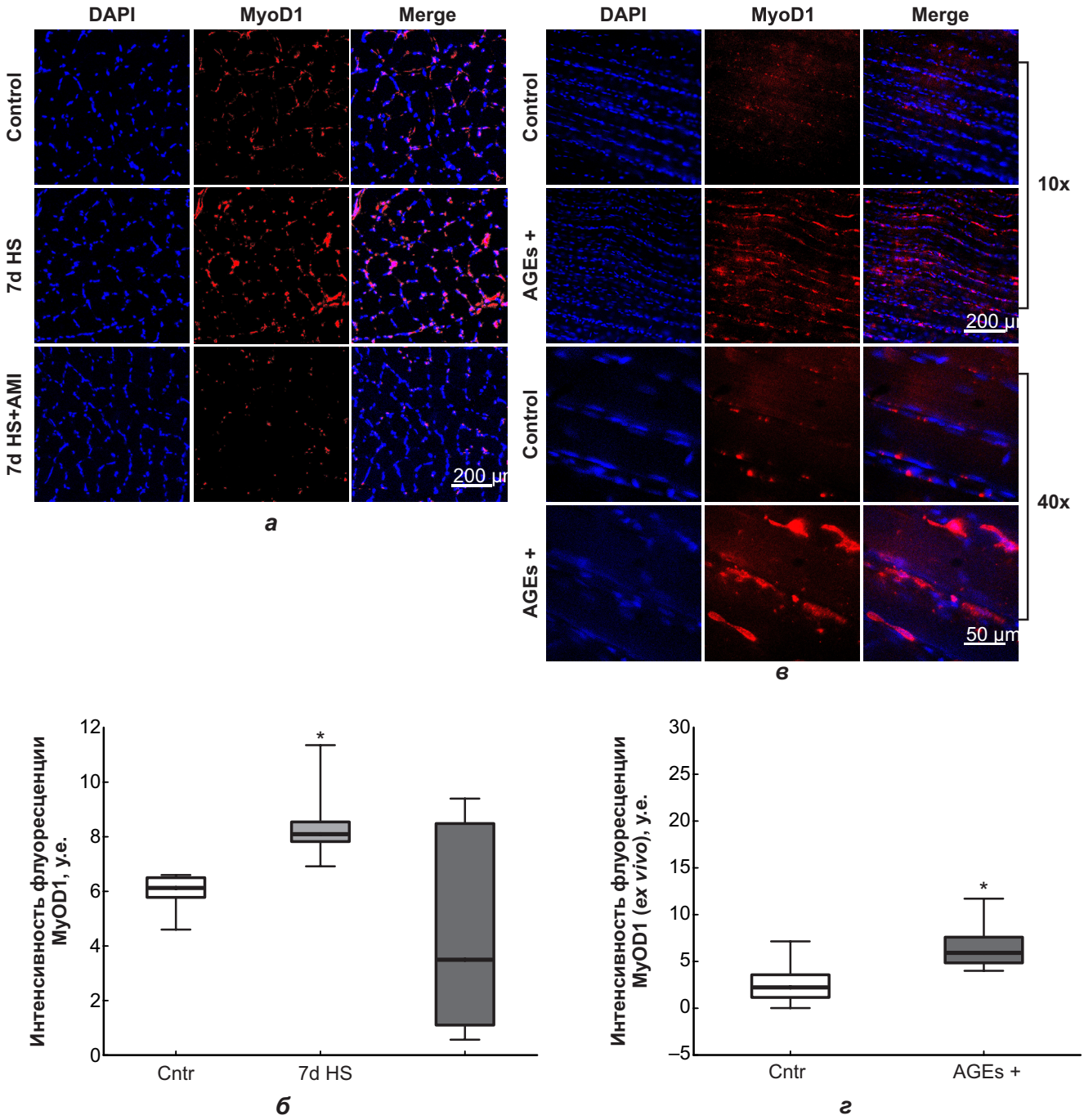


РИС. 6.

а, б *– исследование иммунофлуоресценции MyoD1 в поперечных срезах камбаловидных мышцах крыс при 7-дневном антиортостатическом вывешивании (7d HS) и -дневном антиортостатическом вывешивании с применением амитриптилина (7d HS + AMI);* ***в, г*** *– ex vivo исследование иммунофлуоресценции MyoD1 в препаратах камбаловидных мышц, инкубированных с AGE-BSA (AGEs+): Cntr – контроль; 10×, 40× – степени увеличения при микроскопии; * – различия статистически значимы при p < 0,05 в сравнении с контролем; # – различия статистически значимы при p < 0,05 в сравнении с вывешиванием*

FIG. 6.

а, б *– study of MyoD1 immunofluorescence in transverse sections of rat soleus muscles at 7-day hindlimb suspension (7d HS) and 7-day hindlimb suspension with amitriptyline administration (7d HS + AMI);* ***в, г*** *– ex vivo study of MyoD1 immunofluorescence in preparations of m. soleus incubated with AGE-BSA (AGEs+); Cntr – control animals; 10×, 40× – microscopy zoom; * – differences are statistically significant at p < 0.05 in comparison with the control rats; # – differences are statistically significant at p < 0,05 in comparison with HS rats*

ции фенотипа от медленного к быстрому посредством дефосфорилирования и перемещения фактора в ядро [16]. Состояния, связанные с атрофией от бездействия, а также с денервацией и регенерацией, сопровождаются увеличением экспрессии MyoD1 [17, 18].

В нашем исследовании мы также показали, что уровень MyoD1 в ядрах камбаловидных мышц увеличивается на фоне 7-дневной разгрузки. Примечательно, что на фоне применения ингибитора ASM наблюдалась заметная тенденция к уменьшению уровня MyoD1 в области миоядер. Исследования о взаимосвязи КПГ, RAGE и MyoD1 немногочисленны и проводились только на отдельных мышечных клетках (миобластах), но не на цельной мышечной ткани [11], поэтому в данном контексте нами были проведены эксперименты в модели *ex vivo*, в которых мы показали, что 2-часовой инкубации с экзогенными КПГ оказалось достаточно для достижения значимых изменений, которые характеризовались статистически значимым увеличением уровня MyoD1 в ядрах мышечных волокон. Это подтверждает гипотезу о возможности влияния КПГ на активацию MyoD1 в скелетных мышцах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящем исследовании были изучены механизмы взаимосвязи сфинголипидного сигналинга (а именно роль церамида, образующегося в каталитическом сфингомиелиназном пути) с образованием конечных продуктов гликации и изменениями регуляции сдвига фенотипа мышечных волокон в условиях 7-дневной разгрузки *m. soleus*. Согласно результатам исследования, мы предполагаем, что активация ASM на фоне разгрузки может способствовать MyoD1-ассоциированной трансформации «медленного» фенотипа волокон камбаловидной мышцы в «быстрый» посредством увеличения продукции АФК, способствующих стимуляции сигнальных путей RAGE.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-25-00420).

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lee PHU, Chung M, Ren Z, Mair DB, Kim DH. Factors mediating spaceflight-induced skeletal muscle atrophy. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022; 322(3): 567-580. doi: 10.1152/ajpcell.00203.2021

2. Ohira T, Kawano F, Goto K, Kaji H, Ohira Y. Responses of neuromuscular properties to unloading and potential countermeasures during space exploration missions. *Neurosci Biobehav Rev*. 2022; 136: 104617. doi: 10.1016/j.neubiorev.2022.104617

3. Shenkman BS. From slow to fast: Hypogravity-induced remodeling of muscle fiber myosin phenotype. *Acta Naturae*. 2016; 8(4): 47-59.

4. Sekunov AV, Protopopov VA, Skurygin VV, Shalagina MN, Bryndina IG. Muscle plasticity under functional unloading: Effects of an acid sphingomyelinase inhibitor clomipramine. *J Evol Biochem Physiol*. 2021; 57(4): 925-935. doi: 10.1186/s13395-018-0177-7

5. Petrov AM, Shalagina MN, Protopopov VA, Sergeev VG, Ovechkin SV, Ovchinina NG, et al. Changes in membrane ceramide pools in rat soleus muscle in response to short-term disuse. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(19): 4860. doi: 10.3390/ijms20194860

6. He Z, Xu Q, Newland B, Foley R, Lara-Sáez I, Curtin JF, et al. Reactive oxygen species (ROS): Utilizing injectable antioxidative hydrogels and ROS-producing therapies to manage the double-edged sword. *J Mater Chem B*. 2021; 9(32): 6326-6346. doi: 10.3390/ijms20194860

7. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules*. 2015; 5(1): 194-222. doi: 10.3390/biom5010194

8. Kuzan A. Toxicity of advanced glycation end products (Review). *Biomed Rep*. 2021; 14(5): 46. doi: 10.3892/br.2021.1422

9. Riuzzi F, Sorci G, Sagheddu R, Chiappalupi S, Salvadori L, Donato R. RAGE in the pathophysiology of skeletal muscle. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2018; 9(7): 1213-1234. doi: 10.1002/jcsm.12350

10. Egawa T, Kido K, Yokokawa T, Fujibayashi M, Goto K, Hayashi T. Involvement of receptor for advanced glycation end products in microgravity-induced skeletal muscle atrophy in mice. *Acta Astronaut*. 2020; 176: 332-340. doi: 10.1016/j.actaastro.2020.07.002

11. Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Giambanco I, Donato R. Amphoterin stimulates myogenesis and counteracts the antimyogenic factors basic fibroblast growth factor and S100B via RAGE binding. *Mol Cell Biol*. 2004; 24(11): 4880-4894. doi: 10.1128/MCB.24.11.4880-4894.2004

12. Протопопов В.А., Секунов А.В., Панов А.В., Брындина И.Г. Взаимосвязь сфинголипидных механизмов с окислительным стрессом и изменениями митохондрий при функциональной разгрузке постуральных мышц. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(2): 228-242. [Protopopov VA, Sekunov AV, Panov AV, Bryndina IG. The relationship of sphingolipid mechanisms with oxidative stress and changes in mitochondria during functional unloading of postural muscles. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(2): 228-242. (In Russ.)]. doi: 10.29413/ABS.2024-9.2.23

13. Huang Y, He M, Zeng Q, Li L, Zhang Z, Ma J, et al. A multihole cryovial eliminates freezing artifacts when muscle tissues are directly immersed in liquid nitrogen. *J Vis Exp JoVE*. 2017; (122): 55616. doi: 10.3791/55616

14. Chiappalupi S, Sorci G, Vukasinovic A, Salvadori L, Sagheddu R, Coletti D, et al. Targeting RAGE prevents muscle wasting and prolongs survival in cancer cachexia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2020; 11(4): 929-946. doi: 10.1002/jcsm.12561

15. Yao D, Brownlee M. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species increase expression of the receptor for advanced

glycation end products (RAGE) and RAGE ligands. *Diabetes*. 2010; 59(1): 249-255. doi: 10.2337/db09-0801

16. Ekmark M, Rana ZA, Stewart G, Hardie DG, Gundersen K. De-phosphorylation of MyoD is linking nerve-evoked activity to fast myosin heavy chain expression in rodent adult skeletal muscle. *J Physiol.* 2007; 584(2): 637-650. doi: 10.1113/jphysiol.2007.141457

17. Legerlotz K, Smith HK. Role of MyoD in denervated, disused, and exercised muscle. *Muscle Nerve.* 2008; 38(3): 1087-1100. doi: 10.1002/mus.21087

18. Zammit PS. Function of the myogenic regulatory factors Myf5, MyoD, myogenin and MRF4 in skeletal muscle, satellite cells and regenerative myogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. 2017; 72: 19-32. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.11.011

Сведения об авторах

Протопопов Владимир Алексеевич – аспирант кафедры патологической физиологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: vladimirvst@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-4058-8155

Секунов Алексей Васильевич – ассистент кафедры патологической физиологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: alexeisekunov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1592-2927

Мугизов Айдар Маратович – студент, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: aidar5246@gmail.com, https://orcid.org/0009-0004-9031-1781

Свидерский Илья Викторович – студент, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: g.cbugr@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-9175-2475

Брындина Ирина Георгиевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической физиологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: i_bryndina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4099-4508

Information about the authors

Vladimir A. Protopopov – Postgraduate at the Department of Pathological Physiology and Immunology, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: vladimirvst@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-4058-8155

Alexey V. Sekunov – Teaching Assistant at the Department of Pathological Physiology and Immunology, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: alexeisekunov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1592-2927

Aidar M. Mugizov – Student, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: aidar5246@gmail.com, https://orcid.org/0009-0004-9031-1781

Ilya V. Svidersky – Student, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: g.cbugr@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-9175-2475

Irina G. Bryndina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathological Physiology and Immunology, Izhevsk State Medical Academy, e-mail: i_bryndina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4099-4508

ДИНАМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФРАКТАЛКИНА ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

Ма-Ван-дэ А.Ю.,
Фефелова Е.В.,
Ширшов Ю.А.,
Ма-Ван-дэ В.Д.

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

Автор, ответственный за переписку:
Ма-Ван-дэ Алексей Юрьевич,
e-mail: alekseymavande@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Проблема персонифицированного подхода к пациентам с ишемическим инсультом (ИИ) не теряет своей актуальности. Проводятся исследования, направленные на поиск точек приложения в звеньях патогенеза мозгового инфаркта и возможностей воздействия на них с целью оказания положительного влияния на восстановительный прогноз больных.*

Цель работы*. Исследовать уровень фракталкина (FKN) в сыворотке крови у пациентов с ишемическим инсультом (атеротромботический подтип) в динамике. Полученные данные в дальнейшем могут послужить основой для возможного использования FKN как одного из вариантов терапии больных с острой церебральной ишемией.*

Материалы и методы. *В исследовании приняли участие 60 человек. I группа (контрольная) включала здоровых людей; II группа – пациентов с гипертоническим кризом (ГК) без признаков острых изменений в органах-мишенях; III группа – пациентов с атеротромботическим патогенетическим подтипом ИИ на фоне ГК.*

Результаты. *Выявлено, что уровень фракталкина у пациентов с ГК и у пациентов в первые сутки после развития ИИ выше, чем в группе контроля, в 3,2 раза ($p < 0,001$). Содержание FKN в сыворотке крови у пациентов с ИИ оставалось высоким в течение 10 дней. Наибольший уровень зарегистрирован на 4–5-й день от начала заболевания и превышал исходный на 27,5 % ($p < 0,001$). Уставлены положительные корреляционные связи между показателями FKN и показателями шкал NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale), Рэнкина и артериального давления ($p < 0,001$).*

Заключение. *Изучение роли FKN в патогенезе мозгового инфаркта остаётся перспективным направлением. Результаты, полученные при дальнейшем продолжении исследований в данной области, могут стать основой для последующей разработки принципиально новых подходов в лечении пациентов с острыми церебральными событиями.*

Ключевые слова*: острое нарушение мозгового кровообращения, ишемический инсульт, гипертоническая болезнь, микроглия, нейровоспаление, фракталкин, хемокины*

Статья поступила: 05.11.2024
Статья принята: 28.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Ма-Ван-дэ А.Ю., Фефелова Е.В., Ширшов Ю.А., Ма-Ван-дэ В.Д. Динамические показатели фракталкина при ишемическом инсульте. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 136-143. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.14

DYNAMIC INDICES OF FRACTALKINE IN ISCHEMIC STROKE

Ma-Van-de A.Yu.,
Fefelova E.V.,
Shirshov Yu.A.,
Ma-Van-de V.D.

Chita State Medical Academy
(Gorkogo str. 39A, Chita 672090,
Russian Federation)

Corresponding author:
Aleksey Yu. Ma-Van-de,
e-mail: alekseymavande@yandex.ru

ABSTRACT

Background. *The problem of a personalized approach to patients with ischemic stroke does not lose its relevance. Research is being conducted aimed at searching for points of application in the pathogenesis of cerebral infarction and the possibility of influencing them in order to have a positive impact on the recovery prognosis of patients.*

The aim of the work. *To study the level of fractalkine (FKN) in the blood serum of patients with ischemic stroke (atherothrombotic subtype) in dynamics. The data obtained in the future can serve as the basis for the possible use of fractalkine as one of the treatment options for patients with acute cerebral ischemia.*

Materials and methods. *Sixty people took part in the study. Group I (control) – healthy people; Group II – patients with hypertensive crisis without signs of acute changes in target organs; Group III – patients with atherothrombotic pathogenetic subtype of ischemic stroke on the background of hypertensive crisis.*

Results. *It was revealed that the level of fractalkine in patients with hypertensive crisis, and in patients on the first day after the development of ischemic stroke, was 3.2 times higher than in the control group ($p < 0.001$). The fractalkine content in the blood serum of patients with ischemic stroke remained high for ten days. The highest level was recorded on days 4–5 from the onset of the disease and exceeded the initial level by 27.5 % ($p < 0.001$). Positive correlations were established between fractalkine indicators and indicators of the NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) and Rankin scales, and blood pressure ($p < 0.001$).*

Conclusion. *Studying the role of fractalkine in the pathogenesis of cerebral infarction remains a promising direction. The results obtained with further research in this area may become the basis for the subsequent development of fundamentally new approaches in the treatment of patients with acute cerebral events.*

Key words: *acute cerebrovascular accident, ischemic stroke, hypertension, microglia, neuroinflammation, fractalkine, chemokines*

Received: 05.11.2024
Accepted: 28.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Ma-Van-de A.Yu., Fefelova E.V., Shirshov Yu.A., Ma-Van-de V.D. Dynamic indices of fractalkine in ischemic stroke. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 136-143. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.14

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) занимают уверенное второе место среди причин смертности населения в мире и третье место как одна из причин стойкой утраты трудоспособности [1]. Несмотря на достаточно высокую эффективность реперфузионной терапии, возможности её проведения ограничены строгими временным рамками и рядом противопоказаний, в особенности среди пациентов старшей возрастной группы [2].

Артериальный тромбоз как причина возникновения церебральной ишемии запускает патогенетический каскад реакций, включающий механизмы окислительного стресса, активации про- и противоспалительных медиаторов. Комплекс иммунопатологических реакций в условиях продолжающейся гипоксии в конечном итоге приводит к гибели нейронов через механизмы эксайтотоксичности, энергетического истощения, перегрузки нейроцита ионами кальция, индукции апоптоза [3, 4].

Повышение концентрации различных активных биомолекул с про- и противоспалительной активностью регистрируется в различные стадии ишемического инсульта (ИИ) [5]. Установлено, что контроль активности протекающих иммунорегуляторных реакций в ядре ишемии и в зоне пенумбры осуществляют заинтересованные клетки микроглии [6]. Одной из молекул нейровоспаления, представляющей интерес в контексте острой церебральной ишемии, является фракталкин.

Фракталкин (FKN/CX3CL1) – это хемокин, который, находясь на мембране нейроцита, участвует в процессе активации микроглии через взаимодействие с рецептором CX3CR1 [7]. Роль комплекса FKN – CX3CR1 в регуляции работы нервной системы невозможно переоценить. Установлено, что комплекс участвует в процессах нейрогенеза, нейропластичности, синаптической передачи и поддержания мозгового гомеостаза [8]. Активно проводятся исследования, целью которых является определение роли FKN и его рецептора CX3CR1 в патогенезе различных заболеваний нервной системы. Так, Q.Yu. Fan и соавт. (2019) на модели болезни Альцгеймера на мышах установили, что снижение накопления b-амилоида в головном мозге связано с активацией домена FKN [9]. Предполагается, что комбинация FKN и CX3CR1 может принимать участие в формировании и поддержании нейропатической боли через активацию микроглии в области заднего рога спинного мозга [10]. Приводятся различные данные о роли FKN в развитии атеросклероза, гипертонической болезни, ишемической болезни сердца и инфаркта мозга, но несмотря на объём полученных результатов, однозначного мнения о роли хемокина в патогенезе этих заболеваний нет.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследовать уровень фракталкина в сыворотке крови у пациентов с ишемическим инсультом (атеротромботический подтип) в динамике.

Полученные данные в дальнейшем могут послужить основой для возможного использования FKN как одного из вариантов терапии больных с острой церебральной ишемией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось с ноября 2023 г. по сентябрь 2024 г. на базе ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России. Все участники были ознакомлены с целями и задачами исследования, подписали информированное добровольное согласие (ИДС) на участие (форма ИДС одобрена решением Локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России № 128 от 14.11.2023). Всего в исследовании приняли участие 60 человек (50 % мужчин и 50 % женщин). Средний возраст пациентов составил 56,3 (48,8; 63,3) года. Участники исследования были разделены на следующие группы:

I группа – здоровые участники, проходившие диспансеризацию на базе ГАУЗ «Клинический медицинский центр г. Читы», у которых на момент забора материала не выявлено острых и хронических заболеваний – 20 человек (10 мужчин, 10 женщин). Параметры артериального давления (АД) составляли: систолическое АД (САД) – 112 (108; 123) мм рт. ст.; диастолическое АД (ДАД) – 70,5 (64,0; 74,0) мм рт. ст.

II группа – исследуемые, обратившиеся за неотложной помощью в приёмное отделение ГУЗ «Городская клиническая больница № 1» г. Читы, у которых на момент забора материала зафиксировано повышение АД без признаков острых изменений в органах-мишенях (недостижение целевых цифр АД) – 20 человек (11 мужчин, 9 женщин). Параметры артериального давления: САД – 180 (170; 193) мм рт. ст.; ДАД – 100 (97,5; 100,0) мм рт. ст.

III группа – пациенты с верифицированным диагнозом ИИ (атеротромботический патогенетический подтип), который возник на фоне гипертонического криза – 20 человек (9 мужчин, 11 женщин). Параметры артериального давления: САД – 160 (146; 170) мм рт. ст.; ДАД – 97,5 (80,0; 100,0) мм рт. ст. [11, 12].

Критериями исключения из исследования являлись кардиоэмболическая, лакунарная, неуточнённая и другие установленные этиологии ИИ (в соответствии с патогенетической классификацией ИИ TOAST (Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment). **Критерии невключения:** злокачественные новообразования в анамнезе; ВИЧ-инфекция и вирусный гепатит; воспалительные заболевания инфекционной и аутоиммунной природы в стадии обострения; беременность.

Забор материала у пациентов с ИИ производился трижды: в первые 24 ч (острейший период), на 4–5-е и 9–10-е сутки от момента госпитализации (острый период). При поступлении пациентам проведены оценка неврологического статуса по общепринятой мето-

дике и нейровизуализация. Всем пациентам с ОНМК проводилась оценка тяжести неврологического дефицита по Международной шкале оценки тяжести инсульта (NIHSS, National Institutes of Health Stroke Scale) и по модифицированной шкале Рэнкина (МШР) [13, 14]. За время госпитализации пациентам выполнены электрокардиография (ЭКГ) и суточное мониторирование ЭКГ, эхокардиография, эхоангиография брахиоцефальных артерий, лабораторные исследования; проведены консультации кардиолога и других узких специалистов. Диагноз ИИ у пациентов не вызывал сомнений и был подтверждён в 100 % случаев.

Тромболитическая терапия (ТЛТ) пациентам с ИИ не проводилась. Основным противопоказанием к ТЛТ являлись: выход за пределы терапевтического окна (более 4,5 ч от появления первых симптомов заболевания) – 17 (85 %) случаев; малый неврологический дефицит (4 балла и менее по шкале NIHSS) – 3 (15 %) случая.

С целью определения концентрации FKN в сыворотке крови использовался набор для мультиплексного анализа Human Neuroinflammation Panel 1 (BioLegend, США) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Статистическая обработка данных проводилась при помощи программного обеспечения Jamovi 2.3. Во всех случаях статистически значимым считались результаты при значениях $p < 0,05$. При работе со статистическими данными проводились непараметрический однофакторный дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса, попарные сравнения Двасс – Стил – Кричлоу – Флигнер (DSCF, Dwass – Steel – Critchlow – Fligner). Для анализа взаимосвязей между различными показателями использовался тест корреляции рангов Спирмена (*R*). Данные описательной статистики представлены медианой и межквартильным интервалом (25-й; 75-й перцентили). При проведении анализа мощности выборки исследуемых групп проведены независимый и парный t-тесты распределения Стьюдента (табл. 1, 2).

ТАБЛИЦА 1
НЕЗАВИСИМЫЙ T-ТЕСТ
TABLE 1
INDEPENDENT SAMPLES T TEST

N_1	N_2	Power	α
20	20	0,800	0,0500

ТАБЛИЦА 2
ПАРНЫЙ T-ТЕСТ
TABLE 2
PAIRED SAMPLES T TEST

N	Power	α
18	0,800	0,0100

РЕЗУЛЬТАТЫ

В нашем исследовании преобладали пациенты со среднетяжёлым инсультом – 6,00 (4,75; 8,25) баллов по шкале NIHSS. По МШР исследуемые также входили в группу пациентов со средней степенью тяжести неврологического дефицита – 3,00 (2,00; 4,00) балла. Показатели шкал свидетельствовали о достаточно высокой инвалидизации больных и необходимости оказания им посторонней помощи. Результаты оценки неврологического статуса и данные о структуре неврологических расстройств, выявленных у пациентов, представлены в таблице 3.

В большинстве случаев преобладали нарушения со стороны двигательной, речевой сфер и системы координации движений. Заинтересованность этих областей, в свою очередь, определяла тот факт, что, несмотря на относительно невысокое количество баллов по шкале NIHSS, пациенты были инвалидизированы и нуждались в посторонней помощи.

ТАБЛИЦА 3
СТРУКТУРА НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

TABLE 3
STRUCTURE OF NEUROLOGICAL DISORDERS IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

Неврологический дефицит		Частота встречаемости
Центральные парезы/параличи		95 % (19/20)
Речевые нарушения	афазия (моторная)	15 % (3/20)
	дизартрия	55 % (11/20)
Нарушение координации движений		50 % (10/20)
Когнитивные нарушения		20 % (4/20)
Чувствительные нарушения		20 % (4/20)

Анализ фоновой и сопутствующей патологии во II и III группах

В 100 % случаев пациенты страдали гипертонической болезнью, стаж заболевания составлял 11,0 (6,0; 15,0) лет. У 62,5 % пациентов зарегистрирована хроническая сердечная недостаточность IIA стадии по классификации Стражеско – Василенко; у 52,5 % – ишемическая болезнь сердца; у 25 % – хроническая болезнь почек 1–2-й стадии; у 15 % – сахарный диабет 2-го типа; у 12,5 % – инфаркт миокарда (ИМ) в анамнезе (табл. 4).

В группе пациентов с гипертоническим кризом в момент забора материала лекарственную терапию в рамках ранее известных заболеваний систематически получали 80 % человек ($n = 16$), 20 % ($n = 4$) не принимали лекарства. В группе пациентов с ИИ приверженность к назначенной ранее лекарственной терапии составила 60 % ($n = 12$); 40 % ($n = 8$) пациентов лекарственной терапии не придерживались.

На первом этапе нашего исследования определялась концентрация FKN в сыворотке крови у здоровых людей, у пациентов в момент ГК без признаков острых изменений в органах-мишенях и у пациентов с ИИ на фоне ГК (в первые сутки). Полученные результаты демонстрируют, что показатели FKN у пациентов во II и III группах в 3,2 раза выше, чем в группе здоровых ($p < 0,001$). При сравнении II и III групп пациентов статистически значимых различий не выявлено ($p = 0,999$) (табл. 5).

Далее мы провели сравнение показателей FKN в сыворотке крови пациентов с ИИ в динамике. Первый забор материала проводился в момент поступления – в первые 24 ч от начала заболевания, второй забор – на 4–5-е сутки, третий забор – на 9–10-е сутки. Установлено, что у пациентов с ИИ показатель FKN оставался на стабильно высоком уровне в течение 10 дней наблюдения. Отмечено, что наибольшая его концентрация определялась на 4–5-й день от начала заболевания и составляла 12,7 (11,4; 15,9) пг/мл, что, в свою очередь, на 27,5 % выше, чем у пациентов с ИИ в первый день ($p < 0,001$). На 9–10-й день от начала заболевания уровень FKN снижался до исходных значений, но оставался повышенным в сравнении с I группой здоровых лиц (табл. 6; рис. 1).

Также проведён корреляционный анализ между показателями FKN, оценке по шкале NIHSS, оценке по МШР и показателями САД и ДАД. С высокой степенью статистической значимости выявлены положительные корреляционные связи концентрации FKN и оценок по шкалам NIHSS ($R = 0,519$) и МШР ($R = 0,550$), показателями САД ($R = 0,434$) и ДАД ($R = 0,449$) ($p < 0,001$ во всех случаях). На основании полученных результатов было проведено сравнение количества баллов по шкале NIHSS и МШР при поступлении и на момент выписки (табл. 7).

При анализе данных выявлено, что на момент выписки сумма баллов по шкале NIHSS снизилась в 6 раз,

ТАБЛИЦА 4

СТРУКТУРА ФОНОВОЙ И СОПУТСТВУЮЩЕЙ ПАТОЛОГИИ В ГРУППАХ СРАВНЕНИЯ

TABLE 4

STRUCTURE OF BACKGROUND AND CONCOMITANT PATHOLOGY IN COMPARISON GROUPS

Заболевания	II группа	III группа
Гипертоническая болезнь	100 % (20)	100 % (20)
Хроническая сердечная недостаточность	80 % (16)	45 % (9)
Ишемическая болезнь сердца	75 % (15)	30 % (6)
Хроническая болезнь почек	45 % (9)	5 % (1)
Сахарный диабет 2-го типа	10 % (2)	20 % (4)
Инфаркт миокарда	15 % (3)	10 % (2)

ТАБЛИЦА 5

ПОКАЗАТЕЛИ CX3CL1 В ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУППАХ (25-Й; 75-Й ПЕРЦЕНТИЛИ)

TABLE 5

CX3CL1 VALUES IN THE STUDY GROUPS (25TH; 75TH PERCENTILES)

Показатель	Исследуемые группы			Тестовая статистика	
	I группа ($n = 20$)	II группа ($n = 20$)	III группа ($n = 20$)	Краскела – Уоллиса	DSCF
CX3CL1, пг/мл	2,83 (2,52; 3,30)	9,06 (7,85; 10,30)	9,22 (7,86; 11,50)	H = 39,4 df = 2 $p < 0,001$	$W_{I–II} = –7,651$ $p_{I–II} < 0,001$ $W_{I–III} = –7,65$ $p_{I–II} < 0,001$ $W_{II–III} = 0,34$ $p_{II–III} = 0,999$

Примечание. $p_{I–II, I–III, II–III}$ – уровень статистической значимости различий между соответствующими группами.

ТАБЛИЦА 6

ПОКАЗАТЕЛИ FKN В ДИНАМИКЕ: 1-Й ДЕНЬ, 4–5-Е И 9–10-Е СУТКИ (25-Й; 75-Й ПЕРЦЕНТИЛИ)

TABLE 6

FKN INDICATORS OVER TIME: DAY 1, DAYS 4–5 AND DAYS 9–10 (25TH; 75TH PERCENTILES)

Показатели	1-й забор (n = 20)	2-й забор (n = 20)	3-й забор (n = 20)	Тестовая статистика	
	1	2	3	Краскела – Уоллиса	DSCF
CX3CL1, пг/мл	9,22 (7,86; 11,50)	12,70 (11,40; 15,90).	9,62 (7,68; 12,40)	H = 13,6 df = 2 p = 0,001	W_{1-2} = 5,13 p_{1-2} < 0,001 W_{1-3} = 0,31 p_{1-2} = 0,975 W_{2-3} = -3,79 p_{2-3} = 0,02

Примечание. $p_{1-2, 1-3, 2-3}$ – уровень статистической значимости различий между соответствующими группами.

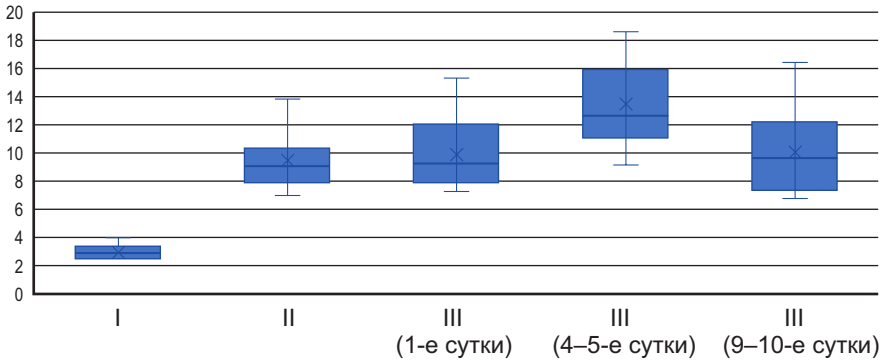


РИС. 1.

Сравнение показателей FKN в исследуемых группах: I – группа здоровых лиц; II – группа пациентов с внезапным индивидуально значимым повышением АД; III – группа пациентов с ишемическим инсультом на 1-е, 4–5-е и 9–10-е сутки

FIG. 1.

Comparison of FKN indices in the study groups: I – group of healthy individuals; II – group of patients with sudden individually significant increase in blood pressure; III – group of patients with ischemic stroke on the days 1, 4–5 and 9–10

ТАБЛИЦА 7

СРАВНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ШКАЛЫ NIHSS И МОДИФИЦИРОВАННОЙ ШКАЛЫ РЭНКИНА НА ДЕНЬ ПОСТУПЛЕНИЯ И НА ДЕНЬ ВЫПИСКИ ПАЦИЕНТОВ

TABLE 7

COMPARISON OF NIHSS AND MODIFIED RANKIN SCALE SCORES ON THE DAY OF ADMISSION AND ON THE DAY OF DISCHARGE

Оценочная шкала (баллы)	При поступлении (n = 20)	При выписке (n = 20)	Тестовая статистика	
	1	2	Краскела – Уоллиса	DSCF
NIHSS	6,00 (4,75; 8,25)	1,00 (1,00; 4,25)	H = 78,0 df = 4 p < 0,001	W_{1-2} = 6,94 p_{1-2} < 0,001
Модифицированная шкала Рэнкина	3,00 (2,00; 4,00)	1,00 (1,00; 1,25)	H = 78,1 df = 4 p < 0,001	W_{1-2} = 7,28 p_{1-2} < 0,001

Примечание. p_{1-2} – уровень статистической значимости различий между данными шкал в день поступления и в день выписки.

а по МШР – в 3 раза в сравнении с данными в день поступления пациентов, что свидетельствует о регрессе неврологического дефицита и, как следствие, об уменьшении инвалидизации пациентов, перенёсших ИИ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, у лиц с гипертоническим кризом наблюдается повышение концентрации FKN в сыворотке крови по сравнению со здоровыми лицами. Вероятнее

всего, данное явление связано с тем, что в момент резкого повышения АД возникает дисциркуляция в мозговом сосудистом русле, особенно в нейроваскулярной единице, приводящая к определённому комплексу реакций: дисфункции эндотелия, гипоксии, запуску оксидантного стресса, повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера, что обуславливает не только миграцию активных иммунокомпетентных клеток из сосудистого русла в ткань головного мозга, но и активацию микроглии.

Известно, что FKN функционирует, с одной стороны, как молекула адгезии, с другой – как растворимый хемоаттрактант после протеолитического высвобождения [15]. FKN и его рецептор постоянно экспрессируются в ткани головного мозга, естественных киллерах, CD8T-лимфоцитах, моноцитах, дендритных, эндотелиальных и эпителиальных клетках [16].

Показано, что в центральной нервной системе FKN обладает преимущественно нейропротекторными свойствами как при нейротоксичности, вызванной глутаматом, так и при NMDA-индуцированной нейротоксичности в первичных культурах *in vitro* [17]. В эксперименте с моделью ИИ на лабораторных мышах введение FKN приводило к высвобождению аденозина, который при взаимодействии с аденозиновым рецептором 1-го типа оказывал нейропротекторный эффект [18]. В нескольких моделях *in vitro* и *in vivo* продемонстрировано, что хемокин FKN ингибирует деструктивное воспаление [19], увеличивает выживаемость нейронов при помощи протеинкиназы [20].

Доказано, что весомый вклад в патогенез эссенциальной гипертензии вносят иммунные механизмы. Т-лимфоциты, моноциты, макрофаги, депонируясь в адвентиции сосудистой стенки, а также в периваскулярном пространстве, селезёнке и почках, обладают способностью продуцировать провоспалительные цитокины, которые могут принимать непосредственное участие в патогенезе артериальной гипертензии [21]. Предполагается, что повышение уровня АД может быть индуцировано продукцией FKN микроглией через механизм подавления нейрональной синтазой оксида азота сигнального пути [22].

Таким образом, увеличение концентрации FKN у пациентов с гипертоническим кризом и при отсутствии неврологической симптоматики может свидетельствовать об активации процессов нейровоспаления и нейропротекции в головном мозге.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведённом исследовании нами было выявлено, что уровень фракталкина у пациентов с гипертоническим кризом без признаков острых изменений в органах-мишенях и у пациентов в первые сутки после развития ИИ выше, чем в группе контроля, в 3,2 раза ($p < 0{,}001$). При динамическом наблюдении в течение десяти дней установлено, что содержание FKN в сыворотке крови у пациентов с ИИ оставалось на стабильно высоком уровне. Наибольший уровень зарегистрирован на 4–5-й день от начала заболевания и превышал исходный на 27,5 % ($p < 0{,}001$). Также уровень FKN положительно коррелировал с показателями шкал NIHSS, Рэнкина и АД ($p < 0{,}001$).

Дальнейшее изучение роли FKN в патогенезе ишемического инсульта является перспективным направлением. Планируется продолжить работу с использованием других групп исследуемых лиц, а именно с различными патогенетическими подтипами ИИ. Полученные результаты в дальнейшем могут послужить основой для возможного использования FKN как одного из инструментов, применяемых при ведении больных с острой церебральной ишемией.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гусев Е.И., Коновалов А.Н., Скворцова В.И. *Неврология. Национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019; (1). [Gusev EI, Konovalov AN, Skvortsova VI. *Neurology. National guidelines.* Moscow: GEOTAR-Media; 2019; (1). (In Russ.)].

2. Fugate JE, Rabinstein AA. Absolute and relative contraindications to IV rt-PA for acute ischemic stroke. *Neurohospitalist*. 2015; 5(3): 110-121. doi: 10.1177/1941874415578532

3. Endres M, Moro MA, Nolte CH, Dames C, Buckwalter MS, Meisel A. Immune pathways in etiology, acute phase, and chronic sequelae of ischemic stroke. *Circ Res*. 2022; 130(8): 1167-1186. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319994

4. Liu RR, Song PP, Gu XH, Liang WD, Sun W, Hua Q, et al. Comprehensive landscape of immune infiltration and aberrant pathway activation in ischemic stroke. *Front Immunol*. 2022; 12: 766724. doi: 10.3389/fimmu.2021.766724

5. Ghelani DP, Kim HA, Zhang SR, Drummond GR, Sobey CG, De Silva TM. Ischemic stroke and infection: A brief update on mechanisms and potential therapies. *Biochem Pharmacol*. 2021; 193: 114768. doi: 10.1016/j.bcp.2021.114768

6. Ма-Ван-дэ А.Ю., Фефелова Е.В., Ширшов Ю.А. Роль отдельных молекул нейровоспаления в патогенезе ишемического инсульта. Часть I. *Забайкальский медицинский вестник*. 2024; (1): 139-147. [Ma-Van-de AYu, Fefelova EV, Shirshov YuA. The role of individual neuroinflammation molecules in pathogenesis ischemic stroke. Part I. *Transbaikalian Medical Bulletin*. 2024; (1): 139-147. (In Russ.)]. doi: 10.52485/19986173_2024_1_139

7. Mao M, Xu Y, Zhang XY, Yang L, An XB, Qu Y, et al. MicroRNA-195 prevents hippocampal microglial/macrophage polarization towards the M1 phenotype induced by chronic brain hypoperfusion through regulating CX3CL1/CX3CR1 signaling. *J Neuroinflammation*. 2020; 17(1): 244. doi: 10.1186/s12974-020-01919-w

8. Navabi SP, Badreh F, Khombi Shooshtari M, Hajipour S, Moradi Vastegani S, Khoshnam SE. Microglia-induced neuroinflammation in hippocampal neurogenesis following traumatic brain injury. *Heliyon*. 2024; 10(16): e35869. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e35869

9. Fan QYu, Gayen M, Singh N, Gao F, He WX, Hu XY, et al. The intracellular domain of CX3CL1 regulates adult neurogenesis and Alzheimer's amyloid pathology. *J Experim Med*. 2019; 216(8): 1891-1903. doi: 10.1084/jem.20182238

10. Clark AK, Malcangio M. Fractalkine/CX3CR1 signaling during neuropathic pain. *Front Cell Neurosci*. 2014; (8): 121. doi: 10.3389/fncel.2014.00121

11. Всероссийское общество неврологов. *Ишемический инсульт и транзиторная ишемическая атака: клинические рекомендации. М.*; 2024. [Russian Society of Neurologists. *Ischemic stroke and transient ischemic attack: Clinical guidelines.* Moscow; 2024. (In Russ.)].

12. Российское кардиологическое общество. *Артериальная гипертензия у взрослых: клинические рекомендации*. М.; 2024. [Russian Society of Cardiology. *Arterial hypertension in adults: Clinical guidelines.* Moscow; 2024. (In Russ.)].

13. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, et al. 2018 Guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2018; 49(3): e46-e99. doi: 10.1161/STR.0000000000000158

14. Шмонин А.А., Мальцева М.Н., Мельникова Е.В., Иванова Г.Е. Модифицированная шкала Рэнкина (mRS) – универсальный инструмент оценки независимости и инвалидизации пациентов в медицинской реабилитации. *Consilium Medicum*. 2017; 19(2.1): 8-13. [Shmonin AA, Maltseva MN, Melnikova EV, Ivanova GE. The Modified Rankin Scale (mRS) is a universal tool for assessing independence and disability of patients in medical rehabilitation. *Consilium Medicum*. 2017; 19(2.1): 8-13. (In Russ.)].

15. Pezeshkian F, Shahriarirad R, Mahram H. An overview of the role of chemokine CX3CL1 (Fractalkine) and CX3C chemokine receptor 1 in systemic sclerosis. *Immun Inflamm Dis.* 2024; 12(10): e70034. doi: 10.1002/iid3.70034

16. Finneran D, Li Q, Subbarayan MS, Joly-Amado A, Kamath S, Dengler DG, et al. Concentration and proteolysis of CX3CL1 may regulate the microglial response to CX3CL1. *Glia*. 2023; 71(2): 245-258. doi: 10.1002/glia.24269

17. Palsamy K, Chen JY, Skaggs K, Qadeer Y, Connors M, Cutler N, et al. Microglial depletion after brain injury prolongs inflammation and impairs brain repair, adult neurogenesis and pro-regenerative signaling. *Glia*. 2023; 71(11): 2642-2663. doi: 10.1002/glia.24444

18. Microglia regulate motor neuron plasticity via reciprocal fractalkine/adenosine signaling. *bioRxiv*. 2024; 2024.05.07.592939. doi: 10.1101/2024.05.07.592939

19. Zhan L, Qiu M, Zheng J, Lai M, Lin K, Dai J, et al. Fractalkine/CX3CR1 axis is critical for neuroprotection induced by hypoxic postconditioning against cerebral ischemic injury. *Cell Commun Signal.* 2024; 22(1): 457. doi: 10.1186/s12964-024-01830-4

20. Boehme SA, Lio FM, Maciejewski-Lenoir D, Bacon KB, Conlon PJ. The chemokine fractalkine inhibits Fas-mediated cell death of brain microglia. *J Immunol.* 2000; 165(1): 397-403. doi: 10.4049/jimmunol.165.1.397

21. Мордовин В.Ф., Зюбанова И.В., Манукян М.А., Доржиева И.К., Вторушина А.А., Хунхинова С.А., и др. Роль иммуно-воспалительных механизмов в патогенезе артериальной гипертонии. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2023; 38(1): 21-27. [Mordovin VF, Zyubanova IV, Manukyan MA, Dorzhieva IK, Vtorushina AA, Khunkhinova SA, et al. The role of immune-inflammatory mechanisms in the pathogenesis of hypertension. *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2023; 38(1): 21-27. (In Russ.)]. doi: 10.29001/2073-8552-2023-38-1-21-27

22. Ho CY, Lin YT, Chen HH, Ho WY, Sun GC, Hsiao M, et al. CX3CR1-microglia mediates neuroinflammation and blood pressure regulation in the nucleus *tractus solitarii* of fructose-induced hypertensive rats. *J Neuroinflammation.* 2020; 17(1): 185. doi: 10.1186/s12974-020-01857-7

Сведения об авторах

Ма-Ван-дэ Алексей Юрьевич – ассистент кафедры неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: alekseymavande@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-9005-3581

Фефелова Елена Викторовна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической физиологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: fefelova.elena@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0724-0352

Ширшов Юрий Александрович – кандидат медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: shirshov51@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1128-8789

Ма-Ван-дэ Василина Денисовна – ассистент кафедры факультетской терапии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: vasilina-10@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6539-802X

Information about the authors

Aleksey Yu. Ma-Van-de – Teaching Assistant at the Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Chita State Medical Academy, e-mail: alekseymavande@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-9005-3581

Elena V. Fefelova – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Pathological Physiology, Chita State Medical Academy, e-mail: fefelova.elena@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0724-0352

Yuri A. Shirshov – Cand. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Chita State Medical Academy, e-mail: shirshov51@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1128-8789

Vasilina D. Ma-Van-de – Teaching Assistant of the Department of Intermediate Level Therapy, Chita State Medical Academy, e-mail: vasilina-10@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6539-802X

ЗНАЧЕНИЕ МАРКЕРОВ ОСТЕОЛИЗИСА И ОСТЕОГЕНЕЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ КЕФАЛОГЕМАТОМ У НОВОРОЖДЁННЫХ

Сущенко Р.А. [1],
Панченко А.С. [2]

[1] ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672000, г. Чита, ул. Горького, 39а, Россия)
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2, Россия)

Автор ответственный за переписку:
Сущенко Руслан Алексеевич,
e-mail: ruslansushko@bk.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Особое значение в процессе репарации при кефалогематомах имеет патологическое ремоделирование костей свода черепа. Проследить изменения состояния костной ткани при кефалогематомах можно, основываясь на определении концентрации маркеров остеолизиса и остеогенеза в крови у новорождённых.*

Цель работы. *Определить уровень маркеров остеолизиса (бета-CrossLaps) и остеогенеза (N-остеокальцин, рецептор фактора роста эндотелия сосудов 1-го типа (VEGFR1, vascular endothelial growth factor receptor 1)) в сыворотке венозной крови у новорождённых с кефалогематомами; оценить динамику локальных костных изменений.*

Методы. *Под наблюдением находилось 90 новорождённых: 30 пациентов с кефалогематомами средних и больших размеров (выполняли пункцию кефалогематомы); 30 пациентов с кефалогематомами малых размеров (пункцию не выполняли); 30 здоровых детей. Уровень маркеров остеолизиса и остеогенеза в крови определяли методом фотометрии с использованием иммуноферментного анализа. Регистрацию локальных костных изменений осуществляли методами ультрасонографии и краниометрии.*

Результаты. *Уровень бета-CrossLaps у пациентов первой группы был выше в 2,57 раза, у пациентов второй группы – в 4,45 раза, чем у здоровых новорождённых, на 10-е сутки ($p < 0,001$). Концентрация N-остеокальцина на 10-е сутки во второй группе превышала показатели первой группы в 1,43 раза ($p < 0,001$). Концентрация VEGFR1 у пациентов первой группы была выше в 1,9 раза, а у пациентов второй группы – в 3,01 раза, чем в группе контроля ($p < 0,001$). Локальные остеолитические изменения черепа преобладали у пациентов первой группы на 10-е сутки, а оссификация – во второй на 28-е сутки наблюдения ($p < 0,001$).*

Заключение. *Репарация при кефалогематомах сопряжена с явлениями резорбции костей свода черепа и патологической оссификацией кровоизлияния в зоне сепарации надкостницы. Изменение уровня маркеров остеогенеза и остеолизиса в сыворотке венозной крови у пациентов с кефалогематомами может отражать динамику и направленность патофизиологического процесса ремоделирования костей свода черепа.*

Ключевые слова: *кефалогематома, новорождённый, оссификация, остеолизис, бета-CrossLaps, N-остеокальцин, VEGFR1*

Статья поступила: 23.08.2024
Статья принята: 03.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Сущенко Р.А., Панченко А.С. Значение маркеров остеолизиса и остеогенеза в патогенезе кефалогематом у новорождённых. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 144-150. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.15

THE IMPORTANCE OF MARKERS OF OSTEOLYSIS AND OSTEOGENESIS IN THE PATHOGENESIS OF CEPHALOHEMATOMA IN NEWBORNS

Sushchenko R.A. [1], **Panchenko A.S.** [2]

[1] Chita State Medical Academy (Gorkogo str. 39A, Chita 672000, Russian Federation)
[2] St. Petersburg State Pediatric Medical University (Litovskaya str. 2, Saint Petersburg 194100, Russian Federation)

Corresponding author:
Ruslan A. Sushchenko,
e-mail: ruslansushko@bk.ru

ABSTRACT

Background. *Of particular importance in the repair process for cephalohematomas is the pathological remodeling of the bones of the cranial vault. Local changes in the bones of the skull are accompanied by the processes of osteolysis and osteogenesis and have uncertain dynamics. Changes in the state of bone tissue in cephalohematomas can be monitored based on determining the concentration of markers of osteolysis and osteogenesis in the blood of newborns.*

The aim. *To define the level of markers of osteolysis (beta-CrossLaps) and osteogenesis (N-osteocalcin, vascular endothelial growth factor receptor 1 (VEGFR1)) in the venous blood serum of newborns with cephalohematomas and evaluate the dynamics of local bone changes.*

Methods. *There were 90 newborns under observation, 30 patients with medium and large cephalohematomas (the cephalohematoma was punctured), 30 patients with small cephalohematomas (the puncture was not performed) and 30 healthy children. The level of markers of osteolysis and osteogenesis in the blood was determined by photometry using an enzyme-linked immunosorbent assay. Registration of local bone changes was carried out using ultrasonography and craniometry.*

Results. *The level of beta-CrossLaps in patients from the first group was 2.57 times higher, and in patients from the second group 4.45 times higher, than in healthy newborns on day 10 ($p < 0.001$). The concentration of N-Osteocalcin on day 10 in the second group was 1.43 times higher than in the first group ($p < 0.001$). The concentration of VEGFR1 in patients from the first group was 1.9 times higher, and in patients from the second group 3.01 times higher than in the control group ($p < 0.001$). Local osteolytic changes in the skull predominated in patients of the first group on day 10, and ossification in the second group on day 28 of observation ($p < 0.001$).*

Conclusion. *Reparation for cephalohematomas is associated with the phenomena of resorption of the bones of the cranial vault and pathological ossification of hemorrhage in the zone of periosteum separation. Changes in the level of markers of osteogenesis and osteolysis in venous blood serum in patients with cephalohematomas may reflect the dynamics and direction of the pathophysiological process of remodeling of the bones of the cranial vault.*

Key words: *cephalohematoma, newborn, ossification, osteolysis, Beta-CrossLaps, N-Osteocalcin, VEGFR1*

Received: 23.08.2024
Accepted: 03.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Sushchenko R.A., Panchenko A.S. The importance of markers of osteolysis and osteogenesis in the pathogenesis of cephalohematoma in newborns. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 144-150. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.15

ОБОСНОВАНИЕ

Кефалогематома является одним из видов интранатальной травмы головы у новорождённых и представляет собой поднадкостничное кровоизлияние с травматической сепарацией надкостницы от костей свода черепа [1]. Частота возникновения кефалогематом, по данным литературы, варьирует от 0,2 % до 10 % случаев и не имеет тенденции к снижению [2]. В ходе репаративного процесса кефалогематома подвергается спонтанной резорбции в течение короткого времени, однако в большинстве клинических ситуаций отмечается её длительная персистенция, что может способствовать развитию осложнений [3–5]. Особым видом осложнения при длительно существующей кефалогематоме может быть локальное патологическое ремоделирование костей свода черепа [6–8]. Механизм ремоделирования костей черепа сопряжён с оссификацией надкостницы, формированием локальных гиперостозов и резорбцией подлежащей кости [9]. При кефалогематомах динамика и направленность перестройки костей свода черепа являются непредсказуемыми. Однако остеогенез и остеолизис, являющиеся основой ремоделирования костной ткани, могут быть отслежены в ходе патофизиологического процесса [10]. Проследить изменения состояния костной ткани при кефалогематомах можно, основываясь на определении концентрации маркеров остеогенеза и остеолизиса в крови у новорождённых. Одними из маркеров, отражающих состояние костной ткани, являются бета-CrossLaps, N-остеокальцин и рецептор фактора роста эндотелия сосудов 1-го типа (VEGFR1, vascular endothelial growth factor receptor 1). Бета-CrossLaps – С-концевой телопептид, который образуется при деградации коллагена 1-го типа органического матрикса кости; повышение его уровня в сыворотке крови может свидетельствовать о распаде зрелой костной ткани [11, 12]. N-остеокальцин – основной витамин К-зависимый неколлагеновый белок костного матрикса, синтезируемый остеобластами, который участвует в минерализации костной ткани и отражает процессы остеогенеза [11, 12]. VEGFR1 – участвует в передаче митотического сигнала при стимуляции синтеза костной ткани путём индукции ангиогенеза [13, 14]. Изучение уровня показателей остеогенеза и остеолизиса при кефалогематомах в совокупности с клиническим наблюдением за локальными изменениями костей свода черепа стало основой нашего исследования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить уровень маркеров остеолизиса (бета-CrossLaps) и остеогенеза (N-остеокальцин, VEGFR1) в сыворотке венозной крови у новорождённых с кефалогематомами и оценить динамику локальных костных изменений.

МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 90 детей периода новорождённости. Из них первую группу исследования ($n = 30$) составили пациенты с кефалогематомами средних (5–8 см в диаметре) и больших (более 8 см в диаметре) размеров. Пациентам первой группы выполняли отсроченное пункционное лечение кефалогематомы на 10-е сутки жизни. Вторая группа наблюдения ($n = 30$) была сформирована из пациентов с кефалогематомами малых размеров (до 5 см в диаметре). У второй группы пункцию кефалогематомы не выполняли. Контрольная группа ($n = 30$) состояла из здоровых детей. Пациентам первой и второй групп проводили серию из двукратного лабораторного и инструментального обследований на 10-е и 28-е сутки жизни. В контрольной группе обследование проводили однократно.

Исследование проводилось в период с 2023 по 2024 г. Во всех случаях было получено информированное добровольное согласие от законного представителя ребёнка. Исследование было проведено с учётом требований локального этического комитета ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 117 от 10.11.2021) и в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2013 г. **Критерии включения:** доношенность (срок гестации – 37–41 неделя); отсутствие противопоказаний к проведению хирургического пункционного лечения или инвазивному обследованию; наличие у пациента кефалогематомы. **Критерии исключения:** несоответствие критериям доношенности; наличие врождённых аномалий остеогенеза или перинатальной травмы костей (переломов) любой локализации; наличие противопоказаний к проведению хирургических инвазивных манипуляций. Лабораторное исследование включало определение концентрации в сыворотке венозной крови новорождённых маркера костной резорбции бета-CrossLaps (bCTx), маркера костного ремоделирования N-остеокальцина (ОС) и рецептора васкулоэндотелиального фактора роста VEGFR1. Забор венозной крови осуществляли в утренние часы, перед приёмом пищи и до проведения пункционного хирургического лечения (на 10-е сутки) у пациентов со средними и большими объёмами кефалогематомы. Уровень маркеров остеолизиса и остеогенеза в крови определяли методом фотометрии на анализаторе Biochrom Asys Expert 96 (ASYS-Hitech, Австрия) с использованием набора для иммуноферментного анализа Enzime-Linked Immunosorbent Assay Kit (CCC, США).

Инструментальное обследование пациентов было направлено на определение объ`ма поднадкостничного кровоизлияния, измерение величины деформации кости в проекции кефалогематомы и их динамики. Для определения объёма кровоизлияния и регистрации костных изменений применяли ультрасонографию [1] (аппарат Voluson E6 GE, США) и локальную краниометрию.

Статистический анализ проводили на основании рекомендаций Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors) и руководства «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе (САМПЛ)» [15]. Нормальность распределения количественных данных оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Данные имели распределение, отличное от нормального, и были описаны с применением медианы (Me) и процентилей (25-

й; 75-й). Для оценки равенства медиан полученных количественных показателей применяли однофакторный дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса (H); при $p < 0,05$ различия считали статистически значимыми. При наличии статистически значимой разницы между группами выполняли попарное сравнение показателей с использованием критерия Манна – Уитни (U) и поправки Бонферрони. Оценку статистической значимости динамических изменений показателей осуществляли с помощью теста Вилкоксона (T-критерий преобразован в величину Z (Z-score)). Корреляционный анализ проводили путём расчёта коэффициента ранговой корреляции Спирмена и определения уровня его статистической значимости. Статистически значимыми значения считали при $p < 0,05$. Для статистического анализа использовался пакет программ IBM SPSS Statistics version 25.0 (IBM Corp., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На 10-е сутки исследования уровень bCTx в сыворотке венозной крови у пациентов с кефалогематомами средних и больших размеров был выше в 2,57 [1,69; 11,43] раза, чем в группе контроля ($U = 99,0$; $p < 0,001$). При этом концентрация bCTx на 10-е сутки у пациентов с кефалогематомами малых размеров была больше в 4,45 [3,27; 7,94] раза по отношению к контрольной группе ($U = 69$; $p < 0,001$). На 28-е сутки концентрация bCTx в сыворотке венозной крови у пациентов первой группы была выше в 2,51 [2,15; 5,56] раза, чем аналогичный показатель контрольной группы ($U = 51,0$; $p < 0,001$). Концентрация bCTx во второй группе наблюдения превышала в 3,48 [3,05; 13,43] раза значения, полученные на 28-е сутки у группы контроля ($U = 90,0$; $p < 0,001$).

Концентрация ОС на 10-е сутки в первой группе была выше в 1,77 [1,14; 2,71] раза, чем в контрольной ($U = 248,0$; $p = 0,005$). Во второй группе данный показатель превышал в 2,55 [1,85; 3,61] раза значения группы контроля ($U = 127,0$; $p < 0,001$). При этом содержание в венозной крови ОС в группе с малым объёмом кефалогематом было больше в 1,43 [1,21; 2,61] раза, чем в группе со средним и большим объёмом поднадкостничного кровоизлияния ($U = 262,0$; $p = 0,005$). На 28-е сутки концентрация остеокальцина у первой группы превышала в 1,81 [1,42; 2,90] раза показатели контрольной группы ($U = 154,0$; $p < 0,001$). Во второй группе содержание ОС было выше в 2,13 [1,46; 3,34] раза, чем в группе контроля ($U = 167,0$; $p < 0,001$).

На 10-е сутки исследования концентрация VEGFR1 в первой группе превышала в 1,9 [1,48; 3,18] раза показатели контрольной группы ($U = 171,0$; $p < 0,001$). У второй группы исследования аналогичный показатель был выше в 3,01 [2,06; 5,14] раза, чем в группе контроля ($U = 108,0$; $p < 0,001$). На 28-е сутки исследования концентрация VEGFR1 в группе наблюдения со средними и большими объёмами кефалогематом была выше в 2,22 [1,67; 3,45] раза, чем в контрольной группе ($U = 86,0$; $p < 0,001$). Концентрация VEGFR1 в венозной крови у пациентов с малыми объёмами поднадкостничного кровоизлияния превышала в 2,37 [1,51; 5,07] раза значения группы контроля ($U = 170,5$; $p < 0,001$). Результаты исследования уровня маркеров остеогенеза и остеолизиса приведены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1

УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ ОСТЕОЛИЗИСА И ОСТЕОГЕНЕЗА КОСТНОЙ ТКАНИ В СЫВОРОТКЕ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ У НОВОРОЖДЁННЫХ С КЕФАЛОГЕМАТОМАМИ

TABLE 1

THE LEVEL OF OSTEOLYSIS AND OSTEOGENESIS MARKERS OF BONE TISSUE IN VENOUS BLOOD SERUM IN NEWBORNS WITH CEPHALHEMATOMAS

Концентрация в сыворотке крови (пг/мл)	Сутки исследования	Исследуемые группы: Контроль ($n = 30$)	Группа 1 ($n = 30$)	Группа 2 ($n = 30$)	Тестовая статистика (df = 2)
Бета-CrossLaps	10-е	355,7 [344,6; 405,5]	916,2 [686,9; 3940,5]	1583,3 [1327,9; 2739,2]	H = 39,97, $p < 0,001$
	28-е		893,4 [873,0; 1917,8]	1238,6 [1237,8; 4628,3]	H = 42,77, $p < 0,001$
Статистическая значимость динамических изменений			$Z = -0,92$; $p = 0,36$	$Z = -1,1$; $p = 0,27$	Z-score
N-остеокальцин	10-е	216,3 [216,0; 259,9]	384,5 [298,2; 586,8]	551,9 [482,4; 780,8]	H = 24,94, $p < 0,001$
	28-е		392,1 [370,1; 626,8]	462,7 [380,9; 722,4]	H = 23,11, $p < 0,001$
Статистическая значимость динамических изменений			$Z = -1,04$; $p = 0,29$	$Z = -1,22$; $p = 0,22$	Z-score
VEGFR1	10-е	187,3 [186,7; 239,5]	357,4 [356,5; 595,4]	564,4 [495,3; 960,1]	H = 30,67, $p < 0,001$
	28-е		416,9 [400,3; 645,3]	444,9 [361,9; 951,1]	H = 30,47, $p < 0,001$
Статистическая значимость динамических изменений			$Z = -0,24$; $p = 0,81$	$Z = -0,77$; $p = 0,44$	Z-score

Примечание. Показатели представлены в виде Me [Q25; Q75]; H – критерий Краскела – Уоллиса (статистическая значимость при $p < 0,05$).

Объём кефалогематомы в первой группе (получавшей пункционное лечение) был больше в 3,38 [1,33; 4,83] раза, чем во второй группе (U = 162,0; p < 0,001). При оценке краниометрических показателей на 10-е и 28-е сутки отмечены статистически значимые различия величины деформации кости в проекции кефалогематомы между первой и второй группами исследования (отрицательные значения указывают на пролабирование костной пластинки по направлению к внутреннему пространству черепа, положительные значения – на протуберацию костной пластинки вследствие оссификации гематомы). На 10-е сутки исследования у пациентов со средними и большими объёмами поднадкостничного кровоизлияния величина остеолитического провисания кости в проекции кефалогематомы была в –3,0 [–4,4; –1,0] раза больше, чем в группе с малыми объёмами кровоизлияния (U = 244,0; p = 0,002). На 28-е сутки величина деформации кости в проекции кефалогематомы у пациентов с малыми объёмами кровоизлияния превышала в 5,0 [1,6; 6,9] раз показатели группы пациентов, получивших пункционное лечение (U = 199,5; p = 0,001). При оценке статистической значимости динамических изменений у пациентов, получивших отсроченное пункционное лечение, отмечено уменьшение показателей остеолитического провисания к 28-м суткам жизни с восстановлением конфигурации черепа (Z = –4,42; p < 0,001). При этом в группе с малыми объёмами кровоизлияния (не получавших пункционное лечение) выявлено увеличение деформации кости в проекции кефалогематомы к 28-м суткам за счёт оссификации остаточного объёма кровоизлияния (Z = –4,46; p < 0,001). Результаты исследования краниометрических показателей костей черепа приведены в таблице 2.

Установлена обратная умеренная корреляционная связь между величиной деформации кости в проекции кефалогематомы и концентрацией маркера костной резорбции bCTx на 10-е сутки исследования (ρ = –0,3; p = 0,004), при этом объём кровоизлияния имел прямую умеренную корреляционную связь с bCTx (ρ = 0,54; p < 0,001) и VEGFR1 (ρ = 0,41; p < 0,001). На 28-е сутки величина деформации кости имела прямую умеренную корреляционную связь с уровнем bCTx (ρ = 0,46; p < 0,001) и маркером костного ремоделирования ОС (ρ = 0,33; p = 0,001).

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведённого исследования нами установлено, что в сыворотке венозной крови у пациентов периода новорождённости с кефалогематомами наблюдается статистически значимое увеличение уровня маркеров остеолизиса (bCTx) и остеогенеза (ОС, VEGFR1) костной ткани.

Нами отмечены более высокие показатели концентрации bCTx в сыворотке венозной крови у пациентов с малыми размерами кефалогематом на 10-е и 28-е сутки исследования. Появление высоких концентраций bCTx в сыворотке крови возникает вследствие распада коллагена 1-го типа матрикса зрелой кости и указывает на резорбтивные процессы в костной ткани [11, 12]. Данный факт может свидетельствовать о более активном остеолитическом процессе в зоне сепарации надкостницы у пациентов с малым объёмом поднадкостничного кровоизлияния. Однако при краниометрической оценке локальных изменений свода черепа на 10-е сутки исследования мы наблюдали более выраженное остеолитическое провисание костной пластинки свода черепа в проекции кефалогематомы у пациентов со средними и большими объёмами поднадкостничного кровоизлияния. Выявленное противоречие может указывать на наличие иных факторов, влияющих на изменение конфигурации костей черепа в ходе локального остеолитического процесса. Схожие локальные изменения костей черепа отмечает ряд авторов при оссификации кефалогематом больших объёмов [16–18]. Вероятным фактором, влияющим на конфигурацию костной пластинки и её смещение по направлению к внутреннему пространству черепа, может выступать гидростатическое давление гематомы на подлежащий участок деминерализованной кости. Влияние гидростатического давления на участок деминерализации подтверждает тот факт, что после эвакуации пункционным способом содержимого кефалогематомы у пациентов со средними

ТАБЛИЦА 2

ОЦЕНКА ЛОКАЛЬНЫХ КРАНИОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОСТЕЙ СВОДА ЧЕРЕПА У НОВОРОЖДЁННЫХ С КЕФАЛОГЕМАТОМАМИ И ИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ДИНАМИКЕ

TABLE 2

ASSESSMENT OF LOCAL CRANIOMETRIC PARAMETERS OF THE CALVARIAL BONES IN NEWBORNS WITH CEPHALOHEMATOMAS AND THEIR CHANGES OVER TIME

Показатели	Сутки исследования	Исследуемые группы			Тестовая статистика (df = 2)
		Контроль (n = 30)	Группа 1 (n = 30)	Группа 2 (n = 30)	
Величина деформации кости в проекции кефалогематомы (мм)	10-е	0,0	–3,0 [–4,4; –1,7]	0,0 [–1,7; 0,0]	H = 33,14; p < 0,001
	28		0,0 [0,0; 2,2]	5,0 [3,6; 6,9]	H = 35,97; p < 0,001
Статистическая значимость динамических изменений			Z = –4,42; p < 0,001	Z = –4,46; p < 0,001	Z-score

Примечание. Показатели представлены в виде Me [Q25; Q75]; H – критерий Краскела – Уоллиса (статистическая значимость при p < 0,05).

и большими объемами кровоизлияния происходило торможение динамики остеолитического провисания с последующим восстановлением нормальной конфигурации черепа к 28-м суткам наблюдения.

В ходе исследования выявлено, что концентрация ОС в сыворотке венозной крови у пациентов с малыми объёмами поднадкостничного кровоизлияния была выше, чем у пациентов со средними и большими объёмами поднадкостничного кровоизлияния на 10-е сутки исследования. Остеокальцин является неколлагеновым белком костного матрикса, синтезируется на поздней стадии дифференцировки остеобластов и участвует в минерализации костной ткани [19–21]. Повышение уровня ОС в сыворотке крови указывает на процессы остеогенеза, а также может свидетельствовать о явлениях патологической кальцификации [22, 23]. Наличие более высоких показателей концентрации остеокальцина на 10-е сутки исследования у пациентов с малым объёмом кровоизлияния может указывать на начало ранней оссификации кефалогематомы. Данное наблюдение подтверждается краниометрическими показателями величины деформации костной пластинки у пациентов с малыми объёмами кровоизлияния. Так, у пациентов с малыми объёмами поднадкостничного кровоизлияния чаще регистрировалась протуберация костной пластики вследствие оссификация кефалогематомы на 28-е сутки исследования.

Отмечено, что более высокие показатели концентрации в венозной крови VEGFR1 были у пациентов с малым объёмом поднадкостничного кровоизлияния на 10-е сутки исследования. Рецептор фактора роста эндотелия сосудов 1-го типа экспрессируется на мембранах макрофагального происхождения и участвует в репаративном процессе [24]. Экспрессия VEGFR1 на поверхности макрофагов зависит от факторов микроокружения и регулируется содержанием кислорода в тканях, стимулируя неоангиогенез в условиях тканевой гипоксии [25]. Кефалогематома представляет собой изолированную от системного кровотока полость между отслоенной надкостницей и кортикальной пластинкой кости свода черепа. В условиях изоляции от системного кровотока неизбежно возникает локальная гипоксия тканей, стимулирующая повышение экспрессии VEGFR1 и рекрутирование макрофагов. Можно предположить, что локальная гипоксия может повышать активность остеокластов внутреннего слоя надкостницы, приводя к остеолитическим изменениям подлежащей кости с параллельной стимуляцией синтеза костной ткани путём индукции ангиогенеза. Данное предположение может объяснить тот факт, что у пациентов с малыми объёмами поднадкостничного кровоизлияния при более высокой концентрации в сыворотке крови bCTx, указывающей на выраженный остеолитический процесс, наблюдалась ранняя оссификация кефалогематом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Репарация при кефалогематомах сопряжена с явлениями резорбции костей свода черепа и патологической оссификацией кровоизлияния в зоне сепарации надкостницы. Изменение уровня маркеров остеогенеза и остеолизиса в сыворотке венозной крови у пациентов с кефалогематомами может отражать динамику и направленность патофизиологического процесса ремоделирования костей свода черепа.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Иова А.С. Особенности ведения новорождённых с кефалогематомами: индивидуализированный подход и минимальная инвазивность. *StatusPraesens*. *Педиатрия и неонатология*. 2020; 3-4(70-72): 101-105. [Iova AS. Features of the management of newborns with cephalohematomas: Individualized approach and minimal invasiveness. *StatusPraesens. Pediatrics and Neonatology*. 2020; 3-4(70-72): 101-105. (In Russ.)].

2. Киосов А.Ф., Галиаскарова А.Р. Факторы риска и клинические особенности формирования кефалогематом у новорожденных детей. *Уральский медицинский журнал*. 2019; 15(183): 23-27. [Kiosov AF, Galiaskarova AR. Risk factors and clinical features of the formation of cephalhematoma in newborns. *Ural Medical Journal*. 2019; 15(183): 23-27. (In Russ.)]. doi: 10.25694/urmj.2019.15.07

3. Kandemirli SG, Cingoz M, Bilgin C, Olmaz B. Temporal evolution of imaging findings in ossified cephalohematoma. *J Craniofac Surg*. 2020; 31(4): 375-378. doi: 10.1097/scs.0000000000006319

4. Calloni T, Trezza A, Mazzoleni F, Cavaliere M, Canonico F, Sganzerla E, et al. Infant ossified cephalohematoma: A review of the surgical management and technical update. *J Neurosurg Sci*. 2020; 64(6): 552-557. doi: 10.23736/s0390-5616.20.05052-3

5. Üçer M, Taçyıldız AE, Aydın I, Akkoyun KN, Işık S. Observational case analysis of neonates with large cephalohematoma. *Cureus*. 2021; 13(4): 14415. doi: 10.7759/cureus.14415

6. Kopacz A, Nagy L, Demke J. Bilateral cephalohematoma with sagittal synostosis and scaphocephaly. *J Craniofac Surg*. 2020; 31(3): 260-261. doi: 10.1097/scs.0000000000006223

7. Wong CH, Foo CL, Seow WT. Calcified cephalohematoma: Classification, indications for surgery and techniques. *J Craniofac Surg*. 2006; 17(5): 970-979. doi: 10.1097/01.scs.0000229552.82081.de

8. Ulma RM, Sacks G, Rodoni BM, Duncan A, Buchman AT, Buchman BC, et al. Management of calcified cephalohematoma of infancy: The University of Michigan 25-year experience. *Plast Reconstr Surg*. 2021; 148(2): 409-417. doi: 10.1097/prs.0000000000008199

9. Мирсадыков Д.А., Миножов М.М., Абдумажитова А.М., Махмаев Т.Й. Вариант эволюции кальцифицированной кефалогематомы. *Нейрохирургия и неврология детского возраста*. 2010; 2(24): 50-57. [Mirsadykov DA, Minozhov MM, Abdumazhitova AM, Makhmaev TI. Variants of evolution calcificated cephalohematoma. *Pediatric Neurosurgery and Neurology*. 2010; 2(24): 50-57. (In Russ.)].

10. Васильева Е.А., Строкова Т.В., Сурков А.Г. Ремоделирование костной ткани у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. *Русский медицинский журнал*. 2019; 27(7): 34-38. [Vasilyeva EA, Strokova TV, Surkov AG. Bone remodeling in children

with hepatic forms of glycogen storage disease. *Russian Medical Journal*. 2019; 27(7): 34-38. (In Russ.)].

11. Халяпина А.Б., Паршиков М.В., Ярыгин Н.В. Ранняя диагностика костно-хрящевых изменений при остеоартрите. *Кафедра травматологии и ортопедии.* 2022; 3(49): 90-98. [Khalyapina AB, Parshikov MV, Yarygin NV. Early diagnosis of osteocartilaginous changes in osteoarthritis. *Department of Traumatology & Orthopedics*. 2022; 3(49): 90-98. (In Russ.)]. doi: 10.17238/2226-2016-2022-3-90-98

12. Зейналов Ю.Л., Дьячкова Г.В., Сутягин И.В., Ларионова Т.А., Дьячков К.А. Показатели кальциевого обмена и маркеры костеобразования у больных идиопатическим сколиозом в зависимости от возраста. *Забайкальский медицинский вестник*. 2021; 2: 47-55. [Zejnalov JL, Diachkova GV, Sutyagin IV, Larionova TA, Diachkov KA. Indicators of calcium metabolism and markers of bone formation in patients with idiopathic scoliosis depending on age. *Transbaikalian Medical Bulletin*. 2021; 2: 47-55. (In Russ.)]. doi: 10.52485/19986173_2021_2_47

13. Рудько А.С., Эфендиева М.Х., Будзинская М.В., Карпилова М.А. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на ангиогенез и нейрогенез. *Вестник офтальмологии.* 2017; 133(3): 75-81. [Rud'ko AS, Efendieva MKh, Budzinskaia MV, Karpilova MA. Influence of vascular endothelial growth factor on angiogenesis and neurogenesis. *Russian Annals of Ophthalmology*. 2017; 133(3): 75-81. (In Russ.)]. doi: 10.17116/oftalma2017133375-80

14. Бозо И.Я., Рожков С.И., Комлев В.С., Воложин Г.А., Еремин И.И., Смирнов И.В., и др. Сравнительная оценка биологической активности ген-активированных остеопластических материалов из октакальциевого фосфата и плазмидных ДНК, несущих гены *VEGF* и *SDF*: часть 2 – *in vivo*. *Гены и клетки*. 2017; 12(4): 39-46. [Bozo IY, Rozhkov SI, Komlev VS, Volozhin GA, Eremin II, Smirnov IV, et al. Biological activity comparative evaluation of the gene-activated bone substitutes made of octacalcium phosphate and plasmid DNA carrying *VEGF* and *SDF* genes: Part 2 – *in vivo*. *Genes & Cells*. 2017; 12(4): 39-46. (In Russ.)]. doi: 10.23868/201707028

15. Мудров В.А. *Алгоритмы статистического анализа данных биомедицинских исследований с помощью пакета программ SPSS (доступным языком): учебное пособие*. М.: Логосфера; 2022. [Mudrov VA. *Algorithms for statistical analysis of biomedical research data using the SPSS software package (in accessible language): Textbook*. Moscow: Logosfera; 2022. (In Russ.)].

16. Carvalho F, Medeiros I, Correa F, Pontes FS, Amado M. Hard cranial mass: Cephalohematoma? *J Pediatr Neonat Individual Med*. 2019; 8(1): 080107. doi: 10.7363/080107

17. Idrissi KJ, Mimi AL, Hassani YE, Haloua M, Alami B, Lamrani AY, et al. Calcified cephalohematoma 02 cases report. *IOSR J Dent Med Sci*. 2019; 18(1): 61-65. doi: 10.9790/0853-1801036165

18. Vigo V, Battaglia DI, Frassanito P, Tamburrini G, Caldarelli M, Massimi L. Calcified cephalohematoma as an unusual cause of EEG anomalies: Case report. *J Neurosurg Pediatr*. 2017; 19(1): 46-50. doi: 10.3171/2016.6.peds16120

19. Komori T. Functions of osteocalcin in bone, pancreas, testis, and muscle. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(20): 7513. doi: 10.3390/ijms21207513

20. Wang JS, Mazur CM, Wein MN. Sclerostin and osteocalcin: Candidate bone-produced hormones. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12: 584147. doi: 10.3389/fendo.2021.584147

21. Stock M, Schett G. Vitamin K-dependent proteins in skeletal development and disease. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(17): 9328. doi: 10.3390/ijms22179328

22. Lombardi G, Perego S, Luzi L, Banfi G. A four-season molecule: Osteocalcin. Updates in its physiological roles. *Endocrine*. 2015; 48(2): 394-404. doi: 10.1007/s12020-014-0401-0

23. Rashdan NA, Sim AM, Cui L, Phadwal K, Roberts FL, Carter R, et al. Osteocalcin regulates arterial calcification via altered Wnt signaling and glucose metabolism. *J Bone Miner Res*. 2020; 35(2): 357-367. doi: 10.1002/jbmr.3888

24. Shibuya M. VEGF-VEGFR system as a target for suppressing inflammation and other diseases. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2015; 15(2): 135-144. doi: 10.2174/1871530315666150316121956

25. Uemura A, Fruttiger M, D'Amore PA, De Falco S, Joussen AM, Sennlaub F, et al. VEGFR1 signaling in retinal angiogenesis and microinflammation. *Prog Retin Eye Res*. 2021; 84: 100954. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.100954

Сведения об авторах

Сущенко Руслан Алексеевич – ассистент кафедры госпитальной хирургии с курсом детской хирургии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: ruslansushko@bk.ru, https://orcid.org/0009-0004-8050-0159

Панченко Александра Сергеевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры неонатологии с курсами неврологии и акушерства-гинекологии факультета послевузовского и дополнительного профессионального образования, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, e-mail: sashawomen18@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2313-3941

Information about the authors

Ruslan A. Sushchenko – Teaching Assistant at the Department of Advanced Level Surgery with a Course of Pediatric Surgery, Chita State Medical Academy, e-mail: ruslansushko@bk.ru, https://orcid.org/0009-0004-8050-0159

Aleksandra S. Panchenko – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Neonatology with Courses of Neurology and Obstetrics and Gynecology of the Faculty of Postgraduate and Additional Professional Education, St. Petersburg State Pediatric Medical University, e-mail: sashawomen18@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2313-3941

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ
NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ СОПРЯЖЁННОСТИ ПРОИЗВОЛЬНОЙ ЭМГ-АКТИВНОСТИ МЫШЦ И ПОРОГОВ ВОСПРИЯТИЯ ТЕПЛА У БОЛЬНЫХ С ДЕФОРМАЦИЕЙ ПОЗВОНОЧНИКА

Богатырев М.А., Сайфутдинов М.С., Щурова Е.Н.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России (640014, г. Курган, ул. Марии Ульяновой, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку: **Богатырев Максим Андреевич,** e-mail: 270419920000dok@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Возникновение комбинированных сенсомоторных нарушений функции спинного мозга в сочетании с нарушениями функции вегетативной нервной системы после хирургической коррекции деформации позвоночника требует изучения механизмов взаимоотношения сенсомоторной и вегетативной нервной системы в условиях ятрогенных нарушений.

Цель работы. *Изучение характера взаимодействия вегетативной и сенсомоторной систем на основе оценки взаимовлияния тепловых порогов и интенсивности произвольной электромиографической (ЭМГ) активности.*

Материалы и методы. *Методом ЭМГ и эстезиометрии обследовано 87 больных в возрасте 6–43 лет с деформациями позвоночника разной этиологии до и после её хирургической коррекции.*

Результаты. *На основании сопоставления амплитуды электромиограммы при максимальном произвольном напряжении передней большеберцовой мышцы и порогов восприятия тепла выявлено существование интернейронного аппарата сопряжения чувствительности к теплу кожного рецептивного поля и произвольной активации мышцы при локализации её мотонейронного пула в том же сегменте спинного мозга. Данный рефлекторный механизм может быть использован в качестве базовой физиологической модели для изучения характера взаимодействия спинальных моторных и вегетативных центров в условиях ишемического повреждения спинного мозга при хирургической коррекции деформации позвоночника. На её основе возможно создание диагностических тестов для оценки степени нарушений взаимодействия сенсомоторной и вегетативной систем в условиях ятрогенных повреждений спинного мозга.*

Ключевые слова: *электромиография, эстезиометрия, спинной мозг, сколиоз*

Для цитирования: Богатырев М.А., Сайфутдинов М.С., Щурова Е.Н. Оценка степени сопряжённости произвольной ЭМГ-активности мышц и порогов восприятия тепла у больных с деформацией позвоночника. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 151-160. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.16

Статья поступила: 14.08.2023
Статья принята: 24.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

ASSESSMENT OF THE DEGREE OF CONJUGACY OF VOLUNTARY EMG ACTIVITY OF MUSCLES AND THRESHOLDS OF HEAT PERCEPTION IN PATIENTS WITH SPINAL DEFORMITY

Bogatyrev M.A.,
Saifutdinov M.S.,
Shchurova E.N.

National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics (Marii Ulyanovoy str. 6, Kurgan 640014, Russian Federation)

Corresponding author:
Maksim A. Bogatyrev,
e-mail: 270419920000dok@gmail.com

ABSTRACT

The occurrence of combined sensorimotor disorders of spinal cord function in combination with disorders of the autonomic nervous system after surgical correction of spinal deformity requires studying the mechanisms of the relationship between the sensorimotor and autonomic nervous systems in conditions of iatrogenic disorders.

The aim. *To identify possible connections and their nature between the thresholds of heat perception and the amplitude of electrical activity of muscles at their maximal voluntary tension in patients with scoliosis for further use as a clinical model for studying the relationship between sensorimotor and autonomic nervous systems.*

Materials and methods. *Eighty-seven patients aged 6–43 years with spinal deformities of various etiologies were examined by electromyography and esthesiometry before and after its surgical correction.*

Results. *Based on the comparison of the electromyogram amplitude at the maximal voluntary tension of the anterior tibial muscle and the thresholds of heat perception, the presence of a reflex apparatus of conjugating the sensitivity to heat of the skin receptive field and voluntary activation of the muscle during localization of its motor neuron pool in the same segment of the spinal cord was established. This reflex mechanism can be used as a basic physiological model to study the nature of the interaction of spinal motor and autonomic centers in conditions of ischemic spinal cord injury during surgical correction of spinal deformity. It is possible to create diagnostic tests on its basis to assess the degree of violations of the interaction of the sensorimotor and autonomic systems in conditions of iatrogenic spinal cord injuries.*

Key words: *electromyography, esthesiometry, spinal cord, scoliosis*

For citation: Bogatyrev M.A., Saifutdinov M.S., Shchurova E.N. Assessment of the degree of conjugacy of voluntary EMG activity of muscles and thresholds of heat perception in patients with spinal deformity. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 151-160. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.16

Received: 14.08.2023
Accepted: 24.01.2025
Published: 13.03.2025

Возникновение деформации позвоночника у детей и её развитие в процессе их роста представляет собой сложную ортопедическую проблему [1–4]. Хирургическая коррекция деформации позвоночника сопряжена с риском возникновения сенсорных и моторных осложнений вкупе с нарушениями работы вегетативной нервной системы [5–7]. Вышеперечисленные негативные последствия оперативного вмешательства могут возникать независимо друг от друга либо в различных комбинациях в соответствии с масштабами нарушения в системе кровоснабжения спинного мозга. В случае возникновения сложных сенсомоторных нарушений формируются патофизиологические механизмы взаимной стабилизации сенсорного и моторного компонентов неврологического нарушения, которые достаточно хорошо изучены [8], что способствует созданию эффективных высокотехнологичных способов реабилитации [9] с использованием электрической [10, 11] и магнитной [12] стимуляции, а также биологической обратной связи [13].

При комплексном возникновении нарушения сенсомоторных и вегетативных функций, например органов малого таза, ситуация не столь очевидна. Висцеральные механизмы регуляции автономны относительно сенсомоторных центров управления, и механизмы соматовегетативного барьера во многом остаются неизученными. Это затрудняет понимание наличия и степени взаимного влияния соответствующих послеоперационных нарушений, а значит и их комплексную эффективную реабилитацию. Однако данная проблема значительно шире, чем необходимость восстановления нарушенных функций, поскольку скрытое в норме фоновое взаимодействие моторных и вегетативных центров затрагивает практически все аспекты функционирования организма в норме и в патологии.

Для изучения этой проблемы целесообразно использовать клиническую модель сопряжённого функционирования сенсомоторных и вегетативных центров регуляции. Подобная модель была разработана на основе тонического защитного рефлекса [14], регулирующего состояние мотонейронных пулов на фоне хронического ирритирующего воздействия со стороны тканевых и болевых рецепторов в условиях травмы или хронического воспаления. Данная модель имеет существенные для нас ограничения, ввиду того что ноцицептивная активность проявляется на фоне полимодальной анестезии, коренным образом изменяющей межнейронные отношения в центральной нервной системе (ЦНС). Кроме того, сенсомоторные и вегетативные расстройства становятся заметны в послеоперационном периоде, т. е. на фоне угасания сенсорного потока из зоны хирургической агрессии.

Мы предлагаем в качестве клинической модели использовать физиологический механизм взаимодействия системы терморегуляции организма с центрами управления тонической активностью скелетной мускулатуры. Этот механизм согласовывает уровни восприятия температуры (в виде порогов тепла/холода, диапазона комфорта, чрезмерной жары/холода, создающих ситуацию стресса и т. п.) с состоянием тонической активности мышц от их расслабления при повышенной температуре к повышенному тонусу вплоть до появления ритмических разрядов двигательных единиц [15–18].

После хирургического вмешательства меняется восприятие тепла в сторону повышения (гипестезия) или понижения (гиперестезия) соответствующих порогов возникновения ощущения, регистрируемых методом эстезиометрии.

В послеоперационном периоде динамика рефлекторных изменений тонуса мышц будет накладываться на эффекты остаточного влияния компонентов анестезии, поэтому мы заменили регистрацию уровня тонической активности на измерение амплитуды произвольной ЭМГ при максимальном усилии, поскольку она так же подвержена охранительному торможению, но в меньшей степени зависит от последействия анестезии.

В связи с вышесказанным мы склонны высказать предположение о том, что пороги восприятия тепла как физиологический маркер зоны теплового комфорта организма должны быть сопряжены со значениями амплитуды ЭМГ при максимальном произвольном напряжении мышц, анатомически связанных с соответствующими кожными рецептивными полями. Однако данное предположение в настоящее время не может рассматриваться как полноценная научная гипотеза, поскольку не имеет под собой достаточных оснований.

Исходя из этого **целью работы** была оценка степени сопряжённости значений порогов восприятия тепла и амплитуды электрической активности мышц при их максимальном произвольном напряжении у пациентов с деформацией позвоночника как объективной основы данной гипотезы, которая позволит разработать клиническую модель взаимодействия сенсомоторной и вегетативной нервной систем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выборка пациентов включала 87 больных (30 мужчин, 57 женщин) в возрасте 6–43 лет (15,6 ± 0,6 года) с деформациями позвоночника (20–105° по сколиотическому и 15–134° по кифотическому компоненту) различной этиологии. В качестве критерия включения рассматривались наличие деформации позвоночника не менее 15° и возраст пациентов от 6 до 45 лет. Нижняя граница возраста обусловлена необходимостью осознанного отношения пациента к выполнению эстезиометрического и электромиографического тестов. Верхняя граница связана с развитием дегенеративных изменений в осевом скелете и возрастных изменений в вегетативной нервной системе. В качестве критериев исключения рассматривалось наличие нейромышечной патологии и наличие нижней вялой параплегии.

Методом эстезиометрии с помощью электрического эстезиометра (EPCOS Inc., Германия) с учётом температуры кожи (Termostar; Nihon Kohden, Япония) при локальном нагревании её участка в симметричных точках

регистрировали пороги ощущения тепла кожных дерматомов, иннервируемых спинальными корешками Th_1 и L_5 (в соответствии с общепринятой схемой [19]). При отсутствии ощущения тепла констатировали термоанестезию. Площадь термоэлемента составляла 1 см^2, диапазон изменения температуры – 10–50°, скорость прироста температуры – 2 °С/с. Случаи термоанестезии исключались из анализа.

Методом ЭМГ с использованием цифровой системы Viking EDX (Natus Medical Incorporated, США) регистрировали электрическую активность *m. tibialis anterior* справа и слева при её максимальном произвольном напряжении (биполярное отведение накожными электродами диаметром 8 мм и межэлектродным расстоянием в 10 мм). Тест на максимальное напряжение выполнялся в течение 2–3 с, но не более, чтобы исключить влияние синхронизации активности двигательных единиц. Попытки повторялись 2–3 раза. Среди сделанных записей врач выбирал участок с максимальной активностью длительностью 1 с. В этом интервале автоматически рассчитывалась средняя амплитуда ЭМГ. Среди записей ЭМГ для дальнейшего анализа выбирались только электромиограммы с паттернами ненасыщенной активности, в которых колебания ЭМГ чередовались с периодами молчания разной длительности. Такие паттерны ЭМГ при накожном отведении называют залпообразными, а при игольчатом — редуцированными [20].

Контрольное тестирование ЭМГ и тепловых порогов в зависимости от состояния пациента проводилось в течение двух недель после операции.

Математическая обработка результатов осуществлялась при использовании программного комплекса Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., США) с пакетом анализа данных Attestat (v. 13.2, 16.02.2015) [21], а также SPSS Statistics (v. 21.0.0.0; IBM Corp., США). Для оценки характера статистического распределения количественных признаков использовались критерии Колмогорова – Смирнова, критерий асимметрии и критерий эксцесса. Поскольку для части групп сравнения статистическое распределение не удовлетворяло критериям нормальности, для их характеристики использовали значения медианы, первого и третьего квартилей в формате Me [Q_1; Q_3]. Статистическую значимость изменений медианы (при $p < 0,05$) в группах сравнения оценивали с помощью непарного критерия Вилкоксона.

Частоту встречаемости (ν) качественных признаков (случаев наблюдения термоанестезии и ненасыщенных ЭМГ-паттернов), а также ошибку долей ($s_ν$) рассчитывали в % по формулам:

$$\nu_i = \frac{n_i}{N} \times 100\% \quad (1);$$

$$s_\nu = \sqrt{\frac{\nu(1-\nu)}{N}} \quad (2),$$

где n_i – число наблюдений *i*-ого качественного признака; *N* – общее количество наблюдений в анализируемой выборке.

Статистическую значимость различий данной характеристики ($p < 0,05$) до и после операции оценивали с помощью непараметрических критериев χ^2 и *z*-критерия разности долей.

На основании полученных данных строились скатерограммы, характеризующие взаимоотношение амплитуды ЭМГ и порогов тепла. На оси абсцисс отображалась температура, соответствующая тепловым порогам. Ось ординат отображала значения амплитуды электрической активности мышц. Для аппроксимации полученных данных подбиралось уравнение из набора, представленного в Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., США), на основании максимизации значения коэффициента детерминации (R^2).

Всем пациентам выполнена коррекция деформации позвоночника с фиксацией сегментов грудного/грудопоясничного отдела при помощи погружных транспедикулярных систем [22–24]. Анестезиологическое пособие было представлено тотальной внутривенной анестезией и включало сочетание гипнотика пропофола (10^{-2} мг/кг/ч) с наркотическим анальгетиком фентанилом (10^{-1} мкг/кг/ч), а также искусственную вентиляцию лёгких. На стадии интубации в качестве миорелаксанта использовался Эсмерон®.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России (протокол № 2(70) от 21.10.2021). Оно выполнялось в соответствии с этическими стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации с последующими изменениями. Пациенты, достигшие 18 лет, а также родители детей или их законные представители подписали информированное добровольное согласие на проведение диагностических исследований и публикацию данных без идентификации личности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В анализируемой выборке в предоперационном периоде случаи термоанестезии для рецептивного поля, связанного с сегментом L_5, составили 55,0 ± 5,56 %, а для контрольного рецептивного поля Th_1 – 28,0 ± 4,96 % ($p < 0,05$) (рис. 1). После исключения случаев термоанестезии медианные значения порогов восприятия тепла для рецептивных полей L_5 и Th_1 составили 40 [39,5; 43] и 35 [33,0; 36,0] °С соответственно. Для поясничного сегмента спинного мозга общевыборочный порог восприятия тепла был статистически значимо выше на 5° ($p < 0,05$), чем для верхнегрудного.

Медианное значение амплитуды ЭМГ в анализируемой выборке составило 0,47 [0,33; 0,62] мВ. При исключении случаев термоанестезии рецептивного поля L_5 среди оставшихся паттернов ЭМГ ненасыщенные составляют 47,2 ± 8,32 % (рис. 2), а в контрольной выборке (для рецептивного поля Th_1) – 42,4 ± 6,43 % ($p > 0,05$) (рис. 3).

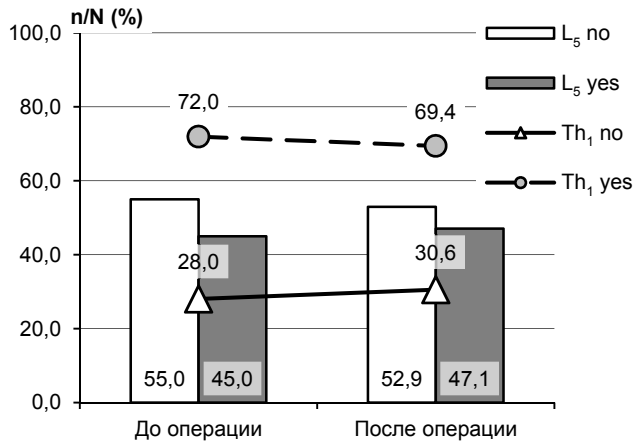


РИС. 1.

Доля случаев термоанестезии (no) и зафиксированных порогов ощущения тепла (yes) при тестировании рецептивных полей дерматомов Th_1 и L_5

FIG. 1.

The proportion of cases of thermoanesthesia (no) and fixed thresholds of heat sensation (yes) when testing the receptive fields of Th_1 and L_5 dermatomes

При сопоставлении в предоперационном периоде множества пар значений найдено, что амплитуда ЭМГ связана с порогом ощущения тепла (рецептивное поле L_5; рис. 4) с максимальным коэффициентом детерминации $R^2 = 0{,}491$ уравнением $A_{EMG} = aT^2 + bT + c$, где A_{EMG} – амплитуда ЭМГ при максимальном произвольном напряжении; T – порог ощущения тепла; a, b и c – коэффициенты связи. Вид аппроксимационного уравнения сохраняется для скатерограммы контрольного рецептивного поля Th_1 (рис. 5), однако при этом R^2 был существенно ниже и составлял 0,193.

В послеоперационном периоде медианное значение общевыборочной амплитуды ЭМГ снизилось по сравнению с исходным уровнем на 10,6 % ($p > 0{,}05$) и составило 0,42 [0,28; 0,60] мВ. При этом количество наблюдений термоанестезии для рецептивного поля L_5 несущественно ($p > 0{,}05$) снизилось (рис. 1) – с 55,0 ± 5,56 до 52,9 ± 6,05 %, а для рецептивного поля Th_1 – незначительно ($p > 0{,}05$) возросла, с 28,0 ± 4,96 до 30,6 ± 5,42 %. Изменения носят случайный характер. Термоанальгезия в послеоперационном периоде не выявлена.

После хирургической коррекции деформации позвоночника доля ненасыщенных ЭМГ-паттернов несущественно ($p > 0{,}05$) снизилась – с 47,7 ± 5,32 до 40,2 ± 5,78 %. Это не могло не отразиться на частоте встречаемости данных паттернов после исключения случаев термоанестезии для обеих групп рецептивных полей (рис. 3), однако для L_5 данное снижение было более выраженным – до 28,1 ± 7,95 % (на 19,1 %; $p > 0{,}05$) – в сравнении с контрольным рецептивным полем (на 6,4 %; $p > 0{,}05$).

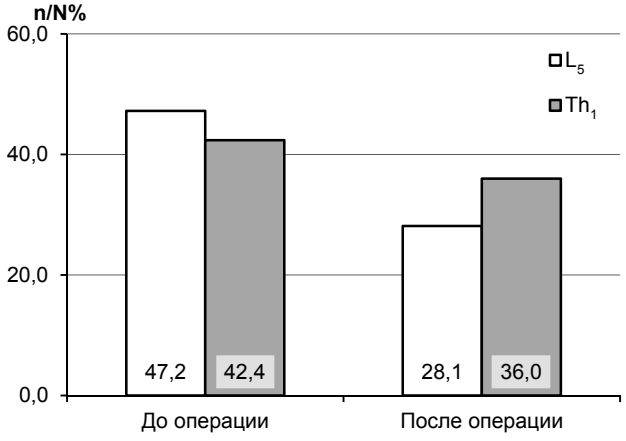
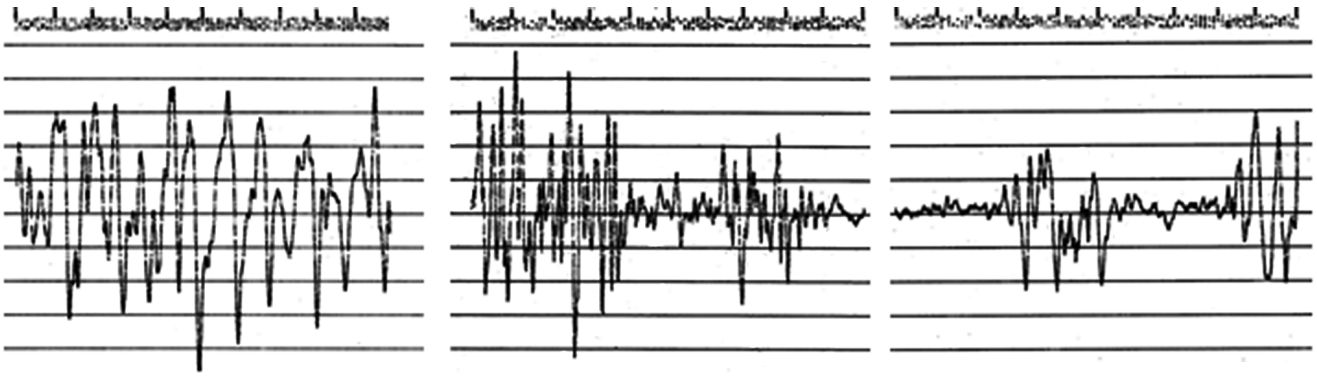


РИС. 3.

Процентное соотношение ненасыщенных паттернов ЭМГ-активности m. tibialis anterior для рецептивных полей L_5 и Th_1 до и после оперативного вмешательства (с учётом исключённых случаев термоанестезии)

FIG. 3.

Percentage ratio of unsaturated patterns of m. tibialis anterior EMG activity for L_5 and Th_1 receptive fields before and after surgery (taking into account excluded cases of thermoanesthesia)



а ***б*** ***в***

РИС. 2.

*Примеры насыщенных (**а**) и ненасыщенных (**б**, **в**) паттернов ЭМГ-активности при выполнении теста на максимальное произвольное напряжение: вверху – шкала времени с интервалом 1 с (10 больших делений)*

FIG. 2.

*Examples of saturated (**а**) and unsaturated (**б**, **в**) patterns of EMG activity when performing a test for maximum arbitrary voltage: at the top – a time scale with an interval of 1 second (10 large divisions)*

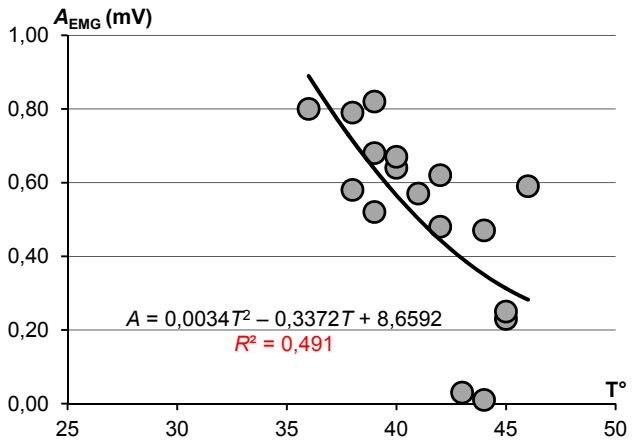


РИС. 4.
Сопоставление амплитуды ЭМГ m. tibialis anterior со значениями порогов тепловой чувствительности дерматома L_5 в предоперационном периоде
FIG. 4.
Comparison of the m. tibialis anterior EMG amplitude with the values of the thresholds of L_5 dermatome thermal sensitivity in the preoperative period

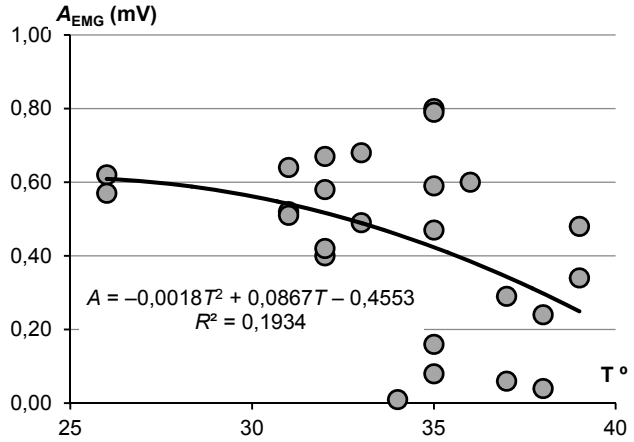


РИС. 5.
Сопоставление амплитуды ЭМГ m. tibialis anterior со значениями порогов тепловой чувствительности дерматома Th_1 в предоперационном периоде
FIG. 5.
Comparison of the m. tibialis anterior EMG amplitude with the values of the thresholds of Th_1 dermatome thermal sensitivity in the preoperative period

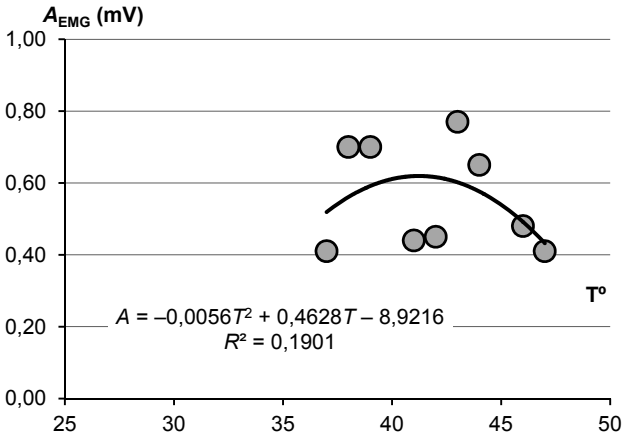


РИС. 6.
Сопоставление амплитуды ЭМГ m. tibialis anterior со значениями порогов тепловой чувствительности дерматома L_5 в послеоперационном периоде
FIG. 6.
Comparison of the m. tibialis anterior EMG amplitude with the values of the thresholds of L_5 dermatome thermal sensitivity in the postoperative period

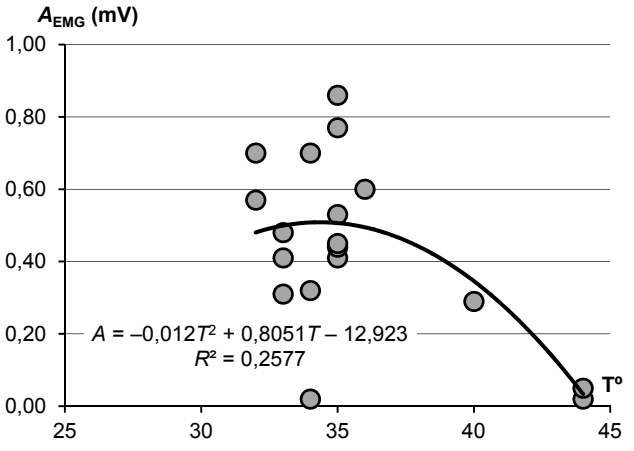


РИС. 7.
Сопоставление амплитуды ЭМГ m. tibialis anterior со значениями порогов тепловой чувствительности дерматома Th_1 в послеоперационном периоде
FIG. 7.
Comparison of the m. tibialis anterior EMG amplitude with the values of the thresholds of Th_1 dermatome thermal sensitivity in the postoperative period

При этом для скатерограмм рецептивного поля L_5 существенно упало качество аппроксимации данных (коэффициент детерминации снизился до 0,190) при сохранении того же вида уравнения (рис. 6). Для рецептивного поля Th_1 значения коэффициента детерминации также оставались низкими (рис. 7) на уровне случайного совпадения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Приведённые данные показывают, что в предоперационном периоде изменения анализируемых параметров для контрольного сегмента спинного мозга Th_1 менее выражены, чем для интересующего нас сегмента L_5. Это объясняется тем, что контрольный сегмент лежит выше области деформации позвоночника.

Во всех случаях значения коэффициентов детерминации указывают на низкое качество аппроксимации взаимной сопряжённости тепловых порогов и амплитудой произвольной ЭМГ. Естественно, вряд ли можно ожидать прямой функциональной связи между данными характеристиками разных и в высокой степени автономных относительно друг друга физиологических систем. На них разнонаправленно влияет множество разнородных факторов. Однако при сопоставлении тепловых порогов с амплитудой ненасыщенных паттернов ЭМГ значения R^2 для рецептивного поля L_5 в предоперационном периоде существенно отличаются от соответствующих значений контрольного рецептивного поля всех групп с насыщенной ЭМГ и всех скатерограмм после операции. То есть для контрольного рецептивного поля Th_1 можно считать, что вся совокупность индивидуальных наблюдений (точек на скатерограммах) до операции и после неё распределена случайным образом. Это не удивительно, поскольку кожные рецептивные поля, соответствующие сегменту Th_1, вряд ли имеют прямые рефлекторные связи с мотонейронами двигательного ядра передней большеберцовой мышцы, которые локализованы преимущественно в сегменте L_5 спинного мозга. Поэтому существенно превосходящая величина коэффициента детерминации для аппроксимации распределения множества пар значений амплитуд ЭМГ и тепловых порогов рецептивного поля L_5 по сравнению с рецептивным полем Th_1 позволяет предположить существование некоторого интернейронного механизма сопряжения системы баланса чувствительности кожи к температуре с активностью спинального моторного ядра *m. tibialis anterior* как более близкого к дерматому L_5 относительно контрольного дерматома Th_1 (рис. 8). Этот механизм, очевидно, является фрагментом общего терморегуляторного комплекса, ответственного за участие мышц в поддержании теплового баланса тела. Действие его зависит от ряда условий, в частности от физиологической роли конкретной мышцы и от степени отклонения температуры среды от зоны температурного комфорта [15–18]. Но, тем не менее, на всех скатерограммах независимо от качества аппроксимации мы видим тенденцию к уменьшению амплитуды произвольной ЭМГ при увеличении порогов восприятия тепла. Это соответствует современным представлениям о работе тер-

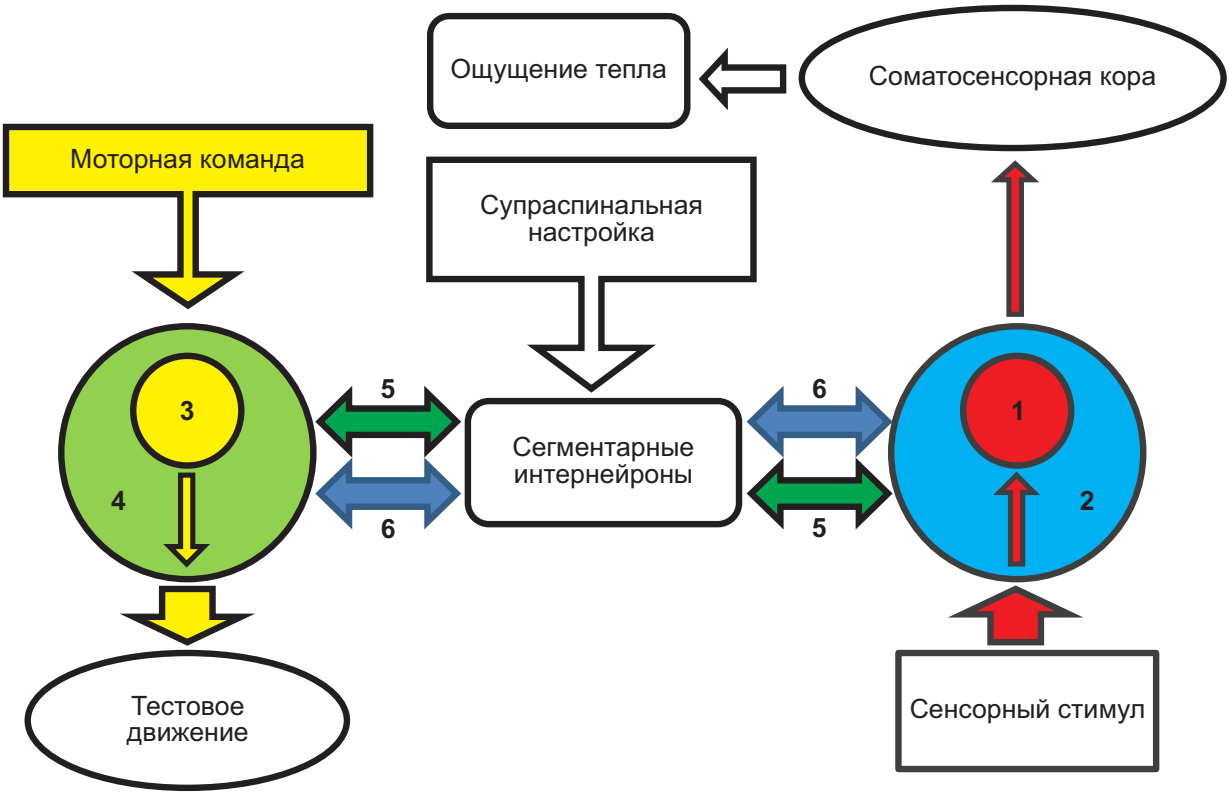


РИС. 8.
Рефлекторный механизм сопряжения уровня восприятия тепла (значения тепловых порогов) и интенсивности максимального произвольного напряжения (амплитуды ЭМГ) m. tibialis anterior: **1** *– активный ансамбль сенсорных нейронов, ответственных за восприятие тепла;* **2** *– весь пул сенсорных нейронов;* **3** *– активный пул альфа-мотонейронов, активированный центральной моторной командой;* **4** *– двигательное ядро m. tibialis anterior;* **5** *– активирующие интрасегментарные связи;* **6** *– тормозные интрасегментарные связи*

FIG. 8.
Reflex mechanism of coupling the level of heat sensation (thermal threshold values) and the intensity of maximum arbitrary voltage (EMG amplitude) of m. tibialis anterior: **1** *– an active ensemble of sensory neurons responsible for heat sensation;* **2** *– the entire pool of sensory neurons;* **3** *– an active pool of alpha motor neurons activated by the central motor command;* **4** *– m. tibialis anterior motor nucleus;* **5** *– activating intrasegmental connections;* **6** *– inhibitory intrasegmental connections*

морегуляторной системы. Чем выше температура среды, тем выше порог восприятия тепла, при этом в большей степени тормозится активность моторной системы.

Сопоставление качества аппроксимации температурно-моторного сопряжения (рис. 4, 5) позволяет предположить, что рассматриваемый механизм преимущественно интрасегментарный, поскольку коэффициент детерминации для рецептивного поля Th_1 существенно ниже, чем для L_5, т. е. фактически на уровне случайных событий. Однако предлагаемая модель должна учитывать наличие модулирующих супраспинальных влияний. Их характер требует уточнения, однако, поскольку наблюдаемая температурно-моторная сопряжённость проявляется при ненасыщенной ЭМГ, можно предположить, что существенную часть супраспинальных модулирующих влияний составляют нисходящие воздействия со стороны тонических центров ствола мозга [20].

Сразу после операции функция интернейронных механизмов сопряжения восприятия тепла и уровня активации *m. tibialis anterior* существенно дезинтегрированы, что проявляется в существенном снижении коэффициента детерминации (рис. 5). Важный вклад в этот феномен вносит эффект последействия анестезии, для которого характерно неспецифическое дезинтегрирующее воздействие на все связи в ЦНС [25, 26]. На это косвенно указывает снижение доли ненасыщенных ЭМГ-паттернов в послеоперационном периоде. Поскольку анестетики подавляют активность центров ствола мозга, регулирующих тоническую активность мышц, тот факт, что это понижение более выражено для рецептивного поля L_5, подтверждает рефлекторную природу данного механизма. Существенную роль должно играть также и усиление интероцептивной импульсации (в том числе и ноцицептивной) из зоны хирургического интереса, оказывающее тормозное действие на альфа-мотонейроны через механизм защитного тонического рефлекса [14] с участием системы воротного контроля [27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты позволяют сформулировать гипотезу относительно функционирования интернейронного аппарата сопряжения сенсорных механизмов восприятия тепла и уровня произвольной активации мышцы, мотонейронный пул которой локализован в сегменте спинного мозга, иннервирующем соответствующее кожное рецептивное поле. После соответствующей проверки этой гипотезы данный рефлекторный механизм может быть использован в качестве базовой физиологической модели для изучения характера взаимодействия спинальных моторных и вегетативных центров в условиях ишемического повреждения спинного мозга в результате спинальной травмы и при хирургической коррекции деформации позвоночника.

Как было показано выше, хирургическая агрессия в сочетании с анестезией значительно модифицирует функционирование данного механизма сопряжения даже при отсутствии ятрогенного повреждения. При наличии последнего потребуется разработка факторов кондиционирования механизмов моторно-вегетативного сопряжения (например, усиления/ослабления симпатического или парасимпатического влияния) для повышения эффективности срочных восстановительных мероприятий в раннем послеоперационном периоде даже при отсутствии клинически неблагоприятных признаков и последующей реабилитации у пациентов с клинически выраженными нарушениями моторной и висцеральной функций. Учитывая простоту проведения ЭМГ-теста на максимальное произвольное напряжение в сочетании с эстезиометрией, в дальнейшем возможно создание диагностических тестов на основе данной клинической модели в изучении взаимоотношений сенсомоторной и вегетативной систем в условиях ятрогенных повреждений спинного мозга.

Ограничения

Исследование физиологических функций пациентов с деформацией позвоночника сталкивается с проблемой большой вариативности исходных клинических показателей. Это затрудняет получение большого объёма статистически однородных выборок. Поэтому высокая разнородность возраста и выраженности ортопедической патологии у субъектов усиливает вариативность анализируемых признаков и затрудняет их статистическую оценку и интерпретацию.

Финансирование

Исследование выполнено без использования спонсорских средств.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Зейналов Ю.Л., Бурцев А.В., Дьячкова Г.В., Дьячков К.А. «Синдромокомплекс» идиопатического сколиоза. *Гений ортопедии*. 2023; 29(1): 49-56. [Zeynalov YuL, Burtsev AV, Diachkova GV, Diachkov KA. Idiopathic scoliosis "syndromocomplex". *Genij Ortopedii*. 2023; 29(1): 49-56. (In Russ.)]. doi: 10.18019/1028-4427-2023-29-1-49-56

2. Михайловский М.В., Суздалов В.А. Возможности хирургической коррекции деформаций позвоночника у пациентов с синдромом Ehlers – Danlos. Несистематический обзор. *Гений ортопедии*. 2023; 29(1): 99-103. [Mikhailovsky MV, Suzdalov VA. Surgical correction of spinal deformities in patients with Ehlers – Danlos syndrome. Non-systematic review. *Genij Ortopedii*. 2023; 29(1): 99-103. (In Russ.)]. doi: 10.18019/1028-4427-2023-29-199-103

3. Никитюк И.Е., Виссарионов С.В. Особенности опорной функции стоп у детей с тяжелыми формами идиопатического сколиоза до и после хирургического лечения. *Гений ортопедии*. 2021; 27(6): 758-766. [Nikityuk IE, Vissarionov SV. Supporting function of the feet in children with severe forms of idiopathic scoliosis

before and after surgical treatment. *Genij Ortopedii*. 2021; 27(6): 758-766. (In Russ.)]. doi: 10.18019/1028-4427-2021-27-6-758-766

4. Филатов Е.Ю., Рябых С.О., Савин Д.М. Алгоритм лечения врожденных аномалий позвоночника. *Гений ортопедии*. 2021; 27(6): 717-726. [Filatov EYu, Ryabykh SO, Savin DM. Algorithm for the treatment of congenital anomalies of the spine. *Genij Ortopedii*. 2021; 27(6): 717-726. (In Russ.)]. doi: 10.18019/1028-4427-2021-27-6-717-726

5. Ajiboye RM, Park HY, Cohen JR, Vellios EE, Lord EL, Ashana AO, et al. Demographic trends in the use of intraoperative neuromonitoring for scoliosis surgery in the United States. *Int J Spine Surg*. 2018; 12(3): 393-398. doi: 10.14444/5046

6. Holdefer RN, Skinner SA. Motor evoked potential recovery with surgeon interventions and neurologic outcomes: A meta-analysis and structural causal model for spine deformity surgeries. *Clin Neurophysiol*. 2020; 131(7): 1556-1566. doi: 10.1016/j.clinph.2020.03.024

7. Nagarajan L, Ghosh S, Dillon D, Palumbo L, Woodland P, Thalayasingam P, et al. Intraoperative neurophysiology monitoring in scoliosis surgery in children. *Clin Neurophysiol Pract*. 2019; 4: 11-17. doi: 10.1016/j.cnp.2018.12.002

8. Hubli M, Dietz V. The physiological basis of neurorehabilitation-locomotor training after spinal cord injury. *J Neuroeng Rehabil*. 2013; 10: 5. doi: 10.1186/1743-0003-10-5

9. Alemanno F, Houdayer E, Emedoli D, Locatelli M, Mortini P, Mandelli C, et al. Efficacy of virtual reality to reduce chronic low back pain: Proof-of-concept of a nonpharmacological approach on pain, quality of life, neuropsychological and functional outcome. *PLoS One*. 2019; 14(5): e0216858. doi: 10.1371/journal.pone.0216858

10. Мошонкина Т.Р., Макаровский А.Н., Богачева И.Н., Щербакова Н.А., Савохин А.А., Герасименко Ю.П. Эффекты электрической стимуляции спинного мозга у пациентов с вертебро-спинальной патологией. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012; 153(1): 21-26. [Moshonkina TR, Makarovskiy AN, Bogacheva IN, Scherbakova NA, Savokhin AA, Gerasimenko YuP. Effects of spinal cord electrical stimulation in patients with vertebrospinal pathology. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2012; 153(1): 16-20. (In Russ.)]. doi: 10.1007/s10517-012-1632-9

11. Bergmann M, Zahharova A, Reinvee M, Asser T, Gapeyeva H, Vahtrik D. The effect of functional electrical stimulation a therapeutic exercises on trunk muscle tone and dynamic sitting balance in persons with chronic spinal cord injury: A crossover trial. *Medicina*. 2019; 55: 619. doi: 10.3390/medicina55100619

12. Войтенков В.Б., Екушева Е.В. *Транскраниальная магнитная стимуляция в клинической практике*; 2-е изд., испр. и доп. СПб.; М.; 2022. [Voitenkov VB, Ekusheva EV. *Transcranial magnetic stimulation in clinical practice*; 2nd edition corrected and supplemented. Saint Petersburg; Moscow; 2022. (In Russ.)].

13. Бутуханов В.В., Сороковиков В.А., Арсентьева Н.И. Динамика параметров электромиограммы мышц спины при применении биорезонансной терапии и ЭМГ-обратной связи у пациентов в возрасте от 6 до 18 лет со сколиотической деформацией I–II степени. *Acta biomedica scientifica*. 2011; 4(80-1): 34-37. [Butukhanov VV, Sorokovikov VA, Arsentieva NI. Dynamics of bioelectrical brain activity at use of bioresonance therapy and electromyogram feedback in patients with scoliotic deformation of I–II degree in different periods of ontogenesis. *Acta biomedica scientifica*. 2011; 4(80-1): 34-37. (In Russ.)].

14. Алатырев В.И., Еремеев А.М., Плещинский И.Н. Влияние длительного ноцицептивного раздражения на двигательные функции человека. *Физиология человека*. 1990; 16(3): 77-83. [Alatyrev VI, Eremeev AM, Pleshchinskiĭ IN. The effect of long-term nociceptive stimulation on human motor functions. *Human Physiology*. 1990; 16(3): 77-83. (In Russ.)].

15. Лупандин Ю.В., Мейгал А.Ю., Антонен Е.Г. Влияние охлаждения и согревания на функцию двигательных единиц у больных разными клиническими формами паркинсонизма. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1996; 96(6): 86-87. [Lupandin YuV, Meigal AYu, Antonen EG. The effect of body cooling and warming on motor unit function in patients with different clinical forms of parkinsonism. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 1996; 96(6): 86-87. (In Russ.)].

16. Мейгал А.Ю., Герасимова Л.И., Золотова Е.В., Лупандин Ю.В. Произвольное рекрутирование двигательных единиц в условиях холодовой дрожи. *Физиология человека*. 1997; 23(5): 64-68. [Meigal AYu, Gerasimova LI, Zolotova EV, Lupandin IV. Voluntary recruiting of motor units under conditions of cold shivering. *Human Physiology*. 1997; 23(6): 64-68. (In Russ.)].

17. Мейгал А.Ю., Письменный К.Н. Влияние общего согревания и охлаждения организма на постактивационный эффект в мышцах верхних конечностей. *Физиология человека*. 2009; 35(1): 51-57. [Meigal AYu, Pismennyi KN. The influence of total body warming and cooling on aftercontraction effect in the upper limb muscles. *Human Physiology*. 2009; 35(1): 60-66. (In Russ.)].

18. Meigal AYu, Lupandin YuV, *Hänninen* O. Influence of cold and hot conditions on postactivation in human skeletal muscles. *Pflugers Archive Eur J Physiol*. 1996; 432(4): 121. doi: 10.1007/s004240050113

19. Hansen R, Schliack H. *Segmentale innervation*. Stuttgart: Thieme; 1962.

20. Команцев В.Н. *Методические основы клинической электронейромиографии: руководство для врачей*. СПб.; 2006. [Komantsev VN. *Methodological foundations of clinical electroneuromyography: Guide for physicians*. Saint Petersburg; 2006. (In Russ.)].

21. Гайдышев И.П. *Анализ и обработка данных: специальный справочник*. СПб.: Питер; 2001. [Gaidyshev IP. *Data analysis and processing: Special reference book*. Saint Petersburg: Piter; 2001. (In Russ.)].

22. Рябых С.О. Применение двойного деротационного маневра для коррекции сколиозов тяжелой степени. *Гений ортопедии*. 2013; (4): 71-75. [Ryabykh SO. The use of double derotation maneuver to correct severe scoliosis. *Genij Ortopedii*. 2013; (4): 71-75. (In Russ.)].

23. Рябых С.О., Савин Д.М. Возможности оперативного лечения кифоза III типа методом «Pedicle subtraction osteotomy». *Гений ортопедии*. 2013; (1): 120-123. [Ryabykh SO, Savin DM. Possibilities of type III kyphoses surgical treatment using «Pedicle subtraction osteotomy» technique. *Genij Ortopedii*. 2013; (1): 120-123. (In Russ.)].

24. Рябых С.О., Савин Д.М., Медведева С.Н., Губина Е.Б. Опыт лечения нейрогенных деформаций позвоночника. *Гений ортопедии*. 2013; (1): 87-92. [Riabykh SO, Savin DM, Medvedeva SN, Gubina EB. The experience in treatment of the spine neurogenic deformities. *Genij Ortopedii*. 2013; (1): 87-92. (In Russ.)].

25. Craig MM, Misic B, Pappas I, Adapa RM, Menon DK, Stamatakis EA. Propofol sedation-induced alterations in brain connectivity reflect parvalbumin interneurone distribution in human cerebral cortex. *Br J Anaesth*. 2021; 126(4): 835e844. doi: 10.1016/j.bja.2020.11.035

26. Heinkea W, Koelschb S. The effects of anesthetics on brain activity and cognitive function. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2005; 18(6): 625-631. doi: 10.1097/01.aco.0000189879.67092.12

27. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: A new theory. *Science.* 1965; 150(3699): 971-978. doi: 10.1126/science.150.3699.971

Сведения об авторах

Богатырев Максим Андреевич – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: 2704199200000dok@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-4637-2435

Сайфутдинов Марат Саматович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник научной лаборатории Клиники патологии позвоночника и редких заболеваний, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: maratsaif@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7477-5250

Щурова Елена Николаевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник научной лаборатории Клиники патологии позвоночника и редких заболеваний, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, https://orcid.org/0000-0003-0816-1004

Information about the authors

Maksim A. Bogatyrev – Postgraduate, National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics, e-mail: 2704199200000dok@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-4637-2435

Marat S. Saifutdinov – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Clinical Laboratory, Clinic of Spine Pathology and Rare Diseases, National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics, e-mail: maratsaif@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7477-5250

Elena N. Shchurova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Clinical Laboratory, Clinic of Spine Pathology and Rare Diseases, National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics, https://orcid.org/0000-0003-0816-1004

Вклад авторов

Богатырев М.А. – концепция и дизайн исследования; анализ архивного материала; обработка данных; написание текста статьи; редактирование текста статьи.

Сайфутдинов М.С. – концепция и дизайн исследования; статистическая обработка материала; написание текста статьи; редактирование текста статьи.

Щурова Е.Н. – концепция и дизайн исследования; написание текста статьи; редактирование текста статьи.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ПРИЧИНЫ ЧРЕЗМЕРНОГО НАКОПЛЕНИЯ ЖЕЛЕЗА В СТРУКТУРАХ ЧЁРНОГО ВЕЩЕСТВА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Сальков В.Н.

ФГБНУ «Научный центр неврологии»
(125367, г. Москва,
Волоколамское шоссе, 80, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сальков Владимир Николаевич,
e-mail: vla-salkov@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Представлен критический анализ литературы о факторах, способствующих чрезмерному накоплению железа в структурах чёрного вещества головного мозга при болезни Паркинсона. Этот морфологический признак наряду с такими признаками, как накопление в дофаминовых нейронах аномальной формы пресинаптического белка альфа-синуклеина, их быстрая гибель и глиоз в чёрном веществе головного мозга, является одним из важнейших в патоморфологической картине заболевания.

Показано, что избыток железа в чёрном веществе может быть обусловлен влиянием таких факторов, как воздействие токсичных металлов (алюминий, ртуть и свинец) на головной мозг, нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера, изменение экспрессии металлосодержащих белков и генетические мутации. Вместе с тем роль таких факторов, как употребление большого количества железа с пищевыми продуктами и биологическими добавками к пище и митохондриальная дисфункция, в формировании данного морфологического признака болезни Паркинсона остаётся до конца не изученной.

Продолжение изучения причин накопления избытка железа в структурах среднего мозга при болезни Паркинсона и тех последствий, которые могут быть обусловлены чрезмерным накоплением железа в этих структурах, остаётся актуальным для современной неврологии.

Поиск литературы проводился в базах данных PubMed и eLIBRARY.

Ключевые слова: *болезнь Паркинсона, чёрное вещество, накопление железа, тяжёлые металлы, гематоэнцефалический барьер, железосодержащие белки, генетические мутации*

Статья поступила: 26.02.2024
Статья принята: 20.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Сальков В.Н. Причины чрезмерного накопления железа в структурах чёрного вещества головного мозга при болезни Паркинсона. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 161-168. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.17

CAUSES OF ACCUMULATION OF EXCESS IRON IN THE STRUCTURES OF THE *SUBSTANTIA NIGRA* OF THE BRAIN IN PARKINSON'S DISEASE

Salkov V.N.

Research Center of Neurology
(Volokolamskoye Highway 80,
Moscow 125367, Russian Federation)

Corresponding author:
Vladimir N. Salkov,
e-mail: vla-salkov@yandex.ru

ABSTRACT

A critical analysis of the literature on the factors contributing to the excessive accumulation of iron in the structures of the substantia nigra of the brain in Parkinson's disease is presented. This morphological feature, along with such signs as the accumulation of an abnormal form of presynaptic protein alpha-synuclein in dopamine neurons, their rapid death and gliosis in the substantia nigra of the brain, is one of the most important in the pathomorphological picture of the disease.
It is shown that the excess of iron in the substantia nigra may be due to the influence of such factors as the effects of toxic metals (aluminum, mercury and lead) on the brain, impaired permeability of the blood-brain barrier, changes in the expression of metal-containing proteins and genetic mutations. At the same time, the role of factors such as the consumption of large amounts of iron with food and dietary supplements, and mitochondrial dysfunction in the formation of this morphological sign of Parkinson's disease remains not fully understood.
Continuation of the study of the causes of accumulation of excess iron in the structures of the midbrain in Parkinson's disease and those consequences that may be caused by excessive accumulation of iron in these structures remain relevant for modern neurology.
The literature search was conducted in the databases PubMed and eLibrary.

Key words: *Parkinson's disease, substantia nigra, iron accumulation, heavy metals, blood-brain barrier, iron-containing proteins, genetic mutations*

Received: 26.02.2024
Accepted: 20.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Salkov V.N. Causes of accumulation of excess iron in the structures of the *substantia nigra* of the brain in Parkinson's disease. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 161-168. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.17

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Паркинсона (БП) – хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, основными клиническими проявлениями которого являются брадикинезия, тремор и мышечная ригидность [1], а также недвигательные нарушения: обонятельные, зрительные, вегетативные и др. [2]. Патоморфологический субстрат БП складывается из таких составляющих признаков, как накопление в дофаминовых нейронах аномальной формы пресинаптического белка альфа-синуклеина, их быстрая убыль и глиоз в чёрном веществе (ЧВ) головного мозга [3]. Наряду с этим при БП определяют увеличение содержания реактивной формы железа (Fe^{2+}) в структурах ЧВ [4], которое может способствовать образованию аномальной формы альфа-синуклеина в связи с тем, что мутация A53T человека (приводит к замене аланина на треонин в положении 53 кодируемого белка) в гене *SNCA* (ген синуклеина альфа), кодирующем этот белок, обусловливает образование его аномальной формы исключительно в присутствии этой формы железа и дофамина [5]. Кроме того, накопление избытка реактивной формы железа может приводить к развитию окислительного стресса посредством реакции Фентона, результатом которой является образование высокореактивного гидроксильного радикала [6]:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + {}^{\bullet}OH + OH^{-} \quad [7].$$

Чрезмерное накопление железа в ЧВ при БП может запускать механизмы ферроптоза – регулируемой гибели нервных клеток, связанной с железозависимым накоплением перекисей липидов [8].

Среди факторов, способствующих увеличению концентрации железа в структурах ЧВ при БП, предполагают влияние таких, как токсические воздействия, связанные, в первую очередь, с накоплением тяжёлых металлов в структурах среднего мозга [9]; нарушение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [10]; изменение экспрессии металлосодержащих белков [11]; мутации генов, кодирующих белки, которые участвуют в транспорте, связывании и хранении железа [12]; и др. Несмотря на то, что эти факторы описаны в литературе достаточно полно, сведения о них разрознены, а их роль в этиологии заболевания точно не установлена.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Обобщение имеющихся в доступной нам литературе сведений о предполагаемых причинах увеличения содержания железа в структурах чёрного вещества головного мозга при болезни Паркинсона и уточнение их роли в этиологии и патогенезе этого заболевания.

НАКОПЛЕНИЕ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ В СТРУКТУРАХ СРЕДНЕГО МОЗГА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ И БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Металлы, накапливающиеся в организме человека, условно подразделяют на две группы [13]: биометаллы – металлы, являющиеся составной частью металлопротеинов и участвующие в обменных процессах (железо, медь, цинк, марганец, натрий, кальций и калий); токсичные металлы, которые не столь существенны для жизнедеятельности, но способны оказывать вредное воздействие на структуры головного мозга и других органов. Определение накопления металлов в структурах головного мозга стало возможным вследствие применения традиционных и современных методов исследования [14]. Использование радиохимического нейтронно-активационного анализа у здоровых людей зрелого и пожилого возраста (от 30 до 73 лет) позволило установить, что из всех выявленных металлов в ЧВ и скорлупе наибольшую концентрацию имело железо [15]. Кроме того, в ЧВ, в том числе в нейромеланине, были высокими концентрации цинка и марганца, а в скорлупе – цинка и меди. Другими методами (аналитической трансмиссионной электронной микроскопии и нановторичной ионной масс-спектроскопии) у здоровых людей старческого возраста (старше 75 лет) были обнаружены высокие концентрации железа и меди в нейромеланине ЧВ [16]. Остальные металлы, за исключением тех, которые были упомянуты выше, а также за исключением кальция, калия и натрия, у здоровых людей при возрастной инволюции не выявлялись или выявлялись в ничтожных количествах.

Следовательно, при возрастной инволюции, связанной с физиологическим старением, в структурах среднего мозга определяются исключительно биометаллы, тогда как токсичные металлы в них не обнаруживаются.

У людей с БП исследование нейронов ЧВ, содержащих нейромеланин, при помощи лазерного микрозондового анализатора позволило выявить в них высокое содержание алюминия [17], а применение автометаллографии для исследования микроэлементного состава голубого пятна определило в нём высокие концентрации ртути и серебра [18]. Из других металлов в литературе чаще встречаются упоминания о свинце в контексте взаимосвязи его воздействия на структуры головного мозга и риска развития БП [19]. Так, например, при воздействии свинца, связанном с профессиональными вредностями, например, у сварщиков, риск развития заболевания возрастает на 50 % [20]. Накопление соединений этого тяжёлого металла регистрируют в таких структурах головного мозга, как префронтальная область корковой пластинки и сосудистые сплетения желудочков [21]. Паркинсонизм при хронической интоксикации марганцем также был описан у людей, работающих на вредных производствах (шахтёров, сварщиков и др.) [22]. Несмотря на то, что этот металл является незаменимым микроэлементом для организма (биометаллом), он демонстрирует высокий уровень токсичности [23]. Однако воздействие марганца патоморфологически характеризуется повреждением области бледного шара при сохранности клеточных структур ЧВ и отсутствии телец Леви, что позволяет дифференцировать его от БП [24].

Повышение концентрации других токсичных металлов (кадмия, никеля, кобальта и др.) и близких к ним по своим физико-химическим свойствам элементов (се-

лена, мышьяка и др.) в структурах среднего мозга при БП статистически значимо не установлено, и их роль в чрезмерном накоплении железа в ЧВ при этом заболевании точно не определена [25], что связывают со сложностью проведения лонгитюдных исследований и их высокой материалоёмкостью [26].

Таким образом, при БП ионы ртути, серебра, алюминия и свинца могут проникать в клеточные структуры среднего мозга и накапливаться в них. При этом транспорт в клеточные структуры одних токсичных металлов (ртути и серебра) предполагает мультифокальное повреждение ГЭБ [18], других (алюминия) – их связывание с трансферрином [27], а третьих (свинца) – использование кальциевых каналов [28]. Механизм их токсичности (в частности у алюминия) может быть связан с тем, что они могут снижать синтез ферритина и увеличивать экспрессию рецепторов трансферрина, а это, в свою очередь, обусловливает увеличение содержания железа в клеточных структурах [17]. Другим доказанным механизмом токсичности тяжёлых металлов и их влияния на накопление избытка железа в ЧВ при БП является их способность катализировать формирование продуктов окислительного стресса, который они могут инициировать, замещая ионы железа в реакции Фентона [29].

Другой механизм нарушения ГЭБ при БП связан с гипотезой о том [18], что селективное повреждение нейронов голубого пятна может способствовать не только проникновению токсичных металлов в нейроны ЧВ, но и увеличению накопления и токсических свойств, локализованных в этих нейронах биометаллов – в первую очередь, железа и меди. Авторы предполагают, что селективное повреждение нейронов голубого пятна связано с воздействием токсичных металлов, а его непосредственным следствием является снижение в этом образовании головного мозга концентрации норадреналина, который выполняет естественную защитную функцию по отношению к нейронам ЧВ и структурам ГЭБ [31].

Кроме того, нарушение проницаемости ГЭБ при БП связывают с кластеризацией и разрушением эндотелиальных клеток барьерного типа [32], что обусловлено активацией астроцитов вследствие образования олигомеров альфа-синуклеина. Однако указанный механизм нарушения проницаемости ГЭБ при БП предполагает, что основной причиной чрезмерного накопления железа в ЧВ является накопление в ней аномальной формы альфа-синуклеина, а это противоречит тому факту, что олигомеризация альфа-синуклеина при БП возможна исключительно в присутствии избытка железа.

ДИСФУНКЦИЯ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА

Этот фактор как причину накопления избытка железа при БП обычно рассматривают в контексте анализа того воздействия, которое оказывают токсичные вещества на структуры головного мозга. Его влияние в первую очередь связывают со снижением функции Р-гликопротеина – полипептида, транспортирующего молекулы различных веществ из структур головного мозга в кровь [10]. Функциональную активность Р-гликопротеина исследовали при помощи меченого по радиоактивному изотопу углерода (^{11}C) верапамила, являющегося маркером этого полипептида. Препарат внутривенно вводили пациентам с БП и людям того же возраста, не выявлявшим неврологической симптоматики (контрольная группа), и при помощи позитронно-эмиссионной томографии определяли его поглощение структурами головного мозга. Выяснили, что область нарушения проницаемости ГЭБ значительно превосходила ту область, в которой обнаруживалось повреждение нейронов. Наряду с компактной частью ЧВ она включала вентральную область покрышки среднего мозга, ретрорубральное поле, голубое пятно, ядро дорсального шва и ядро Эдингера – Вестфаля. Кроме того, обнаружили, что у пациентов с БП поглощение ^{11}C-верапамила было на 18 % выше, чем у людей в контрольной группе, что, по мнению авторов, свидетельствовало о снижении при БП функции Р-гликопротеина. В другом исследовании этими же авторами при помощи аналогичных методов исследования было показано, что снижение функции Р-гликопротеина характерно не для ранних стадий БП и происходит при прогрессировании заболевания [30].

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МЕТАЛЛОСОДЕРЖАЩИХ БЕЛКОВ

Общеизвестно, что между концентрациями основных белков, участвующих в транспорте и накоплении железа в организме, – трансферринов и ферритинов – существует обратная зависимость: высокий уровень содержания ферритинов в клетках предполагает снижение содержания трансферринов в плазме крови. В связи с этим в литературе принято объяснять накопление железа в структурах ЧВ при БП высокой экспрессией трансферринов и обусловленным ей поступлением избытка железа из плазмы крови в структуры среднего мозга [33] или нарушением экспрессии ферритинов и вызванным им дисбалансом между содержанием реактивной формы железа и стабильной его формы [34]. Объективным доказательством в пользу первого объяснения является увеличение интенсивности иммунореактивности рецептора лактоферрина (белка лактотрансферрина) на нейронах и микрососудах структур среднего мозга, выявленное на аутопсийном материале мозга людей с БП [35]. В пользу нарушения экспрессии ферритинов свидетельствует дисбаланс их накопления в структурах ЧВ, выявленный у людей с БП: высокая по сравнению с контролем концентрация тяжёлой цепи ферритина и низкая – лёгкой [36]. Как показано у *Caenorhabditis elegans* (свободноживущей почвенной нематоды), тяжёлая цепь ферритина вследствие возрастной дисфункции не может окислять на своих сайтах для железа его реактивную форму до стабильной [37]. В связи с этим концентрация лёгкой цепи ферритина, осуществляющей хранение стабильной формы железа, снижается.

Важное значение в накоплении железа в ЧВ при БП может иметь увеличение экспрессии транспортёра двух-

валентных металлов (DMT1, divalent metal transporter 1), которое было установлено как на моделях БП у лабораторных животных [38], так и на аутопсийном материале мозга людей с этим заболеванием [39].

Наряду с нарушением экспрессии белков, способствующих транспорту железа и его хранению, при БП может изменяться активность белков, участвующих в окислении (восстановлении) ионов железа и их элиминации из структур среднего мозга. Так, в литературе показано, что альфа-синуклеин способен проявлять свойства ферриредуктазы, т. е. он может восстанавливать Fe^{3+} до Fe^{2+} [40]. На ранних стадиях БП его трансформация в аномальную форму (бета-листа) и избыточная экспрессия нарушают баланс между содержанием реактивной и стабильной форм железа в клеточных структурах ЧВ, а на поздних стадиях заболевания они способствуют накоплению реактивной формы железа в связи с гибелью дофаминовых нейронов и потерей ими основного хелатора ионов железа в нейронах – нейромеланина [41]. На образцах аутопсийного мозга людей с БП было выявлено снижение на 80 % активности церулоплазминферроксидазы – купропротеина, обеспечивающего элиминацию железа нейронами посредством ферропортина на интерстициальный апотрансферрин [42]. В другом исследовании образцов аутопсийного мозга людей с БП было установлено [43], что при этом заболевании снижается концентрации белка-предшественника амилоида, а это дестабилизирует ферропортин на поверхности мембран нейронов, препятствуя экспорту из них железа [44].

Таким образом, изменение экспрессии металлосодержащих белков может обусловливать накопление избыточного количества железа в ЧВ при БП на любом из этапов его метаболизма в головном мозге (поступление, окисление, хранение и элиминация).

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, СПОСОБСТВУЮЩИХ НАКОПЛЕНИЮ ЖЕЛЕЗА В СТРУКТУРАХ ЧЁРНОГО ВЕЩЕСТВА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Эти влияния обусловлены мутациями генов, которые кодируют белки, транспортирующие и связывающие железо. Мутации в гене муколипина (*TRPML1*) – белка, формирующего проницаемые для ионов биометаллов (железа, цинка и кальция) каналы, локализующиеся на мембранах эндосом и лизосом [45], как показано на лабораторных животных, могут приводить к нейродегенеративным заболеваниям [46]. Развивающаяся перегрузка лизосом железом сопровождается его дефицитом в цитоплазме нейронов, что впоследствии может приводить к нарушению функционирования системы регулирующих железо белков (IPR, iron regulatory proteins), координирующей на мРНК рецептора трансферрина и ферритина синтез этих белков [47]. Следовательно, мутация гена *TRPML1* приводит к нарушению локализации железа в нейронах, а это, в свою очередь, обусловливает развитие нейродегенерации.

Непосредственно с БП связывают мутацию *C282Y* в одном из генов хроматолиза (*HFE*), заболевания, при котором гормоноподобный пептид гексидин, синтезируемый гепатоцитами, инактивирует ферропортин – белок, способствующий элиминации железа из клеток [48]. Это заболевание обнаруживают у пациентов с БП в три раза чаще, чем у людей, не имеющих неврологической симптоматики [12]. В работах других исследователей положительная корреляция между риском развития БП и мутацией *C282Y* не прослеживалась, но в то же время она была определена для 3`-области трансферрина, связывающего и транспортирующего железо в крови, и генетической вариации белка-рецептора трансферрина-2 [49]. Учитывая, что белок-рецептор трансферрина-2 был обнаружен на мембранах дофаминовых нейронов компактной части ЧВ головного мозга [50], в том числе и на мембранах митохондрий этих нейронов, авторы указали на то, что при БП может быть реализован митохондриальный механизм патологии, опосредованный комплексом «трансферрин – трансферрин-2».

Таким образом, мутации генов, участвующих в метаболизме железа, могут не только обусловливать накопление избытка этого биометалла в структурах ЧВ при БП, но и являться причиной самого этого заболевания.

ДРУГИЕ ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ ЧРЕЗМЕРНОМУ НАКОПЛЕНИЮ ЖЕЛЕЗА В ЧЁРНОМ ВЕЩЕСТВЕ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Утверждение о том, что высокое потребление железа с пищевыми продуктами и биологическими добавками к пище способствует увеличению его содержания в дофаминовых нейронах ЧВ [51], а это, в свою очередь, повышает риск развития БП, было впоследствии опровергнуто авторами, в работах которых была продемонстрирована противоположная тенденция: снижение риска развития этого заболевания у людей с повышенной концентрацией сывороточного железа [52]. Вместе с тем этим предполагаемым фактором риска увеличения избытка железа в структурах среднего мозга при БП пренебрегать не следует в связи с тем, что метаанализ исследований, посвящённых влиянию алиментарного железа на риск развития БП, показал увеличение такого риска у неиспаноязычных европеоидов Западной Европы [53].

Широко обсуждаемым в литературе фактором, способствующим чрезмерному накоплению железа в структурах головного мозга в условиях нейродегенерации, является митохондриальная дисфункция [54]. В этом случае основной причиной развития нейродегенерации считают накопление активных форм кислорода, которые повреждают митохондрии. Это приводит к снижению активности митохондриального комплекса I, что обусловливает понижение концентрации глутатиона, который в физиологических условиях образует комплексы с лабильным пулом клеточного железа, т. е. того железа, которое не связано с нейромеланином нейронов и ферритинами нейроглии. В связи с этим такое железо нака-

пливается в клетках и может проявлять свои высокореактивные свойства. Одновременно с этим активируется IPR1, а это приводит к увеличению экспрессии DMT1 и белка-рецептора трансферрина-1, что обусловливает увеличение транспорта железа. Следовательно, при митохондриальной дисфункции накопление железа обусловлено не только снижением содержания глутатиона в нейронах, но и увеличением транспорта самого железа в нейроны. Вместе с тем, если считать митохондриальную дисфункцию инициирующим фактором накопления избытка железа в структурах среднего мозга при БП, то, учитывая тот факт, что активные формы кислорода составляют до 20 % от его общего количества, поступающего в организм из экзогенных источников непрерывно и ежесуточно [55], а также факт снижения антиоксидантной защиты с возрастом [56], можно предположить, что заболевание диагностировали бы у большинства людей, достигших старости. Очевидно, что этот фактор, непосредственной причиной которого считают повышенную экспрессию аномальной формы альфа-синуклеина [57], начинает оказывать своё влияние не на начальной стадии заболевания, а по мере его течения, усугубляя начальные нарушения, связанные с накоплением реактивного железа и трансформацией альфа-синуклеина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ наиболее часто упоминаемых в литературе факторов, способствующих избыточному накоплению железа в структурах ЧВ головного мозга при БП, позволяет утверждать, что такие факторы, как воздействие токсичных металлов на головной мозг, нарушение проницаемости ГЭБ, изменение экспрессии металлосодержащих белков и генетические мутации, оказывают прямое или опосредованное влияние на формирование этого важнейшего морфохимического признака заболевания. Кроме того, он позволяет установить, что чрезмерному накоплению железа в структурах ЧВ при БП способствует воздействие на головной мозг не всех токсичных металлов, а только алюминия, ртути и свинца, аналогично тому, как этому же способствуют мутации не всех 16 генов, связанных с гомеостазом железа в организме, а лишь тех из них, которые кодируют белок-рецептор трансферрина-2 и трансферрин. Продолжение изучения причин накопления избытка железа в структурах среднего мозга при БП и тех последствий, которые могут быть обусловлены таким чрезмерным накоплением железа, помогут лучше понять этиологию и закономерности патогенеза заболевания.

Конфликт интересов

Автор данной статьи заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Hayes MT. Parkinson's disease and parkinsonism. *Am J Med*. 2019; 132(7): 802-807. doi: 10.1016/j.amjmed.2019.03.001

2. Sveinbjornsdottir S. The clinical symptoms of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2016; 139(1): 318-324. doi: 10.1111/jnc.13691

3. Skou LD, Johansen SK, Okarmus J, Meyer M. Pathogenesis of DJ-1/PARK7-mediated Parkinson's disease. *Cells*. 2024; 13(4): 296. doi: 10.3390/cells13040296

4. Thomas GEC, Zarkali A, Ryten M, Shmueli K, Gil-Martinez AL, Leyland LA, et al. Regional brain iron and gene expression provide insights into neurodegeneration in Parkinson's disease. *Brain*. 2021; 144(6): 1787-1798. doi: 10.1093/brain/awab084

5. Hare DJ, Double KL. Iron and dopamine: A toxic couple. *Brain*. 2016; 139: 1026-1035. doi: 10.1093/brain/aww022

6. Zeng W, Cai J, Zhang L, Peng Q. Iron deposition in Parkinson's disease: A mini-review. *Cell Mol Neurobiol*. 2024; 44(1): 26. doi: 10.1007/s10571-024-01459-4

7. Knörle R. Neuromelanin in Parkinson's disease: From Fenton reaction to calcium signaling. *Neurotox Res*. 2018; 33(2): 515-522. doi: 10.1007/s12640-017-9804-z

8. David S, Jhelum P, Ryan F, Jeong SY, Kroner A. Dysregulation of iron homeostasis in the central nervous system and the role of ferroptosis in neurodegenerative disorders. *Antioxid Redox Signal*. 2022; 37: 150-170. doi: 10.1089/ars.2021.0218

9. Roe K. An alternative explanation for Alzheimer's disease and Parkinson's disease initiation from specific antibiotics, gut microbiota dysbiosis and neurotoxins. *Neurochem Res*. 2022; 47(3): 517-530. doi: 10.1007/s11064-021-03467-y

10. Kortekaas R, Leenders KL, van Oostrom JC, Vaalburg W, Bart J, Willemsen AT, et al. Blood-brain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain *in vivo*. *Ann Neurol*. 2005; 57(2): 176-179. doi: 10.1002/ana.20369

11. Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L. The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. *Lancet Neurol*. 2014; 13(10): 1045-1060. doi: 10.1016/s1474-4422(14)70117-6

12. Guerreiro RJ, Bras JM, Santana I, Januario C, Santiago B, Morgadinho AS, et al. Association of HFE common mutations with Parkinson's disease, Alzheimer's disease and mild cognitive impairment in a Portuguese cohort. *BMC Neurol*. 2006; 6: 24. doi: 10.1186/1471-2377-6-24

13. Li Y, Jiao Q, Xu H, Du X, Shi L, Jia F, et al. Biometal dyshomeostasis and toxic metal accumulations in the development of Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci*. 2017; 10: 339. doi: 10.3389/fnmol.2017.00339

14. Foley PB, Hare DJ, Double KL. A brief history of brain iron accumulation in Parkinson disease and related disorders. *J Neural Transm (Vienna)*. 2022; 129(5-6): 505-520. doi: 10.1007/s00702-022-02505-5

15. Zecca L, Pietra R, Goj C, Mecacci C, Radice D, Sabbioni E. Iron and other metals in neuromelanin, substantia nigra, and putamen of human brain. J Neurochem. 1994; 62(3): 1097-1101. doi: 10.1046/j.1471-4159.1994.62031097.x

16. Biesemeier A, Eibl O, Eswara S, Audinot JN, Wirtz T, Pezzoli G, et al. Elemental mapping of neuromelanin organelles of human substantia nigra: Correlative ultrastructural and chemical analysis by analytical transmission electron microscopy and nanosecondary ion mass spectrometry. *J Neurochem*. 2016; 138(2): 339-353. doi: 10.1111/jnc.13648

17. Igbokwe IO, Igwenagu E, Igbokwe NA. Aluminium toxicosis: A review of toxic actions and effects. *Interdiscip Toxicol*. 2019; 12(2): 45-70. doi: 10.2478/intox-2019-0007

18. Pamphlett R, Bishop DP. The toxic metal hypothesis for neurological disorders. *Front Neurol.* 2023; 14: 1173779. doi: 10.3389/fneur.2023.1173779

19. Schäffer E, Piel J. Das Exposom im Fokus prlventiver Maznahmen für die Alzheimer- und Parkinson-Erkrankung [The exposome in the context of preventive measures for Alzheimer's and Parkinson's diseases]. *Nervenarzt*. 2023; 94(10): 892-903. (In German). doi: 10.1007/s00115-023-01538-9

20. Gunnarsson LG, Bodin L. Occupational exposures and neurodegenerative diseases – A systematic literature review and meta-analyses. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(3): 337. doi: 10.3390/ijerph16030337

21. Garza-Lomby C, Posadas Y, Quintanar L, Gonsebatt ME, Franco R. Neurotoxicity linked to dysfunctional metal ion homeostasis and xenobiotic metal exposure: Redox signaling and oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2018; 28(18): 1669-1703. doi: 10.1089/ars.2017.7272

22. Mezzaroba L, Alfieri DF, Colado Simão AN, Vissoci Reiche EM. The role of zinc, copper, manganese and iron in neurodegenerative diseases. *Neurotoxicology*. 2019; 74: 230-241. doi: 10.1016/j.neuro.2019.07.007

23. Schofield K. The metal neurotoxins: An important role in current human neural epidemics? *Int J Environ Res Public Health*. 2017; 14(12): 1511. doi: 10.3390/ijerph14121511

24. Baj J, Flieger W, Barbachowska A, Kowalska B, Flieger M, Forma A, et al. Consequences of disturbing manganese homeostasis. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(19): 14959. doi: 10.3390/ijms241914959

25. Gyrska A, Markiewicz-Gospodarek A, Markiewicz R, Chilimoniuk Z, Borowski B, Trubalski M, et al. Distribution of iron, copper, zinc and cadmium in glia, their influence on glial cells and relationship with neurodegenerative diseases. *Brain Sci.* 2023; 13(6): 911. doi: 10.3390/brainsci13060911

26. Bakulski KM, Seo YA, Hickman RC, Brandt D, Vadari HS, Hu H, et al. Heavy metals exposure and Alzheimer's disease and related dementias. *J Alzheimers Dis*. 2020; 76(4): 1215-1242. doi: 10.3233/JAD-200282

27. Hémadi M, Miquel G, Kahn PH, El Hage Chahine JM. Aluminum exchange between citrate and human serum transferrin and interaction with transferrin receptor 1. *Biochemistry.* 2003; 42(10): 3120-3130. doi: 10.1021/bi020627p

28. Guo M, Ji X, Liu J. Hypoxia and alpha-synuclein: Inextricable link underlying the pathologic progression of Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci*. 2022; 14: 919343. doi: 10.3389/fnagi.2022.919343

29. Carboni E, Lingor P. Insights on the interaction of alpha-synuclein and metals in the pathophysiology of Parkinson's disease. *Metallomics.* 2015; 7: 395-404. doi: 10.1039/c4mt00339j

30. Bartels AL, Willemsen AT, Kortekaas R, de Jong BM, de Vries R, de Klerk O, et al. Decreased blood-brain barrier P-glycoprotein function in the progression of Parkinson's disease, PSP and MSA. *J Neural Transm (Vienna).* 2008; 115(7): 1001-1009. doi: 10.1007/s00702-008-0030-y

31. Benarroch EE. The locus ceruleus norepinephrine system: Functional organization and potential clinical significance. *Neurology.* 2009; 73(20): 1699-1704. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181c2937c

32. Yuan Y, Sun J, Dong Q, Cui M. Blood-brain barrier endothelial cells in neurodegenerative diseases: signals from the "barrier". *Front Neurosci.* 2023; 17: 1047778. doi: 10.3389/fnins.2023.1047778

33. Baksi S, Tripathi AK, Singh N. Alpha-synuclein modulates retinal iron homeostasis by facilitating the uptake of transferrin-bound iron: Implications for visual manifestations of Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med.* 2016; 97: 292-306. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.06.025

34. Trist BG, Hare DJ, Double KL. Oxidative stress in the aging substantia nigra and the etiology of Parkinson's disease. *Aging Cell.* 2019; 18(6). 00:e13031. doi: 10.1111/acel.13031

35. Wang J, Bi M, Liu H, Song N, Xie J. The protective effect of lactoferrin on ventral mesencephalon neurons against MPP+ is not connected with its iron binding ability. *Sci Rep*. 2015; 5: 10729. doi: 10.1038/srep10729

36. Koziorowski D, Friedman A, Arosio P, Santambrogio P, Dziewulska D. ELISA reveals a difference in the structure of substantia nigra ferritin in Parkinson's disease and incidental Lewy body compared to control. *Parkinsonism Relat Disord.* 2007; 13(4): 214–218. doi: 10.1016/j.parkreldis.2006.10.002

37. James SA, Roberts BR, Hare DJ, de Jonge MD, Birchall IE, Jenkins NL, et al. Direct *in vivo* imaging of ferrous iron dyshomeostasis in ageing Caenorhabditis elegans. *Chem Sci.* 2015; 6(5): 2952-2962. doi: 10.1039/c5sc00233h

38. Salazar J, Mena N, Hunot S, Prigent A, Alvarez-Fischer D, Arredondo M, et al. Divalent metal transporter 1 (DMT1) contributes to neurodegeneration in animal models of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105(47): 18578-18583. doi: 10.1073/pnas.0804373105

39. Hirsch EC. Iron transport in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* 2009; 15(3): 209-211. doi: 10.1016/S1353-8020(09)70816-8

40. Hare D, Ayton S, Bush A, Lei P. A delicate balance: Iron metabolism and diseases of the brain. *Front Aging Neurosci*. 2013; 5: 34. doi: 10.3389/fnagi.2013.00034

41. Sian-Hulsmann J, Riederer P. The role of alpha-synuclein as ferrireductase in neurodegeneration associated with Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2020; 127(5): 749-754. doi: 10.1007/s00702-020-02192-0

42. Abdeen AH, Trist BG, Double KL. Empirical evidence for biometal dysregulation in Parkinson's disease from a systematic review and Bradford Hill analysis. *NPJ Parkinsons Dis*. 2022; 8(1): 83. doi: 10.1038/s41531-022-00345-4

43. Ayton S, Lei P, Hare DJ, Duce JA, George JL, Adlard PA, et al. Parkinson's disease iron deposition caused by nitric oxide-induced loss of β-amyloid precursor protein. *J Neurosci.* 2015; 35(8): 3591-3597. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3439-14.2015

44. Wong BX, Tsatsanis A, Lim LQ, Adlard PA, Bush AI, Duce JA. β-Amyloid precursor protein does not possess ferroxidase activity but does stabilize the cell surface ferrous iron exporter ferroportin. *PLoS One*. 2014; 9(12): e114174. doi: 10.1371/journal.pone.0114174

45. Wang W, Zhang X, Gao Q, Xu H. TRPML1: An ion channel in the lysosome. *Handb Exp Pharmacol.* 2014; 222: 631-645. doi: 10.1007/978-3-642-54215-2_24

46. Mills E, Dong XP, Wang F, Xu H. Mechanisms of brain iron transport: Insight into neurodegeneration and CNS disorders. *Future Med Chem.* 2010; 2(1): 51-64. doi: 10.4155/fmc.09.140

47. Fonseca Ó, Ramos AS, Gomes LTS, Gomes MS, Moreira AC. New perspectives on circulating ferritin: Its role in health and disease. *Molecules.* 2023; 28(23): 7707. doi: 10.3390/molecules28237707

48. Kawabata H. The mechanisms of systemic iron homeostasis and etiology, diagnosis, and treatment of hereditary

hemochromatosis. *Int J Hematol.* 2018; 107(1): 31-43. doi: 10.1007/s12185-017-2365-3

49. Rhodes SL, Buchanan DD, Ahmed I, Taylor KD, Loriot MA, Sinsheimer JS, et al. Pooled analysis of iron-related genes in Parkinson's disease: Association with transferrin. *Neurobiol Dis*. 2014; 62: 172-178. doi: 10.1016/j.nbd.2013.09.019

50. Mastroberardino PG, Hoffman EK, Horowitz MP, Betarbet R, Taylor G, Cheng D, et al. A novel transferrin/TfR2-mediated mitochondrial iron transport system is disrupted in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis.* 2009; 34(3): 417-431. doi: 10.1016/j.nbd.2009.02.009

51. Powers KM, Smith-Weller T, Franklin GM, Longstreth WT Jr, Swanson PD, Checkoway H. Parkinson's disease risks associated with dietary iron, manganese, and other nutrient intakes. *Neurology.* 2003; 60(11): 1761-1766. doi: 10.1212/01.wnl.0000068021.13945.7f

52. Pichler I, Del Greco MF, Gögele M, Lill CM, Bertram L, Do CB, et al. Serum iron levels and the risk of Parkinson disease: A Mendelian randomization study. *PLoS Med*. 2013; 10(6): e1001462. doi: 10.1371/journal.pmed.1001462

53. Cheng P, Yu J, Huang W, Bai S, Zhu X, Qi Z, et al. Dietary intake of iron, zinc, copper, and risk of Parkinson's disease: A meta-analysis. *Neurol Sci*. 2015; 36(12): 2269-2275. doi: 10.1007/s10072-015-2349-0

54. Muñoz Y, Carrasco CM, Campos JD, Aguirre P, Núñez MT. Parkinson's disease: The mitochondria-iron link. *Parkinsons Dis.* 2016; 2016: 7049108. doi: 10.1155/2016/7049108

55. Ramalingam M, Kim SJ. Reactive oxygen/nitrogen species and their functional correlations in neurodegenerative diseases. *J Neural Transm (Vienna)*. 2012; 119(8): 891-910. doi: 10.1007/s00702-011-0758-7

56. Мезенцев Ю.А., Осипова О.А. Обзор современной информации о влиянии оксидативного стресса на преждевременное старение. *Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики*. 2022; 5: 249-269. [Mezentsev YuA, Osipova OA. Review of current information impact of oxidative stress on premature aging. *Current Problems of Health Care and Medical Statistics.* 2022; 5: 249-269. (In Russ.)]. doi: 10.24412/2312-2935-2022-5-249-269

57. Bir A, Sen O, Anand S, Khemka VK, Banerjee P, Cappai R, et al. α-synuclein-induced mitochondrial dysfunction in isolated preparation and intact cells: Implications in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neurochem*. 2014; 131(6): 868-877. doi: 10.1111/jnc.12966

Сведения об авторе

Салькov Владимир Николаевич – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейроморфологии Института мозга, ФГБНУ «Научный центр неврологии», e-mail: vla-salkov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1580-0380

Information about the author

Vladimir N. Salkov – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Neuromorphology, Brain Institute, Research Center of Neurology, e-mail: vla-salkov@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-1580-0380

ОНКОЛОГИЯ
ONCOLOGY

СРАВНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВТОРНЫХ РЕКОНСТРУКТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ НА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛЛО- И АУТОМАТЕРИАЛОВ. ОПЫТ МНИОИ ИМ. П.А. ГЕРЦЕНА

Сипки В.Н. [1],
Власова М.Ю. [1],
Мошурова М.В. [1],
Занозина Е.А. [1],
Зикиряходжаев А.Д. [1, 2, 3]

[1] Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (125284, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, 3, Россия)
[2] ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, Россия)
[3] ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119991, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сипки Вячеслав Нодарович,
e-mail: sipki1994@mail.ru

Статья поступила: 11.12.2024
Статья принята: 13.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Реконструкция молочной железы алло- и/или аутологичными материалами становится наиболее популярным вариантом хирургического лечения у больных раком молочной железы (РМЖ).*
Цель работы. *Оценить эффективность реконструкций у больных раком молочной железы в зависимости от методики повторного вмешательства.*
Материалы и методы. Объектом исследования стали 70 пациенток, которым была проведена повторная реконструкция с использованием эндопротеза, аутотрансплантация лоскутом и/или комбинация данных методов в период с 2016 по 2023 г. Средний возраст пациенток составил 46,8 ± 8,6 года. Индекс массы тела (ИМТ) > 25 был зарегистрирован у 56 % (n = 37) пациенток, ИМТ < 25 – у 44 % (n = 33). В зависимости от варианта повторной реконструкции пациентки были разделены на три группы: 1) реконструкция эндопротезом (тканевый экспандер или силиконовый эндопротез) (n = 30 – 42,8 %); 2) реконструкция лоскутом нижней глубокой эпигастральной артерии (DIEP, deep inferior epigastric artery perforator flap) или кожно-мышечным лоскутом прямой мышцы живота (TRAM, transverse rectus abdominis myocutaneous flap) (n = 20; 28,5 %); 3) комбинация торакодорзального лоскута (ТДЛ) и эндопротеза (n = 20; 28,5 %).
Результаты. *По данным опросника BREAST-Q, отмечается значительное повышение психосоциального и сексуального благополучия в послеоперационном периоде во всех группах. В группе реконструкции эндопротезами наблюдается выраженная динамика роста удовлетворённости молочной железой (до операции – 50,3 балла по Рашу, после – 84 балла), несмотря на несколько проведённых повторных операций. При реконструкции TRAM-лоскутом 5 из 20 пациенток (25 %) отмечали незначительный дискомфорт, затруднение при выполнении бытовой физической нагрузки в течение 6 месяцев после проведённого хирургического лечения (до операции – 46 баллов по Рашу, после – 49 баллов). В группе реконструкции ТДЛ + эндопротезом ни одна из опрошенных пациенток не отметила дискомфорта, ограничения и невозможности выполнения повседневной физической нагрузки (до операции – 46 баллов по Рашу, после – 49 баллов).*
Заключение. *Данные нашего исследования сопоставимы с мировыми результатами как по выбору подхода повторной реконструкции, так и по общей удовлетворённости пациенток.*

Ключевые слова: *рак молочной железы, реконструкция молочной железы, реконструктивно-пластическая хирургия, повторная реконструкция молочной железы, реконструкция имплантатами, аутотрансплантация, BREAST-Q*

Для цитирования: Сипки В.Н., Власова М.Ю., Мошурова М.В., Занозина Е.А., Зикиряходжаев А.Д. Сравнение результатов повторных реконструктивных вмешательств на молочной железе с использованием алло- и аутоматериалов. Опыт МНИОИ им. П.А. Герцена. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 169-178. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.18

COMPARISON OF THE RESULTS OF REPEATED RECONSTRUCTIVE INTERVENTIONS ON THE BREAST USING ALLO- AND AUTOLOGOUS MATERIALS. EXPERIENCE OF THE P. HERZEN MOSCOW ONCOLOGY RESEARCH INSTITUTE

Sipki V.N. [1],
Vlasova M.Yu. [1],
Moshurova M.V. [1],
Zanozina E.A. [1],
Zikiryakhodzhaev A.D. [1, 2, 3]

[1] P. Herzen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (2nd Botkinskiy drive 3, Moscow 125284, Russian Federation)
[2] Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (Miklukho-Maklaya str. 6, Moscow 117198, Russian Federation)
[3] I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Bolshaya Pirogovskaya str. 2, build. 4, Moscow 119991 Russian Federation)

Corresponding author:
Vyacheslav N. Sipki,
e-mail: sipki1994@mail.ru

Received: 11.12.2024
Accepted: 13.02.2025
Published: 13.03.2025

ABSTRACT

Background. *Breast reconstruction with allo- and/or autologous materials is becoming the most popular surgical treatment option for breast cancer patients.*
The aim of the study. *To evaluate the efficacy of reconstructions in breast cancer patients depending on the technique of reintervention.*
Materials and methods. *The object of the study was a group of 70 female patients who underwent repeat reconstruction using endoprosthesis, flap autografting, and/or a combination of these methods, between 2016 and 2023. The age of the patients ranged from 25 to 68 years. The mean age was 46.8 ± 8.6 years. Body mass index (BMI) > 25 was in 56 % (n = 37) of patients, BMI < 25 – in 44 % (n = 33). Regarding the reconstructive option, the patients were divided into three groups: 1) reconstruction with endoprosthesis (tissue expander or silicone endoprosthesis) (n = 30; 42.8 %); 2) reconstruction with deep inferior epigastric artery perforator (DIEP) or transverse rectus abdominis myocutaneous (TRAM) flap (n = 20; 28.5 %); 3) combination of thoracodorsal flap (TDF) and endoprosthesis (n = 20; 28.5 %).*
Results. *According to the data of the BREAST-Q questionnaire there was a significant increase of psychosocial and sexual well-being in the postoperative period in all groups. In the group of endoprosthesis reconstruction there was a pronounced dynamics of the growth of satisfaction with the mammary gland (before the operation – 50.3 points according to Rasch, after the operation – 84 points), despite several repeated operations. In case of TRAM-flap reconstruction (n = 5/20; 25 %) the patients noted a slight discomfort, difficulty in performing household physical activity during 6 months after the surgical treatment (before the operation – 46 points according to Rasch, after – 49 points). Among the interviewed patients, on average (11 points according to Rasch), an increase in satisfaction with the state of the anterior abdominal wall was noted. In the group of TDF + endoprosthesis reconstruction none of the interviewed patients noted discomfort, limitation and inability to perform everyday physical activity (preoperatively – 46 points according to Rasch, after – 49 points).*
Conclusion. *The data of our study are comparable with the world results, both in terms of the approach to the choice of repeat reconstruction and the overall satisfaction of the patients.*

Key words: *breast cancer, breast reconstruction, reconstructive-plastic surgery, repeated breast reconstruction, implant reconstruction, autografting, BREAST-Q*

For citation: Sipki V.N., Vlasova M.Yu., Moshurova M.V., Zanozina E.A., Zikiryakhodzhaev A.D. Comparison of the results of repeated reconstructive interventions on the breast using allo- and autologous materials. Experience of the P. Herzen Moscow Oncology Research Institute. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 169-178. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.18

ВВЕДЕНИЕ

Реконструкция молочной железы алломатериалами остаётся наиболее популярным вариантом хирургического лечения у больных раком молочной железы (РМЖ). В последнее время популярность реконструкции молочной железы силиконовым эндопротезом, установленным препекторально, значительно возросла.

E. Ostapenko и соавт. предоставили данные крупного метаанализа с участием 3101 пациента. Результаты показали, что в группе с препекторальной установкой имплантата было меньше случаев развития капсульной контрактуры III и IV степени по Baker (отношение шансов (ОШ) – 0,54; 95%-й доверительный интервал (95% ДИ): 0,32–0,92; $p = 0,02$), анимационной деформации (ОШ = 0,02; 95% ДИ: 0,00–0,25; $p = 0,002$). Не отмечается существенной разницы между препекторальной и субпекторальной установкой имплантата по частоте общих осложнений (ОШ = 0,83; 95% ДИ: 0,64–1,09; $p = 0,19$), развития серомы (ОШ = 1,21; 95% ДИ: 0,59–2,51; $p = 0,60$), гематомы (ОШ = 0,76; 95% ДИ: 0,49–1,18; $p = 0,22$), инфицирования ложа имплантата (ОШ = 0,87; 95% ДИ: 0,63–1,20; $p = 0,39$), развития некроза кожного чехла (относительный риск (ОР) – 0,70; 95% ДИ: 0,45–1,08; $p = 0,11$) и рецидивов (ОШ = 1,31; 95% ДИ: 0,52–3,39; $p = 0,55$). Согласно опроснику BREAST-Q, в группах с суб- и препекторальной установкой имплантата также не было отмечено существенной разницы. Таким образом, результаты метаанализа показали, что препекторальная установка имплантата при реконструкции молочной железы (МЖ) является безопасной методикой [1].

Реконструкция имплантатами (РИ) является наиболее распространённым методом реконструкции МЖ в мировой практике. Несмотря на относительно благоприятные результаты, перипротезная инфекция является серьёзной проблемой, которая зачастую приводит к удалению протеза. A.M. Hassan и соавт. оценили результаты третьей попытки реконструкции после вторичной операции с использованием имплантатов и развития инфекционного осложнения. Из 6093 пациенток, перенёсших первичную РИ, 13 пациенткам была выполнена третья попытка реконструкции. Третичная реконструкция силиконовыми имплантатами была выполнена 9 (70 %) пациенткам, торакодорзальным лоскутом (ТДЛ) в комбинации с имплантатом – 2 (15 %), свободная аутологичная реконструкция лоскутом передней брюшной стенки – 2 (15 %). Третья попытка реконструкции МЖ была одномоментной у 46 % пациенток и отсроченной – у 54 %. Во всех случаях пациентки отмечали высокую удовлетворённость эстетическим результатом. Следовательно, третья попытка реконструкции МЖ после неудачной вторичной РИ, вызванной инфицированием, является безопасным и приемлемым вариантом. Хотя риск неудачи выше, чем при первичной реконструкции на основе имплантатов, третичная реконструкция имела удивительно высокий процент успеха – 78 % [2].

При неудачной реконструкции МЖ с использованием имплантатов наиболее частой повторной методикой является аутологичная реконструкция. M. von Glinski и соавт. сравнили хирургические результаты повторной аутологичной реконструкции (пАР) с одномоментной или отсроченной аутологичной реконструкцией (оАР и отср.АР).

В исследовании приняли участие 70 пациенток (с пАР: $n = 23$, средний возраст (M ± SD) – 53,5 ± 9,1 года, наблюдение 28,6 ± 18,5 месяца; с оАР и отср.АР: $n = 45$, средний возраст – 50,2 ± 7,3 года, наблюдение 32,8 ± 18,5 месяца). Основным показанием к пАР была клинически значимая капсулярная контрактура ($n = 14$; 60,1 %). Частота ранних незапланированных повторных операций была значительно выше при пАР (56,5 % против 14,9 %; $p < 0,01$). Пациентки с оАР и отср.АР отметили значительно лучший общий эстетический результат (2,7 ± 0,9 против 3,3 ± 0,7; $p < 0,01$) и набрали значительно больше баллов по опроснику BREAST-Q (психосоциальное благополучие, удовлетворённость МЖ; $p < 0,05$) по сравнению с пациентками с пАР. Следует отметить, что повторная аутологичная реконструкция ассоциируется с более высокой частотой осложнений, ухудшением эстетических результатов и качества жизни по сравнению с оАР и отср.АР [3].

В метаанализе J.M. Broyles и соавт. было проведено сравнение одномоментной реконструкции молочной железы имплантатами с реконструкцией лоскутами у больных РМЖ. По сравнению с пациентками, прошедшими РИ, пациентки после аутологичной реконструкции (АР) имеют клинически значимое улучшение сексуального благополучия (5,8; 95% ДИ: 3,4–8,2) и удовлетворённости МЖ (8,1; 95% ДИ: 6,1–10,1). АР ассоциировалась с более высоким риском венозной тромбоэмболии (умеренный показатель доказательности), а РИ – с более высоким риском неудач реконструкции (умеренный показатель доказательности) и серомы (низкий показатель доказательности) при долгосрочном наблюдении (1,5–4 года). Другие результаты были сопоставимы между группами. Большинство данных, касающихся сравнения РИ с АР, имеют низкую или умеренную эффективность. АР, вероятно, ассоциируется с лучшим сексуальным самочувствием и удовлетворённостью МЖ, более низким риском развития серомы и долгосрочных неудач реконструкции, но более высоким риском тромбоэмболических осложнений [4].

Влияние одномоментной реконструкции молочной железы с использованием имплантатов и/или аутологичных тканей на частоту осложнений изучено достаточно широко, однако ещё предстоит всесторонне исследовать результаты этих процедур при одномоментной одноэтапной реконструкции по отзывам пациентов. O. Shauly и соавт. сравнивали результаты одномоментной реконструкции с использованием имплантатов (ОРИ) и одномоментной аутологичной реконструкции (ОАР), чтобы определить преимущества и недостатки каждого метода с точки зрения пациента. В исследование были включены 1342 пациентки. Среднее значение удовлетворённости пациенток МЖ составило 70,7 (95% ДИ: 69,4–72,0) после ОАР и 68,5 (95% ДИ: 67,1–69,9) после ОРИ, что свидетельствует о статистически значимой разнице в результатах ($p < 0,05$). Среднее значение сексуального благополучия пациенток составило 59,3 (95% ДИ: 57,8–60,8) после ОАР и 62,8 (95% ДИ: 60,7–64,8) после ОРИ ($p < 0,01$). Объединённое среднее значение удовлетворённости пациентов своим исходом со-

ставило 78,8 (95% ДИ: 76,2–81,3) после ОАР и 82,3 (95% ДИ: 80,4–84,1) после ОРИ ($p < 0,05$).

Одномоментная реконструкция с использованием имплантатов может иметь аналогичные или большие возможности для достижения удовлетворённости пациентов и улучшения качества жизни по сравнению с одномоментной аутологичной реконструкцией [5].

Выбор типа реконструкции имеет огромное значение при лечении больных РМЖ. T. Stefura и соавт. в своём исследовании сравнили и оценили РИ и АР. В исследовании принимали участие 55 455 пациенток. Наблюдались значительно лучшие результаты после АР в отношении эстетической удовлетворённости (–8,51; 95% ДИ: –10,70÷–6,33; $p < 0,001$) и удовлетворённости всем реконструктивным лечением (–6,56; 95% ДИ: –9,97÷–3,14; $p < 0,001$). Оба метода оказались сопоставимы с точки зрения безопасности, а частота осложнений между группами различалась незначительно (ОШ = 1,06; 95% ДИ: 0,71–1,59; $p = 0,76$).

Результаты, полученные в ходе этого научного исследования, улучшат понимание различных клинических путей, на которые могут быть направлены пациенты. Исследование подчеркнуло преимущества и недостатки обоих методов [6].

Реконструкция молочной железы алломатериалами и аутологичными тканями представляет собой наиболее распространённые процедуры после подкожной мастэктомии (ПМЭ). M. von Glinski и соавт. провели анализ РИ и АР.

В исследовании приняли участие 108 пациенток (РИ: $n = 72$, возраст 48,9 ± 9,9 года; АР: $n = 36$, возраст 46,6 ± 7,3 года). Пациенты РИ значительно чаще страдали от осложнений (30,6 % против 8,3 %; $p = 0,01$), а пациенты АР чаще подвергались вторичным процедурам для улучшения эстетического результата (55,6 % против 29,2 %; $p = 0,004$). В случае односторонних реконструкций лучшие эстетические результаты были получены при АР, в то время как в случае двусторонних – при РИ. Опросник BREAST-Q выявил статистически значимо более высокую «удовлетворённость пациентки молочной железой» после АР ($p = 0,033$).

Из этого следует вывод о том, что аутологичная реконструкция лоскутами ассоциируется с более высокой удовлетворённостью пациенток, несмотря на высокую вероятность вторичных процедур, в то время как пациентки после реконструкции имплантатами чаще страдают от осложнений [7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка эффективности методики повторной реконструкции у больных раком молочной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась в отделении онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России). В исследовании приняли участие 70 больных раком молочной железы после повторных реконструктивных вмешательств, выполненных в период с 2016 по 2023 г. Возрастной диапазон варьировал от 25 до 68 лет. Средний возраст составил 46,8 ± 8,6 года. Индекс массы тела (ИМТ) > 25 был выявлен у 56 % ($n = 37$) пациентов, ИМТ < 25 – у 44 % ($n = 33$). Исследование было одобрено независимым советом по этике при МНИОИ им. П.А. Герцена – филиале ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (протокол заседания лечебно-этического комитета № 119 от 01.11.2024).

Учитывая варианты повторной реконструкции, пациентки были разделены на три группы:

1. Реконструкция эндопротезом (тканевый экспандер (ТЭ) или силиконовый эндопротез) ($n = 30$; 42,8 %).
2. Реконструкция лоскутом нижней глубокой эпигастральной артерии (DIEP, deep inferior epigastric artery perforator flap) или кожно-мышечным лоскутом прямой мышцы живота (TRAM, transverse rectus abdominis myocutaneous flap) ($n = 20$; 28,5 %).

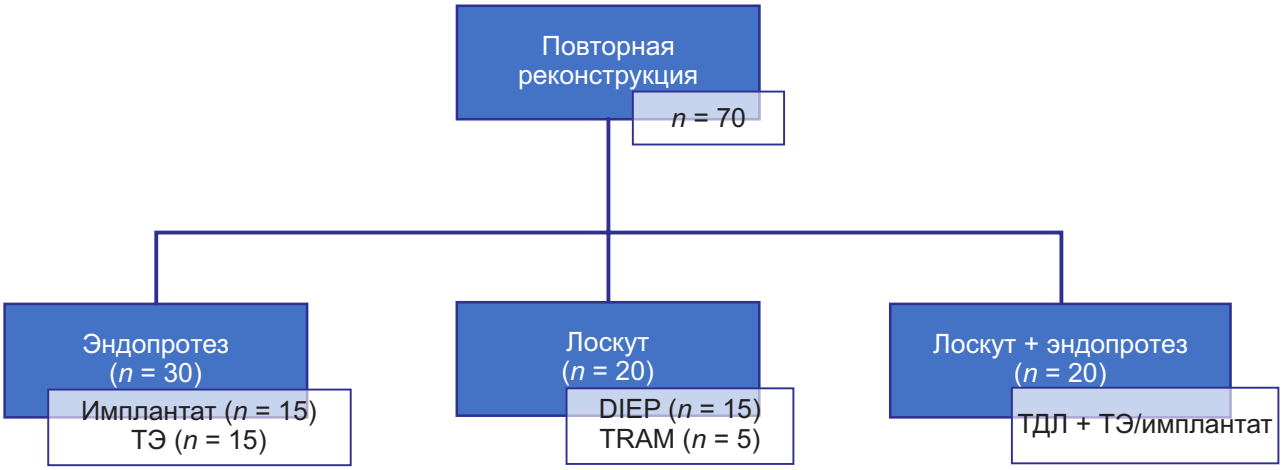


РИС. 1.
Распределение пациенток по группам в зависимости от вида повторной реконструкции

FIG. 1.
Distribution of patients by groups depending on the type of repeated reconstruction

3. Комбинация торакодорзального лоскута (ТДЛ) и силиконового эндопротеза (*n* = 20; 28,5 %) (рис. 1).

Дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) на область реконструированной молочной железы была проведена в 74,3 % случаев (*n* = 58), на зоны регионарного лимфооттока – в 48,3 % (*n* = 28).

Помимо ДЛТ, пациенткам групп исследования наиболее часто назначалась гормональная терапия антиэстрогенами или ингибиторами ароматазы в зависимости от менструального статуса (75,7 %; *n* = 53). Варианты проведённого комплексного лечения представлены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОК ПО ВАРИАНТАМ ПРОВЕДЁННОГО КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 1

DISTRIBUTION OF PATIENTS DEPENDING ON THE COMPLEX TREATMENT PERFORMED

Вид лечения	Количество пациенток
Неоадъювантная химиотерапия	35/70 (50 %)
Адъювантная химиотерапия	24/70 (34,2 %)
Гормональная терапия	53/70 (75,7 %)
Таргетная терапия	18/70 (25,7 %)
Лучевая терапия	58/70 (74,3 %)
– зоны регионарного лимфооттока	28/58(48,3 %)

РЕЗУЛЬТАТЫ

После первичного повторного вмешательства в группе реконструкции эндопротезами у 8 из 30 пациентов развились осложнения, из которых 5 – после реконструкции силиконовыми имплантатами, 3 – после использования ТЭ (рис. 2). В группе с использованием имплантатов в 2 случаях капсулярная контрактура III степени по Baker развилась через 7 месяцев после первичной реконструкции, а в 3 случаях – через 18 месяцев. При использовании при повторной операции тканевых экспандеров в 1 случае через 4 мес. было отмечено развитие диастаза краёв раны, в 2 случаях через 19 мес. возник выраженный липонекроз. При первичной реконструкции была выполнена препекторальная установка силиконового имплантата с текстурированным покрытием (*n* = 5). После развития первичной капсулярной контрактуры III и IV степени была выполнена замена текстурированного имплантата на имплантат с аналогичным (*n* = 3) либо с полиуретановым покрытием (ПУ) (*n* = 2). Смены кармана не проводилось. На ПУ имплантатах через 7 месяцев развилось повторное осложнение, на текстурированных – через 18 месяцев. Была выполнена вторичная повторная реконструкция: замена ПУ на полиуретановый имплантат (*n* = 2); замена текстурированного имплантата на текстурированный имплантат (*n* = 3). Всем пациенткам первой подгруппы была выполнена третья корригирующая операция в виде липофилинга реконструированной молочной железы. Пациенткам второй подгруппы было вы-

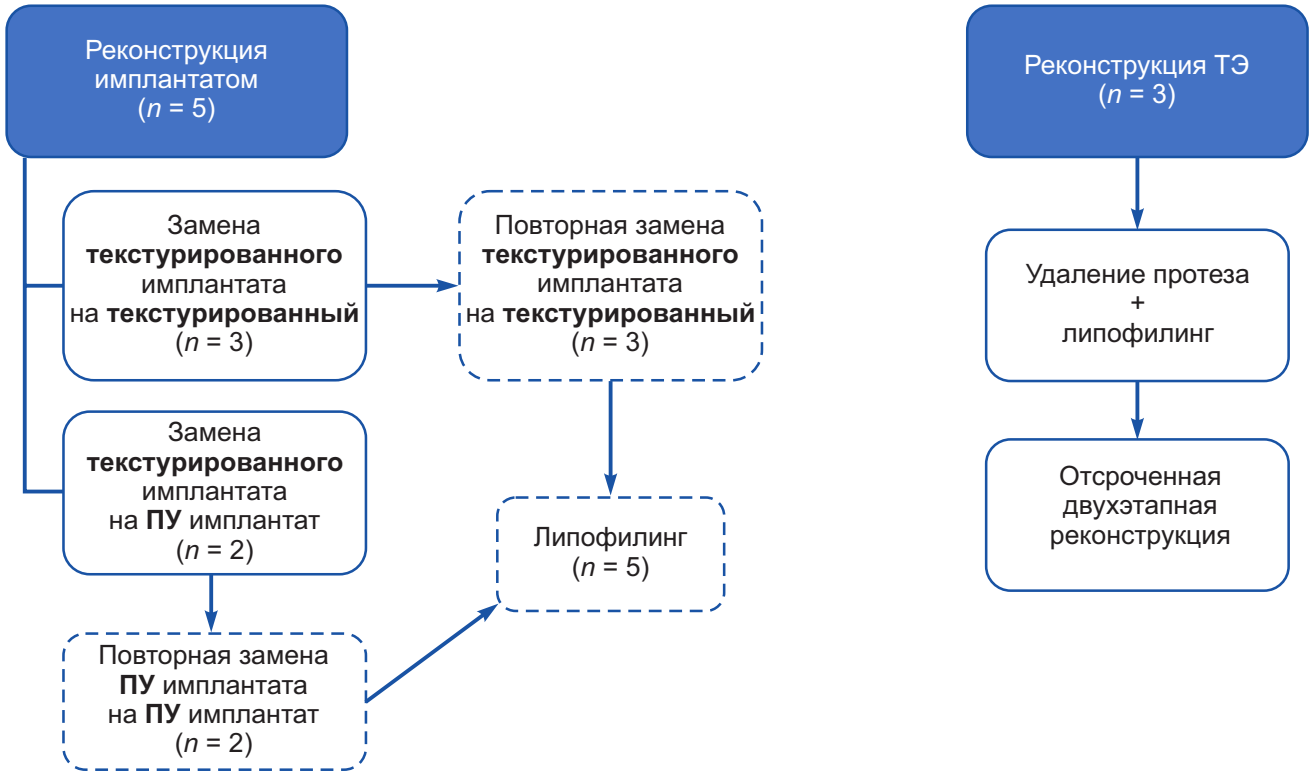


РИС. 2.

Повторные реконструкции после неудач первичной повторной операции (1-я группа)

FIG. 2.

Repeated re-reconstructions after failed primary reoperation (group 1)

полнено удаление ТЭ с одномоментным липофилингом. В отсроченном этапе была проведена двухэтапная реконструкция (ТЭ/имплантат).

В группе аутотрансплантации лоскутами было выполнено 20 реконструкций МЖ, из которых 15 – DIEP-лоскутом, 5 – TRAM-лоскутом после возникшей капсулярной контрактуры III степени (n = 12) и протрузии имплантата (n = 7) после первичной операции. Среднее время возникновения осложнений составило 2,3 ± 2,1 года. В данной группе повторных осложнений отмечено не было.

Только в одном случае объём трансплантируемого лоскута был недостаточным. Для коррекции симметрии лоскута с контрлатеральной молочной железой была выполнена установка силиконового имплантата под DIEP-лоскут.

В третьей группе рассматривались пациентки, которым была выполнена первичная повторная реконструкция силиконовым имплантатом в комбинации с ТДЛ после развившейся протрузии (n = 12) и капсулярной контрактуры III–IV ст. (n = 8) после первичной реконструкции (рис. 3, 4). У 2 из 8 пациенток развилось повторное аналогичное осложнение. Было принято решение о проведении третьего хирургического вмешательства в виде замены текстурированного имплантата на аналогичный (n = 2). У одной пациентки данной группы были выполнены два курса корригирующего липофилинга и последующая замена имплантата с текстурированным покрытием на имплантат с таким же покрытием (рис. 3). У 2 из 12 пациенток в течение 1 месяца развилась повторная протрузия эндопротеза. Данным пациенткам были выполнены несколько повторных реконструкций, которые включали в себя удаление имплантата с одномоментным проведением липофилинга, повторный курс липофилинга и отсроченную двухэтапную реконструкцию (ТЭ/имплантат) в комбинации с ТДЛ (рис. 4).

По данным опросника BREAST-Q, отмечается значительное повышение психосоциального и сексуального благополучия в послеоперационном этапе во всех группах (рис. 5–7). Все пациентки, которым была проведена адъювантная лучевая терапия, отмечают неблагоприятные постлучевые проявления в виде гиперпигментации кожи, сухости и отёчности кожного покрова реконструированной молочной железы (рис. 5–7). В группе реконструкции эндопротезами наблюдается выраженная динамика роста удовлетворённости МЖ (до операции – 50,3 балла по Рашу, после – 84 балла), несмотря на несколько проведённых повторных операций.

В группе реконструкции собственными тканями в 75 % случаев использовались DIEP-лоскуты, что подразумевает отсутствие травматизации передней брюшной стенки. В свою очередь, травматизация нервного пучка при выделении кожно-мышечного TRAM-лоскута значительно повышает риск развития послеоперационных грыж, пролабирования передней брюшной стенки. Среди опрошенных пациенток отмечается высокий уровень удовлетворённости передней брюшной стенкой (до операции – 53 балла по Рашу,

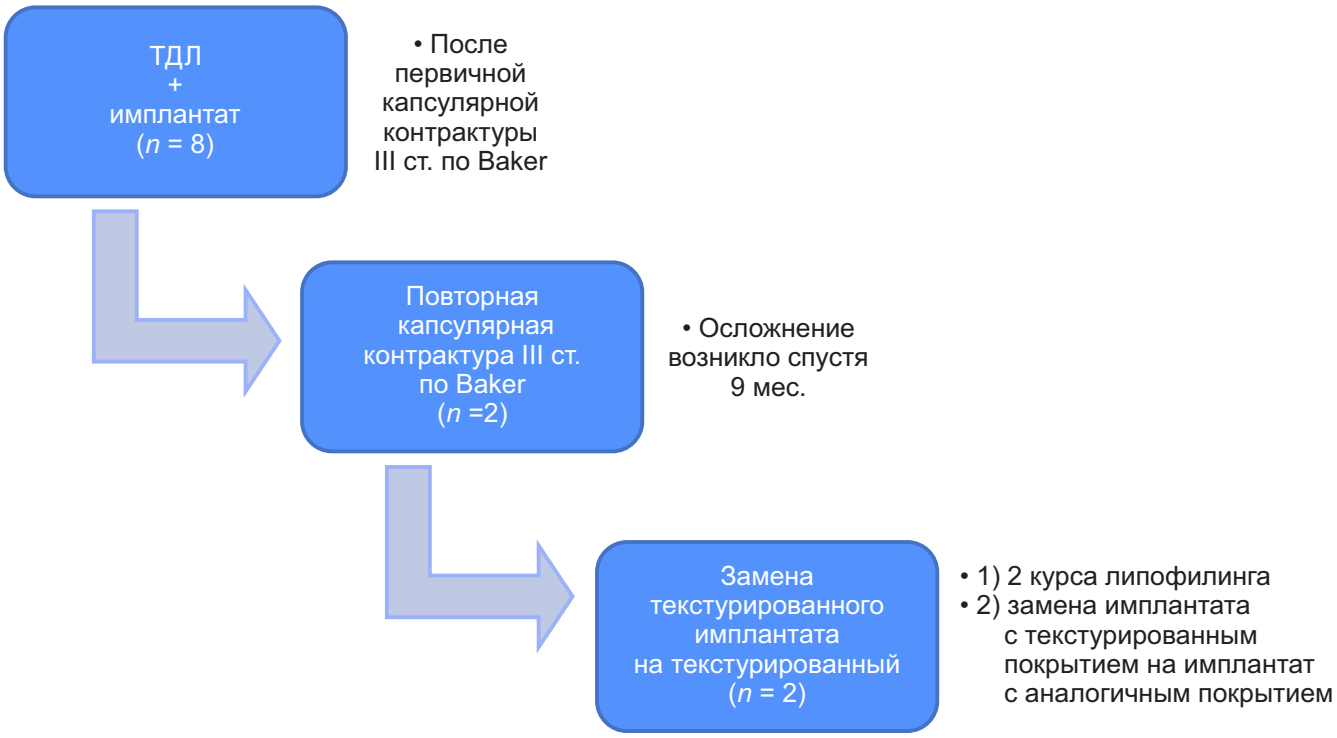


РИС. 3.
Повторные реконструкции после неудач первичной повторной операции в группе реконструкции ТДЛ + имплантат

FIG. 3.
Repeated re-reconstructions after failed primary reoperation in the group of combined thoracodorsal flap + implant reconstruction

после – 84 балла). Пациентки, которым была выполнена реконструкция TRAM-лоскутом (*n* = 5; 25 %), отмечают незначительный дискомфорт, затруднение при выполнении бытовой физической нагрузки в течение 6 месяцев после проведённого хирургического лечения (до операции – 46 баллов по Рашу, после – 49 баллов) (рис. 6).

Общая высокая удовлетворённость также отмечается в группе реконструкции ТДЛ + эндопротез. Ни одна из опрошенных пациенток не отметила дискомфорта, ограничения либо невозможности выполнения повседневной физической нагрузки (73 балла по Рашу). Однако в течение 6 месяцев после операции у 12 (60 %) пациенток отмечалось незначительное снижение физических показателей как со стороны забора лоскута, так и со стороны реконструированной МЖ. Отмечается общая удовлетворённость послеоперационным состоянием донорской зоны у всех пациенток (до операции – 78 баллов по Рашу, после – 80 баллов) (рис. 7).

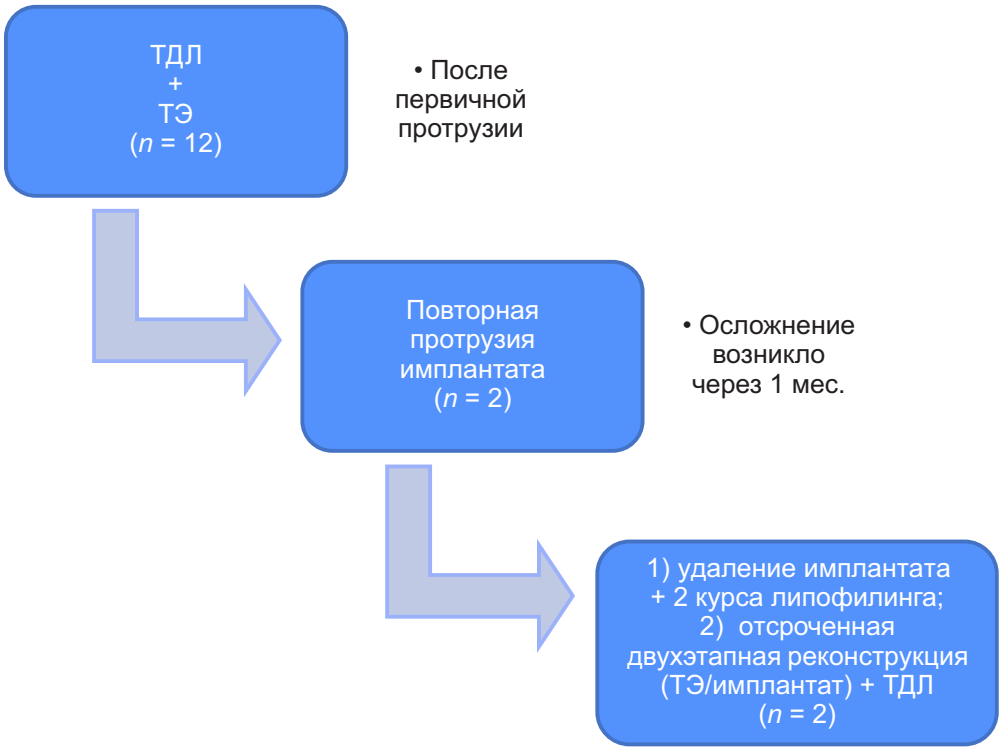


РИС. 4.
Повторные реконструкции после неудач первичной повторной операции в группе реконструкции ТДЛ + тканевой экспандер

FIG. 4.
Repeated re-reconstructions after failed primary reoperation in the group of combined thoracodorsal flap + tissue expander reconstruction

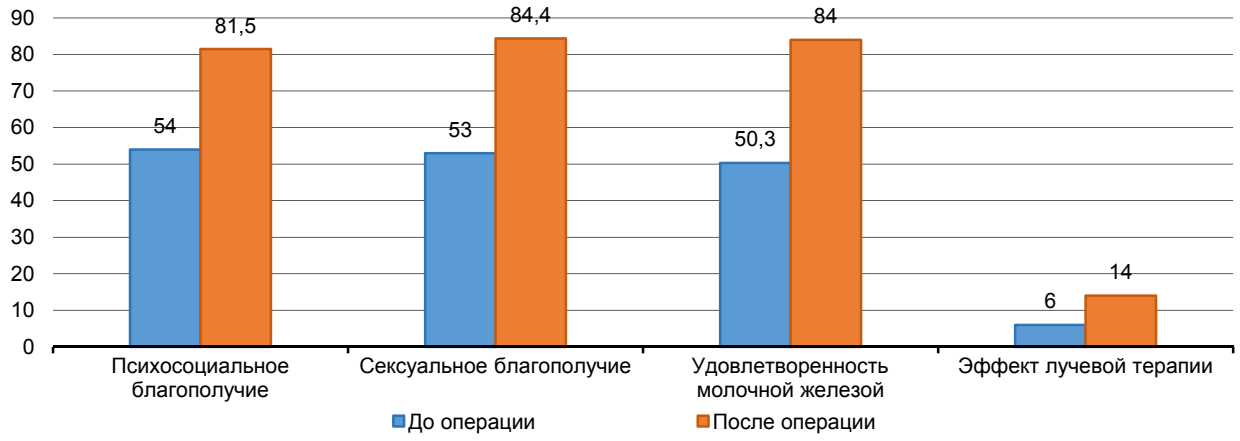


РИС. 5.
Средние значения после повторной реконструкции эндопротезами по данным опросника BREAST-Q

FIG. 5.
Mean values after repeated reconstruction with implants according to the BREAST-Q questionnaire

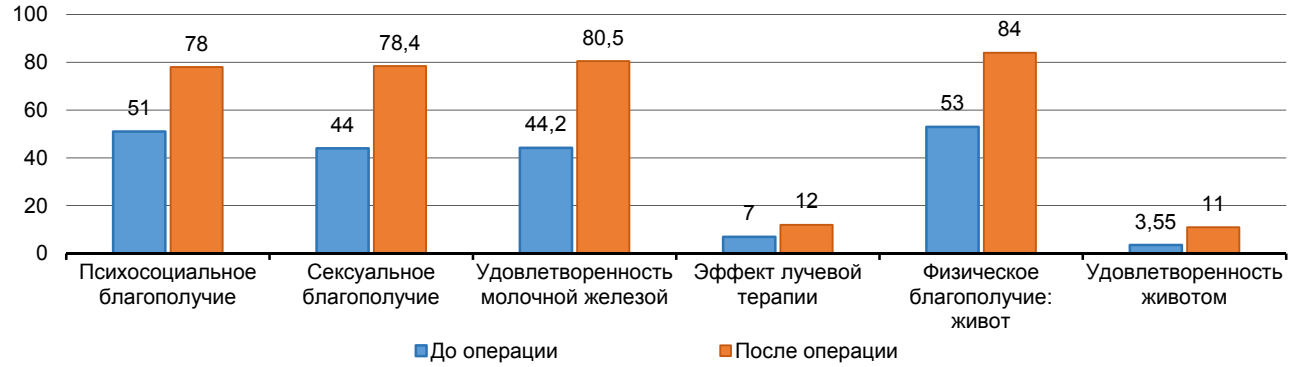


РИС. 6.
Средние значения после повторной реконструкции лоскутами DIEP и TRAM по данным опросника BREAST-Q

FIG. 6.
Mean values after repeated reconstruction with DIEP and TRAM flaps according to the BREAST-Q questionnaire

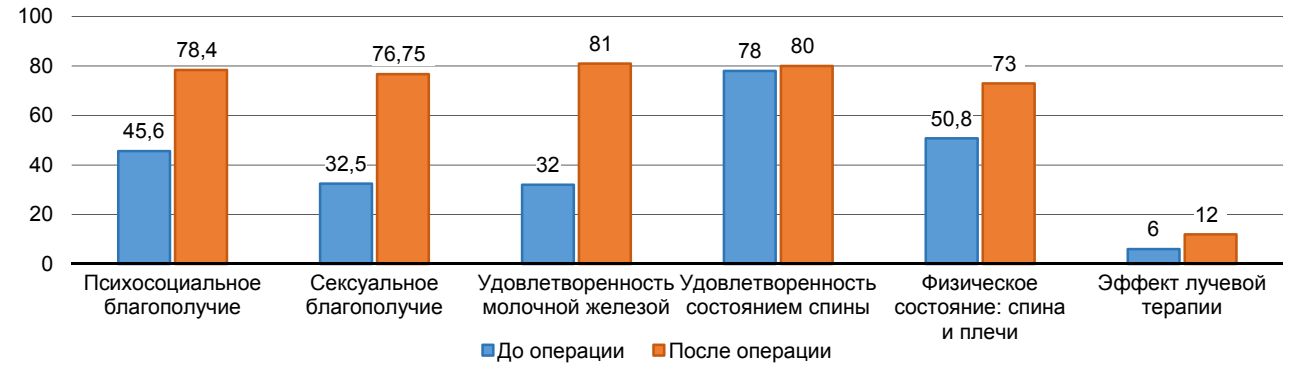


РИС. 7.
Средние значения после повторной реконструкции ТДЛ в комбинации с эндопротезом по данным опросника BREAST-Q

FIG. 7.
Mean values after repeated reconstruction with thoracodorsal flap in combination with implant according to the BREAST-Q questionnaire

ОБСУЖДЕНИЕ

По мере увеличения числа реконструкций с использованием алломатериалов предсказуемо растёт количество повторных операций, выполненных тем или иным способом. M. de Kerckhove и соавт. оценили безопасность третичной реконструкции аутологичными лоскутами после неудач первичной операции с использованием имплантатов. В исследование были включены 23 пациентки (24 молочные железы). Распределение было следующим: выбор операции по инициативе пациентки – 16 пациенток; наличие РМЖ с контралатеральной стороны – 5 пациенток; поздно начавшееся инфекционное осложнение – 2 пациентки. Медиана наблюдения от установки силиконового имплантата до третичной реконструкции лоскутами у пациенток с метахронным раком была значительно короче (47 месяцев), чем у пациенток, перенёсших плановое хирургическое вмешательство (92 месяца). Осложнения включали частичную потерю лоскута ($n = 1$), серому ($n = 6$), гематому ($n = 5$) и инфицирование ($n = 1$). Оценка общей удовлетворённости пациенток была значительно выше для аутологичной реконструкции лоскутами по сравнению с использованием силиконовых имплантатов [8].

Несмотря на достойные результаты каждого из методов реконструкции молочной железы, возникает логичный вопрос: при какой методике реконструкции качество жизни пациента остаётся на высоком уровне? В исследовании P. Persichetti и соавт. участвовали 325 пациенток, которым была проведена одно- или двусторонняя реконструкция МЖ с использованием имплантатов или аутологичной ткани (133 (41 %) – DIEP-лоскут, 192 (59 %) – РИ). Результаты основных шкал BREAST-Q были обобщены: по шкалам удовлетворённости МЖ, психосоциального благополучия, удовлетворённости результатом, сексуального благополучия показатели группы АР всегда были выше.

В данном исследовании было отмечено, что аутологичная реконструкция считается методикой, которая приводит к наибольшей удовлетворённости по всем показателям BREAST-Q [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди всех наблюдаемых пациенток только у 12 (17 %) была выполнена третичная реконструкция. В группе реконструкции аутологичными тканями лишь одной пациентке потребовалось хирургическое вмешательство, которое было направлено на улучшение симметрии с контрлатеральной МЖ. Данные нашего исследования сопоставимы с мировыми резуль-

татами как по подходу выбора повторной реконструкции, так и по показателю общей удовлетворённости пациенток. Реконструкция МЖ эндопротезами показала свою эффективность как вариант третичной реконструкции, о чём свидетельствуют данные анкетирования и длительный послеоперационный период без осложнений. По данным опросника BREAST-Q, у пациенток, которым была выполнена третичная реконструкция алломатериалами, воздержались от выполнения аутотрансплантации лоскутами по причине длительности оперативного вмешательства, восстановительного периода и интра-/послеоперационных осложнений. Стоит отметить, что аутологичная реконструкция показала свою эффективность над использованием алломатериалов как методика третичной реконструкции МЖ. В данной группе не было отмечено возникновения повторных осложнений. Долгосрочные результаты, полученные после опроса пациенток (BREAST-Q), указывают на значительные удовлетворённость реконструированной молочной железой, психосоциальное и сексуальное благополучие как в раннем, так и в позднем послеоперационном этапе по сравнению с другими видами реконструкции.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена без спонсорской поддержки

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ostapenko E, Nixdorf L, Devyatko Y, Exner R, Wimmer K, Fitzal F. Prepectoral versus subpectoral implant-based breast reconstruction: A systemic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2023; 30(1): 126-136. doi: 10.1245/s10434-022-12567-0

2. Hassan AM, Tran J, Asaad M, Slovacek C, Liu J, Butler CE. Outcomes of third-attempt breast reconstruction following infection-associated failure of secondary implant-based reconstruction. *Plast Reconstr Surg*. 2023; 151(3): 367e-375e. doi: 10.1097/PRS.0000000000009903

3. von Glinski M, Holler N, Kümmel S, Reinisch M, Wallner C, Wagner JM, et al. Autologous reconstruction after failed implant-based breast reconstruction: A comparative multifactorial outcome analysis. *Ann Plast Surg*. 2023; 91(1): 42-47. doi: 10.1097/SAP.0000000000003599

4. Broyles JM, Balk EM, Adam GP, Cao W, Bhuma MR, Mehta S, et al. Implant-based versus autologous reconstruction after mastectomy for breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2022; 10(3): e4180. doi: 10.1097/GOX.0000000000004180

5. Shauly O, Olson B, Marxen T, Menon A, Losken A, Patel KM, et al. Direct-to-implant versus autologous tissue transfer: A meta-analysis of patient-reported outcomes after immediate breast reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2023; 84: 93-106. doi: 10.1016/j.bjps.2023.05.029

6. Stefura T, Rusinek J, Wątor J, Zagórski A, Zając M, Libondi G, et al. A systematic review and meta-analysis of the studies comparing surgical approaches in 55,455 patients. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2023; 77: 346-358. doi: 10.1016/j.bjps.2022.11.044

7. von Glinski M, Holler N, Kümmel S, Reinisch M, Wallner C, Wagner JM, et al. Autologous vs. implant-based breast reconstruction after skin- and nipple-sparing mastectomy – A deeper insight considering surgical and patient-reported outcomes. *Front Surg*. 2022; 9: 903734. doi: 10.3389/fsurg.2022.903734

8. de Kerckhove M, Matsunaga N, Tomita S, Fujii M, Terao Y. Tertiary autologous breast reconstruction after implant-based reconstruction: Safety and patient-related outcomes. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2023; 79: 47-54. doi: 10.1016/j.bjps.2023.01.016

9. Persichetti P, Barone M, Salzillo R, Cogliandro A, Brunetti B, Ciarrocchi S, et al. Impact on patient's appearance perception of autologous and implant based breast reconstruction following mastectomy using BREAST-Q. *Aesthetic Plast Surg*. 2022; 46(3): 1153-1163. doi: 10.1007/s00266-022-02776-z

Сведения об авторах

Сипки Вячеслав Нодарович – аспирант отделения онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, e-mail: sipki1994@mail.ru, https://orcid.org/0009-0007-6233-5024

Власова Мария Юрьевна – кандидат медицинских наук, врач-хирург, онколог общеклинического отделения, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, e-mail: vlasova_maria2092@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7502-2288

Мошурова Марианна Валентиновна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, e-mail: mariannastarkova@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-4141-8414

Занозина Екатерина Алексеевна – аспирант отделения онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, e-mail: zanozinaekaterina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-2050-142X

Зикиряходжаев Азиз Дильшодович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи, Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; доцент кафедры онкологии, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»; профессор кафедры онкологии, радиотерапии и реконструктивной хирургии, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: azizz@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7141-2502

Information about the authors

Vyacheslav N. Sipki – Postgraduate at the Department of Breast and Skin Oncology and Reconstructive Plastic Surgery, P. Herzen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: sipki1994@mail.ru, https://orcid.org/0009-0007-6233-5024

Maria Yu. Vlasova – Cand. Sc. (Med.), Surgeon, Oncologist at the General Clinical Department, P. Herzen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: vlasova_maria2092@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7502-2288

Marianna V. Moshurova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Department of Breast and Skin Oncology and Reconstructive Plastic Surgery, P. Herzen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: mariannastarkova@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-4141-8414

Ekaterina A. Zanozina – Postgraduate at the Department of Breast and Skin Oncology and Reconstructive Plastic Surgery, P. Herzen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: zanozinaekaterina@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-2050-142X

Aziz D. Zikiryakhodzhaev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Breast and Skin Oncology and Reconstructive Plastic Surgery, P. Herzen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation; Associate Professor at the Department of Oncology, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba; Professor at the Department of Oncology, Radiotherapy and Reconstructive Surgery, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: azizz@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7141-2502

Вклад авторов

Сипки В.Н. – сбор, анализ и интерпретация данных; написание текста статьи.

Власова М.Ю. – научное редактирование статьи.

Мошурова М.В. – обзор публикаций по теме статьи; критический пересмотр текста статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Занозина Е.А. – обзор публикаций по теме статьи; критический пересмотр текста статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Зикиряходжаев А.Д. – разработка концепции и дизайна исследования; научное редактирование статьи.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ
OPHTHALMOLOGY

БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОДЕЛИ КЕРАТОКОНУСА – КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ РОГОВИЧНЫХ ФИБРОЦИТОВ, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ДЕПЛЕТИРОВАНИЯ ПО ЦИНКУ

Суббот А.М. [1],
Ефремов Ю.М. [2],
Тимашев П.С. [2],
Новиков И.А. [1],
Патеюк Л.С. [1],
Кобзева А.В. [1],
Аветисов С.Э. [1, 2]

[1] ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова» (119021, г. Москва, ул. Россолимо, 11а, Россия)
[2] ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119991, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Патеюк Людмила Сергеевна,
e-mail: sweethailtoyou@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Изучение этиопатогенеза такого заболевания роговицы, как кератоконус, существенно затруднено в связи с невозможностью исследования лежащих в его основе ультраструктурных и молекулярных изменений роговицы на пациентах in vivo и на животных моделях.*
Цель исследования*. Оценка влияния деплетирования среды ионами цинка на структуру и биомеханические свойства стромы роговицы in vitro на примере клеточной модели роговичных фиброцитов.*
Материал и методы. *В процессе настоящего экспериментального исследования были использованы клеточные модели стромы роговицы в «норме» и при кератоконусе – трёхмерные тканеинженерные конструкции на основе роговичных фибробластов, полученных из кератоцитов здоровых доноров, выращенных на стандартной и обеднённой ионами цинка питательных средах соответственно. Оценку биомеханических свойств тканеинженерных конструкций, моделирующих «здоровую» и «кератоконусную» строму роговицы, производили методом наноиндентирования при помощи атомно-силового микроскопа. Дополнительно проводили гистологическую оценку полученных клеточных пластов и иммуногистохимический анализ коллагена I типа.*
Результаты. *По итогам исследования пяти образцов каждой из моделей стромы роговицы было установлено статистически значимое различие биомеханических свойств: эффективный модуль Юнга «здоровой» и «кератоконусной» моделей составил 9,9 [5,4; 15.6] и 10,3 [6,1; 14,8] кПа соответственно. Толщина пластов в «здоровой» группе составила 17,67 ± 1,32 и 18,10 ± 1,22 мкм на сроке 2 и 4 недели культивирования соответственно; в «кератоконусной» группе на деплетированной по цинку среде толщина пластов составила 21,25 ± 8,39 и 25,55 ± 5,67 мкм на тех же сроках культивирования соответственно. В структуре последних превалирует экстраклеточный компонент с избыточной коллагеновой фракцией.*
Заключение. *Полученные по итогам экспериментальной работы данные подтверждают современную концепцию этиопатогенеза кератоконуса, согласно которой нарушения биомеханической функции роговицы при этом заболевании являются следствием минерального дисметаболизма ионов меди, железа и цинка в её соединительнотканной строме.*

Ключевые слова: *кератоконус, этиопатогенез, клеточные модели, цинк, халькофильные элементы, биомеханика*

Для цитирования: Суббот А.М., Ефремов Ю.М., Тимашев П.С., Новиков И.А., Патеюк Л.С., Кобзева А.В., Аветисов С.Э. Биомеханические свойства модели кератоконуса – клеточной культуры роговичных фиброцитов, выращенных в условиях деплетирования по цинку. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 179-188. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.19

Статья поступила: 27.06.2024
Статья принята: 24.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

BIOMECHANICAL PROPERTIES OF KERATOCONUS MODEL – CORNEAL FIBROCYTES CELL CULTURE IN ZINC DEPLETED GROWTH MEDIUM

Subbot A.M. [1],
Efremov Yu.M. [2],
Timashev P.S. [2],
Novikov I.A. [1],
Pateyuk L.S. [1],
Kobzeva A.V. [1],
Avetisov S.E. [1, 2]

[1] M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases (Rossolimo str. 11A, Moscow 119021, Russian Federation)
[2] I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Bolshaya Pirogovskaya str. 2, build. 4, Moscow 119991 Russian Federation)

Corresponding author:
Lyudmila S. Pateyuk,
e-mail: sweethailtoyou@mail.ru

Received: 27.06.2024
Accepted: 24.01.2025
Published: 13.03.2025

ABSTRACT

Background. *Etiology and pathogenesis research of such a corneal disease as keratoconus is rather difficult due to the impossibility to study the underlying ultrastructural and molecular cornea changes in vivo and in animal models.*
The aim. *To evaluate zinc relevance in the biomechanical properties of the corneal stroma – by means of in vitro keratoconus cell model.*
Materials and methods. *In this experimental study, normal and keratoconic cell models of the corneal stroma were exampled – three-dimensional tissue-engineered structures of corneal fibrocytes obtained from healthy donors keratocytes and grown on standard and zinc-depleted nutrient media, respectively. The biomechanical properties of tissue-engineered structures modeling the normal and keratoconic corneal stroma were evaluated by means of the atomic force microscope nanoindentation. Additionally, histological assessment of the obtained cell models and immunohistochemical analysis of type I collagen were performed.*
Results. *According to the study of five samples of each of the corneal stroma models, a statistically significant difference in viscoplastic biomechanical properties was shown: the effective Young's modulus of the normal and keratoconic models was 9.9 [5.4; 15.6] and 10.3 [6.1; 14.8] kPa, respectively. The in "healthy" group cell cultures thickness was 17.67 ± 1.32 and 18.10 ± 1.22 microns for two and four weeks of cultivation, respectively; in the "keratoconus" group, in a zinc depleted medium, the cell cultures thickness was 21.25 ± 8.39 and 25.55 ± 5.67 microns at the same time of cultivation, respectively. The extracellular component with an excess collagen fraction prevails in the structure of the latter.*
Conclusion. *The data obtained confirms the modern keratoconus etiology and pathogenesis concept – the biomechanical function deterioration of the keratoconic cornea is a consequence of copper, iron and zinc mineral dysmetabolism in its stroma.*

Key words: *keratoconus, etiology, pathogenesis, cell models, zinc, chalcophilic elements, biomechanics*

For citation: Subbot A.M., Efremov Yu.M., Timashev P.S., Novikov I.A., Pateyuk L.S., Kobzeva A.V., Avetisov S.E. Biomechanical properties of keratoconus model – corneal fibrocytes cell culture in zinc depleted growth medium. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 179-188. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.19

ОБОСНОВАНИЕ

Кератоконус (КК) – двустороннее невоспалительное заболевание роговицы дегенеративно-дистрофического характера. Клинически КК проявляется конусовидной деформацией роговицы с её выпячиванием и истончением, что симптоматически сопровождается прогрессирующим иррегулярным астигматизмом с неуклонным снижением зрения у лиц молодого трудоспособного возраста вплоть до профессиональной нетрудоспособности и инвалидизации по зрению.

Этиология и патогенез КК остаются до конца не установленными, несмотря на многочисленные исследования, проведённые с целью изучения природы его возникновения и механизмов развития. В отношении патогенеза КК достоверно известно, что в процессе развития этой кератэктазии имеет место прогрессирующее нарушение биомеханической прочности роговицы: её строма теряет свою опорную функцию, что было подтверждено как клинически, так и экспериментально. Причиной нарушения прочностных характеристик роговицы при КК можно считать прогредиентные деструктивные изменения в её строме, нарастающие по мере прогрессирования кератэктазии: снижение числа коллагеновых пластин, нарушение ориентации коллагеновых волокон, дезорганизация волокнистых структур, снижение числа внутри- и межмолекулярных связей коллагена, изменение объёма и состава межклеточного вещества [1–4].

Среди современных теорий развития КК есть представление о том, что причиной дегенеративно-дистрофических изменений в роговице является минеральный дисметаболизм с обеднением её тканей химическими элементами халькофильной группы – медью, железом и цинком. Отсутствие ионов халькофильных металлов в роговице приводит к аномальной активности металлозависимых энзимов, в норме обеспечивающих метаболизм соединительнотканных структур её стромы. Известно, что ионы цинка являются кофакторами матриксных металлопротеиназ, в том числе коллагеназ, и супероксиддисмутаз. В отсутствие ионов цинка в тканях происходит нарушение процессов распада коллагена, приводящее к фиброзным изменениям, и нарушение антиоксидантной защиты, приводящее к оксидативному стрессу. Ферментативная недостаточность в тканях роговицы имеет своим следствием каскад деструктивных изменений, результатом которых и является биомеханическая несостоятельность роговицы [5].

Изучение патогенетических механизмов развития КК осложняет тот факт, что воспроизведение его на животных моделях невозможно, а исследования *in vivo* ограничены. В связи с этим особую актуальность в последнее время приобретают клеточные модели тканей роговицы. На таких *in vitro* моделях в 2D- и 3D-формате исследуются в основном молекулярно-генетические аспекты, связанные с КК.

Нашей исследовательской группой также была предложена клеточная модель для изучения патогенеза КК с прицелом в первую очередь на возможность оценки биомеханических свойств полученной конструкции [6].

Одним из мощных инструментов для прецизионной оценки механических характеристик микрообъектов является атомно-силовая микроскопия, которая в последнее время всё больше и чаще используется для изучения различных биологических объектов, в том числе тканей и клеток. Коммерческие системы в настоящее время специально адаптированы для работы с нативным биологическим материалом в физиологически адекватных условиях (жидкая среда, оптимальная температура).

Принцип методики заключается в количественной оценке деформации исследуемого образца в каждой точке его поверхности (микрокартирование). В каждой анализируемой точке исследуемого образца производится регистрация силовой кривой (кривая зависимости силы взаимодействия между зондом и образцом), позволяющей оценивать механические свойства материала. Режим микрокартирования даёт возможность получать карты распределения перечисленных выше показателей с высоким пространственным разрешением [7]. Широко используемым количественным индикатором биомеханических свойств тканей и клеток в этом случае является модуль Юнга или модуль упругости (*E*, Па) – физическая величина, характеризующая сопротивляемость материала упругой (остаточной) деформации (растяжению или сжатию). По сути, чем меньше модуль Юнга, тем большую деформацию (без потери внутренней структуры) способен претерпевать материал при внешних нагрузках. Однако, помимо модуля Юнга, на сопротивление деформации также влияют геометрия, плотность и внутренняя структура материала (ориентированность, связанность, внутренние напряжения). Больший модуль Юнга может соответствовать меньшей пластичности образца, то есть его большей хрупкости, однако данные параметры не всегда коррелируют. При изучении биологических объектов (для которых характерна неоднородная структура) модуль Юнга наделяют определением «кажущийся», или «эффективный» [7].

Предложенная клеточная модель и разработанный способ селективной элиминации халькофильных элементов делают возможным оценку влияния изъятия из клеточного окружения цинка на биомеханические свойства клеточной конструкции, моделирующей строму роговицы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка влияния деплетирования среды ионами цинка на структуру и биомеханические свойства стромы роговицы *in vitro* на примере клеточной модели роговичных фибробластов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения зависимости биомеханических свойств роговицы от элементного микроокружения

были использованы культуры роговичных фибробластов, выращенные в виде тканеподобных структур – трёхмерные 3D-модели стромы роговицы.

Клеточные культуры получали путём проращивания кератоцитов из эксплантов роговицы – фрагментов периферической части кадаверных роговичных дисков, не востребованных при проведении кератопластики и подлежащих утилизации (исследование проводили в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013)). Клетки третьего пассажа засевали в концентрации 300 тыс./см^2 на поверхность культурального пластика чашки Петри диаметром 35 мм (SPL, Корея). Клетки культивировали в течение месяца при температуре 37,0 °C во влажной атмосфере с 5,0%-м содержанием CO_2 в среде DMEM High Glucose (Gibco, США), в которую были добавлены: глютамин (Gibco, США) до 2 мМ, фетальная бычья сыворотка FBS (Sigma, США) до 10 % и аскорбиновая кислота (Sigma, США) до 50 мкг/мл; смену среды осуществляли каждые 2–3 дня.

При этом для получения клеточной модели «здоровой» стромы роговицы в ростовую среду добавляли стандартную фетальную бычью сыворотку. Для получения клеточной модели «кератоконусной» роговицы в ростовую среду добавляли обеднённую цинком сыворотку (сыворотка, прошедшая предварительную обработку катионообменной смолой с целью деплетирования среды ионами цинка до концентрации последнего не более 13 мкг/л; заверку концентрации химических элементов в полученной сыворотке производили методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой по ранее описанной нами методике) [6].

Оценку биомеханических свойств «кератоконусных» и «нормальных» клеточных моделей стромы роговицы производили на трёх исследуемых и трёх контрольных образцах соответственно при помощи атомно-силового микроскопа Bioscope Resolve (Bruker, США). Механические свойства клеточных пластов измеряли методом микрокартирования поверхности в режиме Fast Force Volume в жидкостной среде; в данном режиме в каждом пикселе карты (32 × 32 точки по карте 100 × 100 мкм) происходит индентирование образца зондом с последующим расчётом локального модуля Юнга. Сканирование осуществляли с применением кантилеверов «PFQNM-LC-A-CAL», имеющих калиброванную производителем константу жёсткости порядка 0,1 Н/м и радиус закругления 70 нм. Модуль Юнга вычисляли по модели Герца [8].

После оценки биомеханических свойств клеточный пласт однократно промывали раствором Версена и отделяли от дна путём тракции. Снятый пласт фиксировали в растворе глютарового альдегида и изготавливали полутонкие срезы. Окраску проводили метиленовым синим и фуксином. Полученные срезы фотофиксировали и измеряли толщину клеточного слоя на изображениях.

Для окрашивания на коллаген I типа клетки растили на пластиковых покровных стёклах диаметром 9 мм, фиксировали холодным метанолом в течение ночи при 4 °C. Окрашивание проводили антителами к коллагену I типа (Invitrogen, MA1-26771; Thermo Fisher Scientific, США) в разведении 1:1000. Вторичные антитела с меткой Alexa Fluor 594 (Invitrogen, A-11032; Thermo Fisher Scientific, США) использовали в разведении 1:500. Съёмку проводили на лабораторном микроскопе Leica DM2500 (Leica Microsystems CMS GmbH, Германия), фотосъёмку осуществляли камерой Leica DFC320 (Leica Microsystems CMS GmbH, Германия) в программе Leica Application Suite.

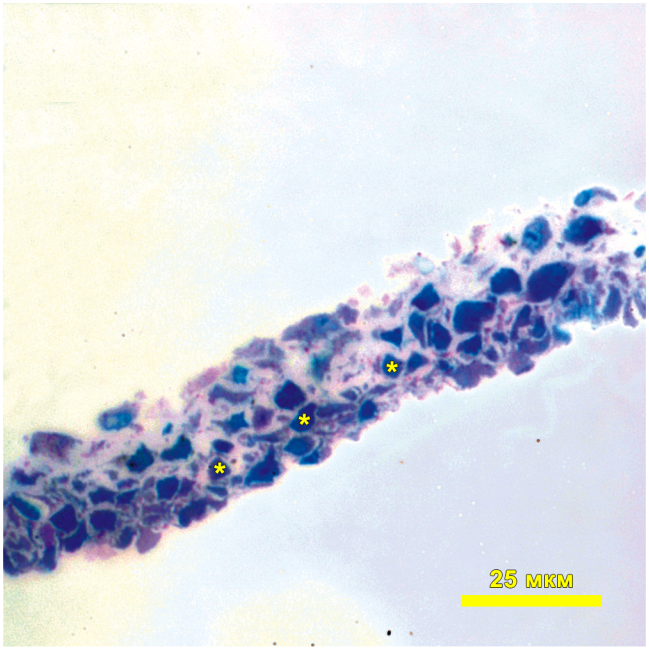
Статистическую обработку полученных данных проводили в программе GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., США). Проверку на нормальность осуществляли с помощью теста Колмогорова – Смирнова. Для сравнения групп использовали критерий Манна – Уитни. Уровень $p < 0,05$ принимали за статистически значимый. При нормальном распределении переменных в тексте приводятся средние значения и стандартные отклонения, при отличии от нормального – медианные и квартили.

РЕЗУЛЬТАТЫ

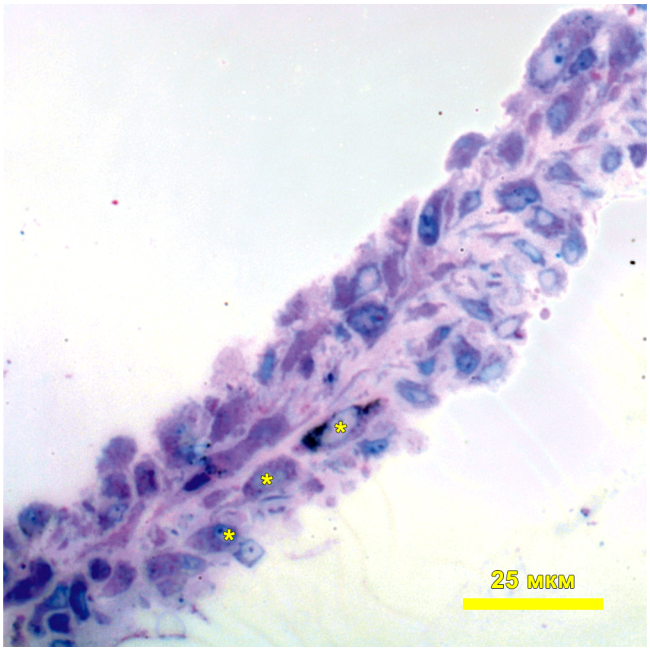
Длительное культивирование кератоцитов в высокой плотности позволяло формировать равномерные клеточные пласты, представленные несколькими слоями клеток. Тканеинженерные модели «нормальной» стромы роговицы были представлены клеточными пластами толщиной 17,67 ± 1,32 и 18,10 ± 1,22 мкм на сроке 2 и 4 недели культивирования соответственно; клеточные модели «кератоконусной» роговицы, полученные на деплетированной по цинку среде, отличались большей толщиной – 21,25 ± 8,39 и 25,55 ± 5,67 мкм на тех же сроках культивирования соответственно, более крупными клеточными ядрами и выраженной долей внеклеточной фракции. Можно отметить, что по сравнению с «нормой» (рис. 1а) в структуре пластов, выращенных на обеднённой по цинку среде, превалирует экстраклеточный компонент, а ядра клеток отличаются большими размерами (рис. 1б).

Этот факт подтверждается данными иммуноцитохимического окрашивания: по сравнению с контрольными образцами (рис. 2а) сигнал от коллагеновой фракции в «кератоконусных» образцах более значительный (рис. 2б).

В ходе экспериментальной работы путём биомеханического наноиндентирования поверхности изучаемых тканеинженерных конструкций с помощью атомно-силового микроскопа удалось определить значения эффективного модуля Юнга. Результаты серий биомеханических тестов (микрокартирования) статистически значимо отличались между клеточными 3D-моделями «здоровой» и «кератоконусной» роговиц. Распределение эффективного модуля Юнга представлено на рисунке 3. Модуль упругости Юнга клеточных пластов, моделирующих КК, был статистически значимо выше по сравнению с «нормой»: 9,9 [5,4; 15.6] и 10,3 [6,1; 14,8] кПа соответственно ($p = 0,0103$).



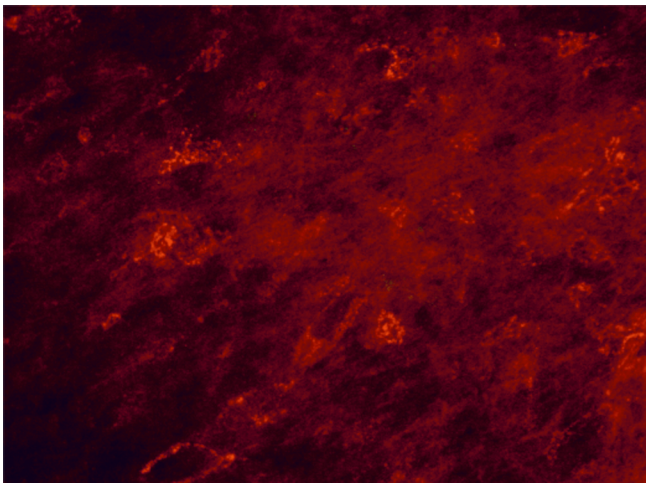
а



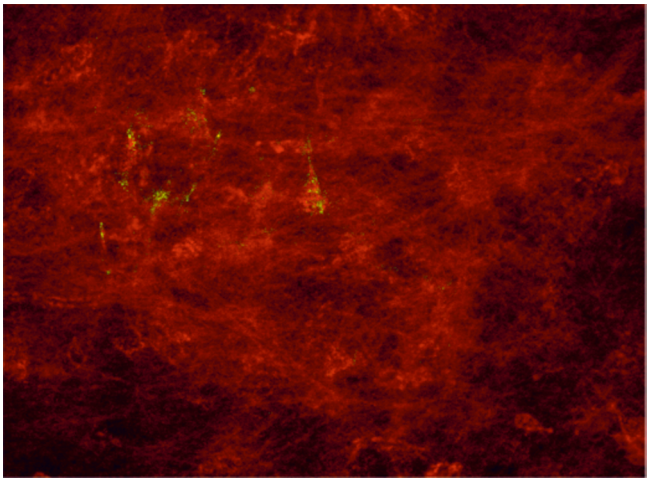
б

РИС. 1.
Срезы клеточных пластов роговичных фибробластов (световая микроскопия, окраска метиленовым синим и фуксином): ***а*** *– культура, выращенная в стандартной среде;* ***б*** *– культура, полученная на обеднённой цинком среде; * – ядра клеток*

FIG. 1.
Sections of corneal fibroblast cell layers (light microscopy, stained with methylene blue and fuchsin): ***a*** *– culture grown in standard medium;* ***б*** *– culture grown in zinc-depleted medium; * – cell nuclei*



а



б

РИС. 2.
Иммунофлуоресцентная картина клеточных культур роговичных фибробластов, полученная в результате окрашивания на коллаген I типа: ***а*** *– культура, выращенная в стандартной среде;* ***б*** *– культура, полученная на обеднённой цинком среде*

FIG. 2.
Immunofluorescence image of corneal fibroblast cell cultures obtained by staining for type I collagen: ***a*** *– culture grown in standard medium;* ***б*** *– culture grown in zinc-depleted medium*

Полученные данные свидетельствуют в пользу повышения жёсткости тканеинженерных конструкций, выращенных в условиях дефицита ионов цинка в питательной среде. Такое повышение жёсткости может быть связано с большей фракцией внеклеточного матрикса в такой конструкции, так как внеклеточный матрикс является более жёстким компонентом, чем клетки.

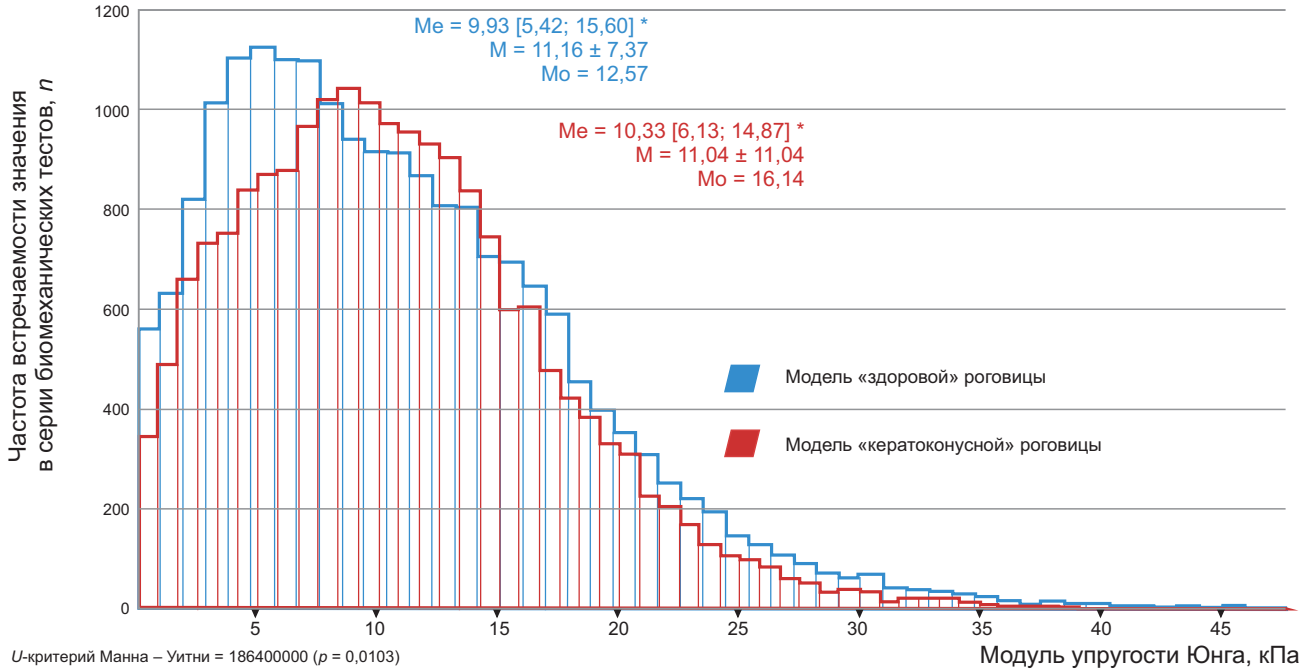


РИС. 3.

Диаграмма распределения частот встречаемости числовых значений модуля Юнга по результатам наноиндентирования методом атомно-силовой микроскопии тканеинженерных конструкций, моделирующих строму роговицы при кератоконусе и в «норме»

FIG. 3.

Frequency distribution diagram of the numerical values of Young's modulus based on the results of nanoindentation by atomic force microscopy of tissue engineered structures modeling the corneal stroma in keratoconus and in the normal conditions

ОБСУЖДЕНИЕ

Клеточные технологии приобретают всё большую распространённость в медицинской сфере. Используемые в настоящее время в научных и клинических целях клеточные модели тканей глаза, в том числе роговицы, очень многообразны и варьируют от простых однослойных культур (2D-модели) до сложных многослойных трёхмерных органотипических (в том числе состоящих из нескольких типов клеток) тканеинженерных конструкций (3D-модели). Клеточные модели роговицы могут быть как воспроизводимы исключительно в лабораторных условиях по оригинальным методикам, так и представлены коммерческими вариантами серийного производства в промышленных масштабах [9–12].

Несмотря на многочисленные исследования, посвящённые изучению природы КК, лежащие в основе развития этого заболевания пусковые и патогенетические механизмы всё ещё малоизучены. Особый научно-практический интерес представляют ультраструктурные и молекулярные изменения в тканях роговицы при начальных стадиях заболевания, прижизненная высокоточная оценка которых не представляется возможной, а попытки моделирования этого вида кератэктазии на животных оказались безрезультатными. С целью исследования патогенетических механизмов развития КК наиболее актуальным представляется изучение её стромы как наиболее значимой в плане каркасной функции структуры. К настоящему моменту предложено несколько оригинальных тканеспецифичных клеточных моделей, воспроизводящих в лабораторных условиях строму роговицы в «норме» и при КК. Эти клеточные модели были использованы для оценки морфологических свойств и молекулярно-генетических особенностей стромы роговицы при КК.

Серию *in vitro* экспериментов с клеточными культурами роговичных фибробластов провели R. Joseph и соавт. [13]. Разработчики ставили своей задачей оценить роль генетических и молекулярных факторов в патогенезе КК на примере 2D-моделей стромы роговицы. С этой целью исследователи в стандартных условиях культивировали роговичные фибробласты, полученные на основе кератоцитов, взятых от пациентов с КК и от условно здоровых доноров – получая *in vitro* модели «кератоконусной» и «здоровой» стромы роговицы соответственно.

Так, в 2012 г. исследователям удалось показать существенные различия в экспрессии β-актина и антигена человека R (HuR, human antigen R) между изучаемыми клеточными моделями. В культуре «кератоконусных» роговичных фибробластов выявлено нарушение (практически полное отсутствие) экспрессии *β*-актина и HuR по сравнению с моделью «здоровой» роговицы [13].

В 2016 г. эти же авторы предложили оригинальный способ моделирования «здоровой» стромы роговицы и стромы роговицы при КК *in vitro* с использованием клеточных культур роговичных фибробластов на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток

(iPSC, induced pluripotent stem cells), полученных вирусным методом из кератоцитов здоровых лиц и пациентов с КК соответственно [14].

Клоны iPSC, полученные от «кератоконусных» и «здоровых» роговиц, были изучены по уровню экспрессии ряда генов. Из 28 665 подлежавших анализу генов была выявлена более чем двукратная разница в уровне экспрессии 4300 генов и статистически значимое отличие в экспрессии 870 генов. По сравнению с «нормальными» iPSC-клонами в «кератоконусных» iPSC-клонах было выявлено многократное снижение экспрессии рецептора фактора роста фибробластов 2 (FGF-R2, fibroblast growth factor receptor 2), что соответствует ранее полученным этими же авторами результатам, согласно которым в строме роговичных дисков «кератоконусных» пациентов наблюдается значительное снижение экспрессии FGF-R2 по сравнению со «здоровой» роговицей [14].

Полученные исследователями недифференцированные iPSC-клоны культивировали в модифицирующих условиях с целью дифференцировки плюрипотентных клеток в роговичные фибробласты. Морфологическое исследование показало, что в «кератоконусной» культуре плотность клеточных элементов была существенно ниже по сравнению с «нормой». Анализ клеточных культур показал двукратное снижение экспрессии FGF-R2 в «кератоконусной» модели по сравнению с «нормой» [14].

В ходе этой серии экспериментальных работ по изучению патогенеза КК авторы не ставили своей задачей получение многослойной тканеподобной 3D-модели с целью изучения и оценки влияния внешних экологических и средовых факторов на развитие и течение заболевания, а использовали клеточные культуры исключительно для исследований молекулярно-генетического характера [13–15].

Другие исследователи перешли от плоскостных 2D-моделей к объёмным тканеподобным структурам.

Известен способ *in vitro* моделирования стромы роговицы при КК, предложенный D. Karamichos и соавт. в 2012 году. Исследователи оценивали клеточные культуры роговичных фибробластов, полученные в стандартных условиях на основе кератоцитов, взятых от пациентов с КК и условно здоровых доноров. Авторы культивировали роговичные фибробласты в виде тканеподобных 3D-структур и оценивали морфологические свойства полученных моделей, а также анализировали уровень экспрессии специфических компонентов внеклеточного матрикса клеточных культур. Авторы сравнивали свойства полученных моделей, отличающиеся между собой исключительно генотипическими характеристиками [16].

Благодаря такому подходу авторам модели удалось установить, что, в отличие от «нормальных» клеток, роговичные фибробласты при КК продуцируют коллаген III типа, секретируют гладкомышечный актин, дают менее выраженный ответ на стимуляцию трансформирующими факторами роста бета-1 и бета-3. Такая клеточная модель позволила оценить морфологические особенности «кератоконусной» стромы роговицы по сравнению с «нормой»: тканеподобные структуры, полученные на основе «кератоконусных» кератоцитов, отличались меньшей толщиной клеточного пласта (вплоть до 2D-монослоя вместо 3D-конструкции), а также характеризовались менее сложной (упрощённой) организацией фибриллярных компонентов и клеточных элементов в культуре (с большей анизотропией и меньшим углом ротации) [16].

Есть примеры, когда исследователи так же, как и мы, изменяли стандартные условия культивирования. Так, исследование J. Foster и соавт., проведённое в 2014 г., было направлено на изучение состояния сигнальных путей в культуре роговичных фибробластов, полученных из кератоцитов «кератоконусных» пациентов и условно здоровых лиц. Специфическими условиями культивирования роговичных фибробластов (нестандартная питательная среда без фетальной бычьей сыворотки при концентрации глюкозы 5,5 mM) авторы добивались в максимальной степени сохранения морфологического фенотипа кератоцитов. Также с целью управления интенсивностью метаболических процессов культуры растили в условиях стандартного (5,5 mM) или повышенного (25,0 mM) содержания глюкозы в питательной среде. В целом такое многоэтапное изучение молекулярных механизмов развития КК на примере клеточной модели этого заболевания позволило учёным прийти к выводам о том, что «кератоконусные» кератоциты хуже переносят «клеточный стресс» [17].

Вышеприведённые примеры клеточных моделей КК позволили *in vitro* изучить некоторые возможные патогенетические механизмы развития этого вида кератэктазии. Однако данные клеточные модели отличаются односторонним взглядом на природу возникновения и развития КК – они не принимают во внимание влияние ненаследственных факторов организма человека и окружающей среды. Вышеописанные модели не рассматривают другие (негенетические) возможные причины развития этого заболевания вопреки тому, что на сегодняшний день существует ряд теорий и гипотез о происхождении этого типа кератэктазии: экологическая, иммуноаллергическая, механическая, метаболическая (обменная), эндокринная (гормональная) и вирусная. Большинство же авторов склонны предполагать, что КК представляет собой полиэтиологичное заболевание и имеет как минимум мультифакториальную природу.

В отличие от вышеописанных клеточных моделей, при которых в одинаковых условиях культивировали клетки, полученные от здоровых доноров и от пациентов с КК, в ходе настоящего экспериментального исследования были взяты клетки только от здоровых доноров, а в задачи работы входило моделирование средовых условий. Принципиальное отличие предложенной нами клеточной модели КК заключается в том, что модификация ростовой среды в виде селективного элиминирования биологически значимого минерального элемента (цинка) позволила оценить его влияние не только на характер роста и морфологические характеристики культуры роговичных фибробластов, но и на конкрет-

ные биомеханические свойства тканеинженерной конструкции. Благодаря предложенному подходу впервые клеточные модели роговичных фибробластов были использованы для изучения зависимости биомеханических свойств стромы роговицы от элементного микроокружения и исследования этиопатогенеза КК в аспекте современной концепции его развития.

Полученные нами методом атомно-силовой микроскопии значения эффективного модуля Юнга клеточных пластов, моделирующих строму роговицы в норме и при кератоконусе, соотносятся с данными, опубликованными другими исследователями по результатам изучения биомеханических свойств различных типов нативных клеточных элементов и тканей. Так, к примеру, значения этого показателя для фиброцитов, по данным разных авторов, в зависимости от условий эксперимента варьируют от 0,6 ± 0,1 до 200 ± 180 кПа, а для здоровой ткани нативной роговичной стромы этот показатель измерен в диапазоне 24–39 кПа [7, 18].

Выявленные по результатам настоящего исследования статистически значимые отличия в жёсткости тканеинженерных конструкций, выращенных в стандартной и обеднённой цинком среде, говорят о существенной роли ионов этого минерального элемента в соединительнотканном метаболизме. Обращает на себя внимание кажущееся незначительным различие в числовых значениях модуля Юнга, что является достаточно типичным для биологических объектов наблюдением: параметры (константы) внутренней среды организма человека находятся в довольно жёстком диапазоне референсных значений нормы, даже незначительное изменение которых приводит к нарушению физиологических процессов и началу патологических процессов, достаточных для развития заболевания.

В условиях деплеции по цинку сформированные клеточные пласты продемонстрировали не только более высокие значения модуля Юнга, но и увеличенную толщину с превалированием экстраклеточной фракции. Казалось бы, парадоксальное увеличение толщины клеточных пластов, выращенных в условиях деплетирования по цинку, так же, как и увеличение объёма коллагенового компонента в них, на самом деле отражает патологическую дисрегуляцию обмена. Такое изменение архитектоники, хотя и не свойственно для кератоконусной роговицы, отражает состояние недостаточности катаболизирующих коллаген цинк-зависимых металлопротеиназ и «выключение» диссимилирующего плеча тканевого обмена. Следует иметь в виду, что в нативной патологически изменённой роговице при КК в центральной зоне отсутствуют не только ионы цинка, но также меди и железа, обуславливающих преимущественно анаболическую часть обмена в тканях. Но на этапе создания сложной модельной системы важно провести редукцию её компонентов и оценить вклад каждого из них в полученный результат. В представленном эксперименте нам удалось воспроизвести на клеточной модели одно из «звеньев» патологического процесса – изолированно оценить роль ионов цинка. Дальнейшая экспериментальная работа будет направлена на получение клеточных моделей в условиях обеднения по другим ключевым минеральным элементам. Кроме того, полученные нами данные представляют научный интерес и вне контекста этиопатогенеза КК, отражая реакцию клеточного пласта на элиминацию цинка из питательной среды.

Вкупе с результатами иммуногистохимического окрашивания, свидетельствующими о накоплении коллагена в обеднённых цинком образцах, можно предполагать, что влияние этого микроэлемента на биомеханические свойства стромы роговицы реализуется за счёт «выключения» в его отсутствие катаболизирующих коллаген цинк-зависимых металлопротеиназ, что согласуется с минеральной концепцией развития КК. Аналогичный дисметаболизм может иметь место в строме роговицы при КК, когда осаждение цинка, железа и меди в периферической зоне роговицы приводит к тотальному отсутствию ионов этих металлов в её центральной области и, соответственно, к недостаточности металлозависимых ферментов, отвечающих за катаболизм и анаболизм в соединительнотканных структурах.

Таким образом, по результатам настоящего экспериментального исследования было показано, что элиминация ионов цинка приводит к увеличению жёсткости тканеинженерной конструкции *in vitro*: изменение минерального окружения роговичных фиброцитов способно статистически значимо влиять на морфологические и биомеханические характеристики образованных ими клеточных пластов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные по итогам экспериментального исследования результаты соотносятся с «минеральной» концепцией этиопатогенеза КК, согласно которой обеднение роговицы ионами халькофильных металлов (цинком, железом и медью) приводит к нарушению функций металлозависимых ферментов, обеспечивающих в норме гомеостаз роговичной ткани.

При селективной элиминации цинка из ростовой среды происходит изменение морфологических и биомеханических свойств клеточных моделей на основе роговичных фибробластов, что подтверждает биологическое значение этого химического элемента в метаболизме и функционировании соединительнотканных структур, таких как строма роговицы.

Финансирование

Работы по измерению механических свойств клеточных пластов с помощью атомно-силового микроскопа выполнены при поддержке гранта Российского научного фонда (грант № 23-74-10113, https://rscf.ru/project/23-74-10113/).

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Аветисов С.Э., Новиков И.А., Патеюк Л.С. Кератоконус: этиологические факторы и сопутствующие проявления. *Вестник офтальмологии.* 2014; 130(4): 110-116. [Avetisov SE, Novikov IA, Pateiuk LS. Keratoconus: Etiological factors and accompanying manifestations. *Russian Annals of Ophthalmology.* 2014; 130(4): 110-116. (In Russ.)].

2. Панес М.А., Позняк С.Н. Кератоконус (обзор литературы). *Офтальмология. Восточная Европа*. 2014; 2(21): 54-64. [Panes MA, Pozniak SN. Keratoconus (a literature review). *Ophthalmology. Eastern Europe*. 2014; 2(21): 54-64. (In Russ.)].

3. Фабрикантов О.Л., Манаенкова Г.Е. Этиология, патогенез, клиника, классификация, лечение кератоконуса (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2017; 4(37): 64-71. [Fabrikantov OL, Manaenkova GY. Etiology, pathogenesis, clinical picture, classification, treatment of keratoconus (review). *Siberian Scientific Medical Journal*. 2017; 4(37): 64-71. (In Russ.)].

4. Терещенко А.В., Демьянченко С.К., Тимофеев М.А. Кератоконус (обзор). *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2020; 16(1): 293-297. [Tereshchenko AV, Demyanchenko SK, Timofeev MA. Keratoconus (review). *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2020; 16(1): 293-297. (In Russ.)].

5. Аветисов С.Э., Мамиконян В.Р., Новиков И.А., Патеюк Л.С., Осипян Г.А., Кирющенкова Н.П. Перераспределение минеральных элементов в роговице при кератоконусе. *Вестник офтальмологии*. 2015; 131(6): 34-42. [Avetisov SE, Mamikonyan VR, Novikov IA, Pateiuk LS, Osipian GA, Kiriushchenkova NP. Abnormal distribution of trace elements in keratoconic corneas. *Russian Annals of Ophthalmology.* 2015; 131(6): 34-42. (In Russ.)]. doi: 10.17116/oftalma2015131634-42

6. Суббот А.М., Новиков И.А., Патеюк Л.С., Кобзева А.В., Аветисов С.Э. Клеточная модель для экспериментального изучения патогенеза кератоконуса. *Гены и клетки*. 2023; 18(1): 69-77. [Subbot AM, Novikov IA, Patejuk LS, Kobzeva AV, Avetisov SJ. Cell model for experimental research in keratoconus pathogenesis. *Genes & Cells*. 2023; 18(1): 69-77. (In Russ.)]. doi: 10.23868/gc321383

7. Халисов М.М. *Применение атомно-силовой микроскопии для детектирования отклика нативных клеток на внешние воздействия*. СПб.; 2018. [Khalisov MM. *Application of atomic force microscopy for detection of response of native cells to external influences.* Saint Petersburg; 2018. (In Russ.)].

8. Efremov YuM, Shpichka AI, Kotova SL, Timashev PS. Viscoelastic mapping of cells based on fast force volume and PeakForce Tapping. *Soft Matter*. 2019; 15: 5455-5463. doi: 10.1039/C9SM00711C

9. Shiju TM, Carlos de Oliveira R, Wilson SE. 3D *in vitro* corneal models: A review of current technologies. *Exp Eye Res*. 2020; 200: 108213. doi: 10.1016/j.exer.2020.108213

10. Rönkkö S, Vellonen KS, Järvinen K, Toropainen E, Urtti A. Human corneal cell culture models for drug toxicity studies. *Drug Deliv Transl Res*. 2016; 6(6): 660-675. doi: 10.1007/s13346-016-0330-y

11. Reichl S. Cell culture models of the human cornea – A comparative evaluation of their usefulness to determine ocular drug absorption *in vitro*. *J Pharm Pharmacol*. 2008; 60(3): 299-307. doi: 10.1211/jpp.60.3.0004

12. García-Posadas L, Diebold Y. Three-dimensional human cell culture models to study the pathophysiology of the anterior eye. *Pharmaceutics*. 2020; 12(12): 1215. doi: 10.3390/pharmaceutics12121215

13. Joseph R, Srivastava OP, Pfister RR. Downregulation of β-actin gene and human antigen R in human keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53(7): 4032-4041. doi: 10.1167/iovs.11-9062

14. Joseph R, Srivastava OP, Pfister RR. Modeling keratoconus using induced pluripotent stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016; 57(8): 3685-3697. doi: 10.1167/iovs.16-19105

15. Joseph R, Srivastava OP, Pfister RR. Downregulation of β-actin and its regulatory gene HuR affect cell migration of human corneal fibroblasts. *Mol Vis*. 2014; 20: 593-605.

16. Karamichos D, Zareian R, Guo X, Hutcheon AEK, Ruberti JW, Zieske JD. Novel *in* vitro model for keratoconus disease. *J Funct Biomater*. 2012; 3(4): 760-775. doi: 10.3390/jfb3040760

17. Foster J, Wu WH, Scott SG, Bassi M, Mohan D, Daoud Y, et al. Transforming growth factor β and insulin signal changes in stromal fibroblasts of individual keratoconus patients. *PLoS One*. 2014; 9(9): e106556. doi: 10.1371/journal.pone.0106556

18. Last JA, Thomasy SM, Croasdale CR, Russell P, Murphy CJ. Compliance profile of the human cornea as measured by atomic force microscopy. *Micron*. 2012; 43(12): 1293-1298. doi: 10.1016/j.micron.2012.02.014

Сведения об авторах

Суббот Анастасия Михайловна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, и. о. заведующего лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова», e-mail: kletkagb@gmail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8258-6011

Ефремов Юрий Михайлович – кандидат биологических наук, заведующий отделом современных биоматериалов, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: efremov_yu_m@staff.sechenov.ru, https://orcid.org/0000-0001-7040-253X

Тимашев Пётр Сергеевич – доктор химических наук, научный руководитель научно-технологического парка биомедицины, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: timashev_p_s@staff.sechenov.ru, https://orcid.org/0000-0001-7773-2435

Новиков Иван Александрович – старший научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова», e-mail: ivan.a.novikov@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-4898-4662

Патеюк Людмила Сергеевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела патологии оптических сред глаза, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова»; e-mail: sweethailtoyou@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5757-6719

Кобзева Анна Васильевна – младший научный сотрудник отдела патологии оптических сред глаза, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова», e-mail: akobzdoc@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-0771-8934

Аветисов Сергей Эдуардович – доктор медицинских наук, научный директор, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова»; заведующий кафедрой глазных болезней, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), e-mail: s.avetisov@niigb.ru, https://orcid.org/0000-0001-7115-4275

Information about the authors

Anastasia M. Subbot – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Acting Head of the Laboratory of Fundamental Studies in Ophthalmology, M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases, e-mail: kletkagb@gmail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8258-6011

Yuri M. Efremov – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Department of Modern Biomaterials, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: efremov_yu_m@staff.sechenov.ru, https://orcid.org/0000-0001-7040-253X

Petr S. Timashev – Dr. Sc. (Chem.), Scientific Director of the Technology Park of Biomedicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: timashev_p_s@staff.sechenov.ru, https://orcid.org/0000-0001-7773-2435

Ivan A. Novikov – Senior Research Officer at the Laboratory of Fundamental Studies in Ophthalmology, M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases, e-mail: ivan.a.novikov@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-4898-4662

Liudmila S. Pateyuk – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Department of Ocular Media Pathology, M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases, e-mail: sweethailtoyou@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5757-6719

Anna V. Kobzeva – Junior Research Officer at the Department of Ocular Media Pathology, M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases, e-mail: akobzdoc@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-0771-8934

Sergey E. Avetisov – Dr. Sc. (Med.), Scientific Director, M.M. Krasnov Research Institute of Eye Diseases,; Head of the Department of Eye Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), e-mail: s.avetisov@niigb.ru, https://orcid.org/0000-0001-7115-4275

Вклад авторов

Суббот А.М. – дизайн исследования; сбор экспериментального материала; обзор литературы; сбор и анализ литературных источников; подготовка и написание текста статьи.

Ефремов Ю.М. – дизайн исследования; сбор экспериментального материала.

Тимашев П.С. – дизайн исследования; сбор экспериментального материала.

Новиков И.А. – дизайн исследования; сбор экспериментального материала.

Патеюк Л.С. – обзор литературы; сбор и анализ литературных источников; подготовка и написание текста статьи.

Кобзева А.В. – сбор экспериментального материала; обзор литературы; сбор и анализ литературных источников; подготовка и написание текста статьи.

Аветисов С.Э. – дизайн исследования; написание текста и редактирование статьи.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ЭЗОТРОПИИ С ДИПЛОПИЕЙ У МОЛОДЫХ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ СМАРТ-УСТРОЙСТВ

Бачалдина Л.Н.,
Короленко А.В.

Иркутский филиал ФГАУ
«НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза»
имени академика С.Н. Фёдорова»
Минздрава России (664033, г. Иркутск,
ул. Лермонтова, 337, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Бачалдина Лариса Николаевна,
e-mail: larinikba@list.ru

РЕЗЮМЕ

В связи с широким использованием смарт-мобильных устройств существенно выросло количество пациентов с признаками дезадаптации бинокулярной зрительной системы, развитием эзотропии с диплопией.

Цель работы. *Оценить состояние бинокулярной зрительной системы у пациентов с эзотропией и диплопией, разработать алгоритм лечения.*

Материалы и методы. *Основная группа состояла из 20 пациентов в возрасте от 15 до 36 лет (Me 24,5 [15,3; 30,3] года) с жалобами на постоянную диплопию. Время использования смарт-устройств у всех пациентов составляло более 6 ч в сутки (Me 7,8 [4,3; 11,3] ч). Рефракция у всех пациентов была миопической, а корригированная острота обоих глаз составляла 1,0. Угол косоглазия по Гиршбергу варьировал от +5 до +15° (Me 10 [5,5; 10]°). Группа контроля включала 15 пациентов в возрасте от 15 до 36 лет (Me 23,4 [16,3; 30,5] года) с миопией средней степени без глазодвигательных нарушений. У всех пациентов дополнительно оценивали толщину экстраокулярных мышц по данным ультразвукового исследования. Алгоритм лечения пациентов с эзотропией включал, проведение ортопто-диплоптического лечения, а при неэффективности мер проводилось хирургическое лечение.*

Результаты. *Выявлено, что внутренняя прямая мышца у пациентов с эзотропией имеет в среднем статистически значимо большую толщину, чем у пациентов контрольной группы (p = 0,02), а толщина наружной прямой мышцы в среднем сопоставима (p = 0,33). Положительный результат после первого этапа лечения был получен у 2 пациентов, у остальных 18 пациентов в качестве второго этапа лечения была проведена теносклеропластика внутренней прямой мышцы. В результате у всех пациентов зарегистрированы ортотропия и бинокулярный характер зрения.*

Заключение. *У пациентов с миопией и ослабленной аккомодацией на фоне длительного зрительного напряжения вблизи возможно формирование стойких нарушений бинокулярных функций, что требует применения особого алгоритма диагностических и лечебных мероприятий.*

Ключевые слова: *эзотропия, диплопия, слабость аккомодации, астенопия, миопия, слабость дивергенции, смарт-устройства*

Статья поступила: 21.12.2023
Статья принята: 04.03.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Бачалдина Л.Н., Короленко А.В. Диагностика и лечение эзотропии с диплопией у молодых пользователей смарт-устройств. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 189-195. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.20

DIAGNOSIS AND TREATMENT OF ESOTROPIA WITH DIPLOPIA IN YOUNG USERS OF SMART DEVICES

Bachaldina L.N.,
Korolenko A.V.

Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Lermontova str. 337, Irkutsk 664033, Russian Federation)

Corresponding author:
Larisa N. Bachaldina,
e-mail: larinikba@list.ru

ABSTRACT

Currently, due to the popularity of smart mobile devices, the frequency of calls from patients with signs of maladaptation of the binocular visual system has increased significantly.

The aim of the study. *To assess the state of the binocular visual system in patients with esotropia and diplopia, as well as to search for effective methods of treating this pathology.*

Material and methods. *There were 20 patients aged 15 to 36 years (Me 24.5 [15.3; 30.3]) with complaints of permanent diplopia. The use time of smart devices in all patients was more than 6 hours per day (Me 7.8 [4.3; 11.3] hours). Refraction in all patients was myopic, and the corrected acuity of both eyes was 1.0. The angle of strabismus according to Hirschberg varied from +5 to +15° (Me 10 [5.5; 10]°). As a control group, 15 patients aged 15 to 36 (Me 23.4 [16.3; 30.5]) years with moderate myopia without oculomotor disorders were examined. Along with the standard ophthalmological examination, the thickness of the extraocular muscles was additionally assessed in all patients according to ultrasound data. The algorithm for treating patients with esotropia included orthopto-diploptic treatment. If the measures were ineffective, surgical treatment was performed at the second stage.*

Results. *Comparing the thickness of the oculomotor muscles found that the internal rectus muscle in patients with esotropia has, on average, a significantly greater thickness than in patients in the control group ($p = 0.02$), and the thickness of the external rectus muscle is comparable on average ($p = 0.33$). A positive result after the first stage of treatment was obtained in 2 patients, in the remaining 18 patients, tenoscleroplasty of the internal rectus muscle with partial median myotomy was performed as the second stage of treatment. As a result of the treatment, all patients achieved binocular vision and stereo vision.*

Conclusion. *The presented data demonstrate the possibility of the formation of persistent violations of binocular functions in patients with myopia and impaired accommodation against the background of prolonged visual tension, which requires the use of a special algorithm of diagnostic and therapeutic measures.*

Key words: *esotropia, diplopia, weakness of accommodation, asthenopia, myopia, weakness of divergence, smart devices*

Received: 21.12.2023
Accepted: 04.03.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Bachaldina L.N., Korolenko A.V. Diagnosis and treatment of esotropia with diplopia in young users of smart devices. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 189-195. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.20

В настоящее время в связи с широким использованием смарт-мобильных устройств существенно выросла частота обращений пациентов с признаками дезадаптации бинокулярной зрительной системы [1–3]. Самым серьёзным симптомом дезадаптации является приобретённая эзотропия с диплопией, которая может входить в комплекс компьютерного зрительного синдрома, возникающего при длительном использовании электронных устройств [1, 4]. Основной причиной развития компьютерного зрительного синдрома является перенапряжение аккомодационного аппарата глаза вследствие принципиального отличия изображения на мониторе от изображения на бумажном носителе [4, 5].

Считается, что механизм острой приобретённой эзотропии типа Бильшовского представляет собой особый вид косоглазия, возникающий на фоне некорригированной миопии при чрезмерной зрительной нагрузке вблизи, что приводит к неспособности поддерживать баланс между конвергентными и дивергентными фузионными резервами с последующим повышением тонуса медиальных прямых мышц, приводящим к эзотропии [6–8]. Клинические характеристики данного типа эзотропии включают: острое начало, эзотропию с диплопией (одинаковое отклонение во всех направлениях взгляда), нормальную моторику глаз и определённую бинокулярную зрительную функцию на близком расстоянии [9–11].

Ряд авторов выделяет особый вид косоглазия, которое возникает у взрослых пациентов с миопией в связи с длительной зрительной нагрузкой вблизи, что может приводить и к морфологическим изменениям глазодвигательных мышц [6, 8, 9, 12]. Гистологическими исследованиями было доказано замещение в этих случаях мышечных волокон коллагеновыми [9].

Тактика лечения пациентов, как правило, выбирается индивидуально и может включать диплоптическое лечение [11, 13], в том числе использование призматической коррекции [7], а также хирургическое лечение этого вида эзотропии [7, 14–16]. Отсутствие чётких рекомендаций по ведению пациентов, с одной стороны, и значительное увеличение обращений с жалобами на внезапно возникшее двоение, с другой, обуславливают актуальность обсуждения данной темы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить характер изменения бинокулярной зрительной системы и окуломоторного статуса у пациентов с приобретённой диплопией, индуцированной длительным зрительным напряжением вблизи; разработать алгоритм лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 35 пациентов в возрасте от 15 до 36 лет. Из них основная клиническая группа включала 20 пациентов (16 женщин, 4 мужчины) с приобретёнными нарушениями бинокулярных функций. Критерии включения в группу исследования: 1) жалобы на сходящееся косоглазие и постоянную бинокулярную диплопию, возникшую в срок от 1 месяца до 5 лет до момента обследования; 2) время использования смарт-устройств более 6 часов в сутки; 3) отсутствие неврологических причин для возникновения косоглазия; 4) максимальная корригированная острота зрения (МКОЗ) каждого глаза – не менее 0,9; 5) возраст от 15 до 40 лет; 6) отсутствие в анамнезе сходящегося косоглазия в детстве. Группа контроля представлена 15 пациентами с миопией средней степени, соотношение женщин и мужчин 3:1. Критерии включения: отсутствие жалоб на двоение; бинокулярный характер зрения; рефракция – эмметропия или миопия слабой степени; отсутствие в анамнезе косоглазия и неврологических заболеваний (табл. 1).

Исследование проведено с согласия этического комитета Иркутского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России и в соответствии с принципами Хельсинк-

ТАБЛИЦА 1
КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

TABLE 1
CLINICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS

Показатели	Клиническая группа (n = 20)	Контроль (n = 15)	p
Возраст (годы), Me [25; 75]	24,5 [15,3; 30,3]	22,4 [20; 24,8]	p = 0,34
Рефракция (дптр), Me [25; 75]	–3,13 [–0,25; –4,75]	–2,8 [–0,5; 4,8]	p = 0,06
ПЗО (мм), Me [25; 75]	24,6 [23,5; 25,9]	24,3 [22,3; 26,3]	p = 0,21
МКОЗ (усл. ед.), M ± SD	1,0 ± 0,05	1,0 ± 0,03	p = 0,47
Угол косоглазия (°), Me [25; 75]	10 [5,5; 10]	0,2 [0; 0,5]	p = 0,001
Резервы конвергенции (°), Me [25; 75]	4 [3; 4,75]	15,45 [13,4; 16,9]	p = 0,01
Резервы дивергенции (°), Me [25; 75]	0	3,38 [3,3; 3,45]	p = 0,01
ЗОА (дптр), Me [25; 75]	4 [3; 4]	4,25 [2,8; 5,7]	p = 0,01
ЗАА (дптр), Me [25; 75]	4 [3; 4]	7,25[5,75; 8,75]	p = 0,01

Примечание. ПЗО – передне-задняя ось глаза; ЗОА – запас относительной аккомодации; ЗАА – запас абсолютной аккомодации

ской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», Федеральным законом Российской Федерации от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», а также требованиями Федерального закона от 27.07.2006 № 152-ФЗ (редакция от 21.07.2014) «О персональных данных» (с изменениями и дополнениями, вступившими в силу с 01.09.2015). Исследование одобрено решением локального этического комитета Иркутского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (протокол от 15.11.2023 № 10-1).

Всем пациентам проведено стандартное офтальмологическое обследование (визометрия, авторефрактометрия, биометрия, биомикроскопия переднего отрезка, офтальмоскопия), дополнительно оценивали угол косоглазия по Гиршбергу, характер зрения на 4-точечном цветотесте, фузионные резервы на синоптофоре, проводили стереотест Fly, оценивали резервы абсолютной аккомодации и запас относительной аккомодации, толщину экстраокулярных мышц по данным ультразвукового исследования (УЗИ). Кроме того, всем пациентам проведена магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга, органической патологии центральной нервной системы не выявлено.

Полученные данные были статистически обработаны с использованием программы IBM SPSS Statistics v. 25.0 (IBM Corp., США). В связи с небольшим количеством наблюдений распределение признаков по критерию Шапиро – Уилка не являлось нормальным, поэтому для межгруппового сравнения данных использовали непараметрический критерий Манна – Уитни (U-test), а для связанных выборок (данные до и после лечения) – непараметрический критерий Уилкоксона (W-test). Уровень статистической значимости принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все пациенты предъявляли жалобы на диплопию, которая сначала была непостоянной и только при зрительной фиксации вдаль; постепенно зона бинокулярного слияния уменьшалась; к моменту обращения отмечалось двоение предметов на расстоянии 30–50 см от глаз. Из анамнеза выяснено, что время использования смарт-устройств у всех пациентов было более 6 ч в сутки (Me 7,8 [4,3; 11,3] ч). Все пациенты имели высокую остроту зрения каждого глаза. Некорригированная острота зрения (НКОЗ) составила 0,03–1,0, максимально корригированная острота зрения (МКОЗ) – 0,9–1,0, статическая рефракция варьировала от –0,25 до –6,0 дптр (Me –3,13 [–4,75; –0,25] дптр). При этом 15 пациентов пользовались адекватной постоянной оптической коррекцией (очками), в 3 случаях коррекция миопии осуществлялась с помощью рефракционных операций, которые были проведены за 5–7 месяцев до появления жалоб на двоение. Двое пациентов имели рефракцию, близкую к эмметропии, и коррекцией не пользовались, поскольку имели высокую некорригированную остроту зрения.

Угол косоглазия по Гиршбергу варьировал от +5 до +15°. У 6 пациентов выявлено лёгкое ограничение отведения обоих глаз. У всех пациентов оптические среды прозрачны, глазное дно без патологических изменений. По данным МРТ головного мозга и орбит патологии не выявлено. Характер зрения на момент обследования у всех пациентов был одновременный. Резервы конвергенции варьировали от 2 до 5° (Me 4 [3; 4,75]°); резервы дивергенции были равны нулю, что значительно и статистически значимо отличалось от показателей группы контроля. Запас относительной аккомодации составлял от 3,0 до 5,0 дптр, запас абсолютной аккомодации был снижен, что отличалось от группы контроля в 1,98 раза ($p = 0,01$).

Всем пациентам проведено УЗИ экстраокулярных мышц (ЭОМ), измерена толщина внутренней и наружной мышцы каждого глаза (табл. 2). Толщина ЭОМ пациентов сравнивалась с аналогичными данными группы контроля. В основной группе толщина внутренней прямой мышцы составляла от 3,23 до 4,39 мм (Me 3,7 [3,5; 3,8] мм), что превышало значения группы контроля. Толщина наружной прямой мышцы была сопоставима в обеих группах.

На следующем этапе был проведён корреляционный анализ по Спирмену, в который включены показатели, отражающие изменение моторики глаза, рефракции и аккомодации (табл. 3).

В результате выявлены корреляции средней силы между резервами конвергенции, углом косоглазия (положительная) и запасом относительной аккомодации (отрицательная). Также установлена прямая взаимосвязь длительности диплопии с резервами конвергенции и об-

ТАБЛИЦА 2

СРАВНЕНИЕ (ПО U-КРИТЕРИЮ МАННА – УИТНИ) ТОЛЩИНЫ ЭКСТРАОКУЛЯРНЫХ МЫШЦ У ПАЦИЕНТОВ С ЭЗОТРОПИЕЙ ТИПА БИЛЬШОВСКОГО И ПАЦИЕНТОВ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ

TABLE 2

COMPARISON (ACCORDING TO THE MANN – WHITNEY U-TEST) OF THE EXTRAOCULAR MUSCLE THICKNESS IN PATIENTS WITH BIELSCHOWSKY ESOTROPIA AND IN PATIENTS OF THE CONTROL GROUP

Показатели	Клиническая группа ($n = 20$)	Контрольная группа ($n = 15$)	p
Внутренняя прямая мышца (мм), Me [25; 75]	3,7 [3,5; 3,8]	3,5 [3,3; 3,7]	$p = 0,02$
Наружная прямая мышца (мм), Me [25; 75]	3,3 [3,0; 3,53]	3,3 [3; 3,54]	$p = 0,33$

ТАБЛИЦА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ КОРРЕЛЯЦИОННОГО АНАЛИЗА (ПО *R*-КРИТЕРИЮ СПИРМЕНА) ПОКАЗАТЕЛЕЙ, ОТРАЖАЮЩИХ СОСТОЯНИЕ МОТОРИКИ ГЛАЗА, РЕФРАКЦИИ И АККОМОДАЦИИ

TABLE 3

RESULTS OF CORRELATION ANALYSIS (USING SPEARMAN'S RANK CORRELATION COEFFICIENT) OF INDICATORS REFLECTING THE STATE OF OCULAR MOTILITY, REFRACTION AND ACCOMMODATION

Показатели	Коэффициент корреляции Спирмена (*r*)	*p*
Резервы конвергенции и угол косоглазия	0,664	$p = 0{,}001$
Резервы конвергенции и запас относительной аккомодации	–0,616	$p = 0{,}004$
Резервы конвергенции и длительность диплопии	0,610	$p = 0{,}004$
Величина запаса абсолютной аккомодации и длительность диплопии	–0,637	$p = 0{,}003$

ратная – с величиной запаса абсолютной аккомодации. Эти результаты свидетельствуют о преимущественном напряжении компонента конвергенции при длительной нефизиологичной зрительной нагрузке вблизи (табл. 3).

В связи с отсутствием на сегодняшний день клинических рекомендаций по лечению данных изменений был применён пошаговый алгоритм, который на первом этапе включал рекомендации по соблюдению зрительного режима, ограничению «экранного» времени до 2 ч в сутки, мышечные глазодвигательные упражнения по 3 мин 2–3 раза в день.

В 5 случаях, когда угол эзотропии не превышал 5° по Гиршбергу, был назначен курс ортопто-диплоптического лечения (10 сеансов). Курс лечения включал занятия на синоптофоре и упражнения на бинариметре с целью развития фузионных резервов. Коррекция зрительного режима и проведение ортопто-диплоптического лечения позволило полностью устранить двоение лишь в 2 случаях, когда длительность диплопии не превышала 3 месяцев на момент обращения (рис. 1).

У остальных пациентов ортопто-диплоптическое лечение было недостаточно эффективным, зона бинокулярного слияния расширилась, но двоение далее 1,5–2 м сохранялось. В связи с этим было принято решение о хирургическом лечении косоглазия: 12 пациентам проведено двустороннее ослабление внутренней прямой мышцы (теносклеропластика с частичной срединной миотомией), 6 пациентам – ослабление внутренней прямой мышцы одного глаза (рис. 1).

Результаты лечения представлены в таблице 4.

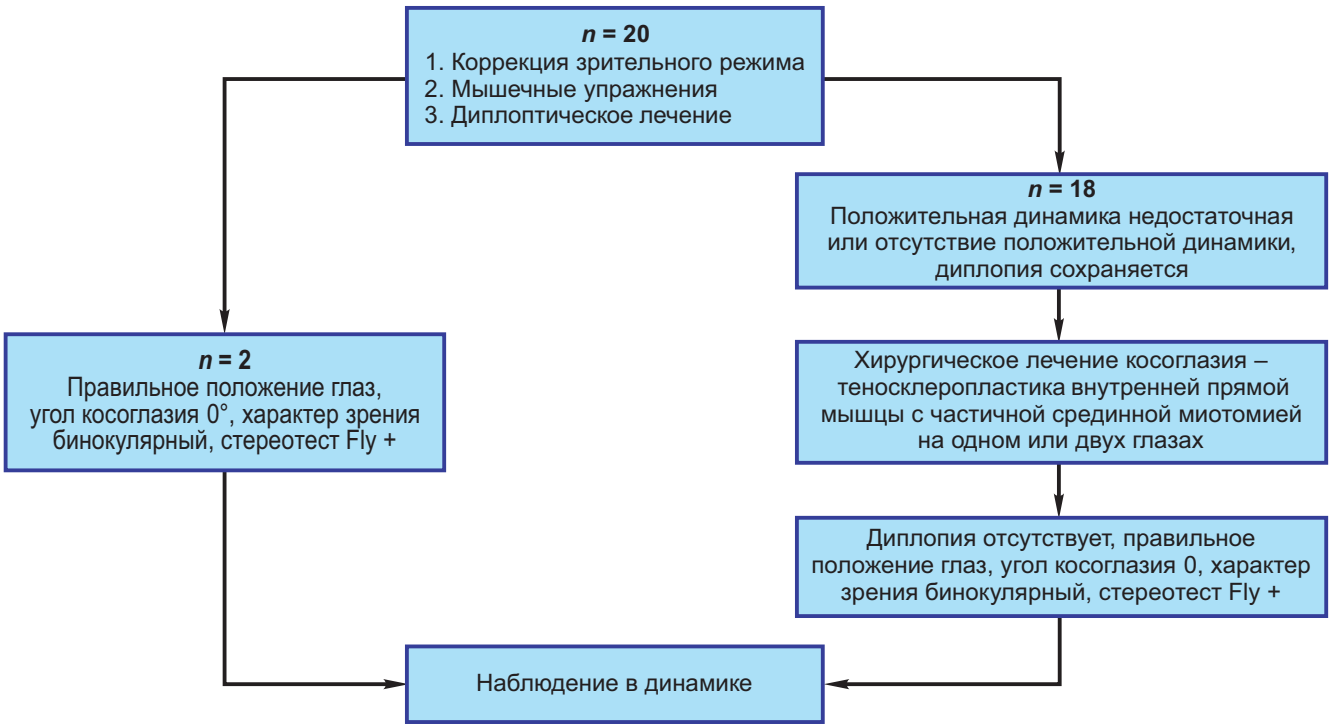


РИС. 1.

Использованный в работе алгоритм лечения пациентов с эзотропией

FIG. 1.

The algorithm for treating patients with esotropia used in the work

ТАБЛИЦА 4

РЕЗУЛЬТАТЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ЭЗОТРОПИЕЙ И ДИПЛОПИЕЙ

TABLE 4

RESULTS OF SURGICAL TREATMENT OF PATIENTS WITH ESOTROPIA AND DIPLOPIA

Показатели		До лечения	После лечения
Угол косоглазия (°), Me [25; 75]		10 [5,5; 10]	0
Характер зрения с 5 м		одновременный	бинокулярный
Фузионные резервы (дптр), Me [25; 75]	конвергентные	4 [3; 4,75]	4,65 [3,15; 5]
	дивергентные	0	1,28 [1,2; 1,34]
Диплопия, абс. (%)		20 (100)	0

После проведённого лечения жалобы на двоение пациенты не предъявляли. У всех пациентов достигнуты ортотропия, бинокулярный характер зрения и стереозрение. Наблюдалась статистическая тенденция к увеличению фузионных резервов, но разница не была статистически значимой ($p = 0,4$ по W-критерию Уилкоксона) – вероятно, вследствие небольшого количества пациентов в исследуемой группе. Через 6 месяцев результат оставался стабильным.

ОБСУЖДЕНИЕ

Принимая во внимание данные литературы и анализируя полученные результаты, мы пришли к выводу, что длительная зрительная нагрузка вблизи приводит к формированию особого вида косоглазия (тип Бильшовского) [1, 6, 7], первым проявлением которого всегда является диплопия – сначала только при взгляде вдаль, затем на более близком расстоянии, которое к моменту обращения подавляющего большинства пациентов составляло 0,5–1,0 м.

Можно предположить, что данные изменения глазодвигательной системы происходят в связи с малым размером зрительного стимула (экран смартфона), вследствие чего ограничиваются не только вергентные, но и верзионные движения глаз (горизонтальные и вертикальные). Происходит резкая минимизация глазодвигательной активности, что в сочетании с дефицитом сенсорной фузии ведёт к рассогласованию зрительно-моторного взаимодействия. Принимая во внимание результаты корреляционного анализа, можно отметить, что указанные изменения зрительной системы характерны для пациентов, имеющих ослабленную аккомодацию, что обуславливает развитие избыточной конвергенции и, можно сказать, даже формирование спазма конвергенции, то есть ситуации, когда нормальная физиологическая дивергенция становится невозможной. Длительное существование данной патологии обуславливает переход функциональных изменений в органические, выражающиеся в увеличении толщины внутренних прямых мышц и их структурных изменениях, что подтверждено исследованиями китайских офтальмологов [8, 9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представленные данные демонстрируют возможность формирования стойких нарушений бинокулярных функций, сопровождающихся постоянной диплопией у пациентов с миопией и ослабленной аккомодацией на фоне длительного зрительного напряжения при работе со смартфонами, что требует применения особого алгоритма диагностических и лечебных мероприятий, включающих не только ортопто-диплоптические, но и хирургические подходы.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Проскурина О.В., Тарутта Е.П., Хведелидзе Т.З., Арутюнян С.Г., Аклаева Н.А., Апаев А.В. Этиология и дифференциальная диагностика бинокулярной диплопии при содружественном и несодружественном косоглазии. *Российский офтальмологический журнал*. 2023; 16(4): 81-86. [Proskurina OV, Tarutta EP, Khvedelidze TZ, Harutyunyan SG, Aklaeva NA, Apaev AV. Etiology and differential diagnosis of binocular diplopia in comitant and incomitant strabismus. *Russian Ophthalmological Journal.* 2023; 16(4): 81-86. (In Russ.)]. doi: 10.21516/2072-0076-2023-16-4-81-86

2. Гладышева Г.В., Плисов И.Л., Анциферова Н.Г., Пущина В.Б., Мамулат Д.Р. Многогранность использования ботокса в страбизмологии. *Российский офтальмологический журнал*. 2024; 17(3): 108-112. [Gladysheva GV, Plisov IL, Antsiferova NG, Pushchina VB, Mamulat DR. The versatility of botox use in strabismology. *Russian Ophthalmological Journal.* 2024; 17(3): 108-112. (In Russ.)]. doi: 10.21516/2072-0076-2024-17-3-108-112

3. Kikolashvili M, Kapanadze N, Nikuradze N, Tkebuchava T, Shengelia B. Acute acquired comitant esotropia. *The Caucasus Journal of Medical and Psychological Sciences*. 2024; 2(1-2): 91-97. doi: 10.61699/cjmps-v2-i1-2-p91-97

4. Захарова М.А., Куроедов А.В. Применение антиоксидантов в комплексной терапии компьютерного зрительного синдрома. РМЖ. Клиническая офтальмология. 2016; 17(1): 54-59. [Zakharova MA, Kuroyedov AV. Antioxidants in complex treatment

of computer vision syndrome. *RMJ. Clinical Ophthalmology.* 2016; 17(1): 54-59. (In Russ.)].

5. Ахмадеев Р.Р., Мухамадеев Т.Р., Шайхутдинова Э.Ф., Хусниярова А.Р., Идрисова Л.Р., Тимербулатова М.Ф. Микрофлуктуации аккомодации как нейроофтальмологический показатель астенопии при пользовании девайсами. Медицинский вестник Башкортостана. 2020; 4(88): 95-100. [Akhmadeev RR, Mukhamadeev TR, Shaykhutdinova EF, Khusniyarova AR, Idrisova LR, Timerbulatova MF. Microfluctuations of accommodation as a neuroophthalmological indicator of asthenopia when using devices. *Bashkortostan Medical Journal*. 2020; 4(88): 95-100. (In Russ.)].

6. Аклаева Н.А. Бинокулярная диплопия: диагностика и лечение. Российская педиатрическая офтальмология. 2016; 11(2): 93-98. [Aklaeva NA. Binocular diplopia: The diagnostics and treatment. *Russian Pediatric Ophthalmology*. 2016; 11(2): 93-98. (In Russ.)].

7. Гладышева Г.В., Плисов И.Л., Анциферова Н.Г., Пущина В.Б., Мамулат Д.Р., Белоусова К.А., и др. Призматическая коррекция при остро приобретенной эзотропии с диплопией. Офтальмохирургия. 2021; 4: 46-51. [Gladysheva GV, Plisov IL, Antsiferova NG, Pushchina VB, Mamulat DR, Belousova KA, et al. Prismatic correction in the presence of acutely acquired esotropia with diplopia. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2021; 4: 46-51. (In Russ.)].

8. Lee HS, Park SW, Heo H. Acute acquired comitant esotropia related to excessive smartphone use. *BMC Ophthalmol*. 2016; 16: 37. doi: 10.1186/s12886-016-0213-5

9. Zheng K, Han T, Han Y, Qu X. Acquired distance esotropia associated with myopia in the young adult. *BMC Ophthalmol*. 2018; 18(1): 51. doi: 10.1186/s12886-018-0717-2

10. Ruatta C, Schiavi C. Acute acquired concomitant esotropia associated with myopia: Is the condition related to any binocular function failure? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2020; 258(11): 2509-2515. doi: 10.1007/s00417-020-04818-1

11. Пасикова Н.В., Кузнецов И.В. Причины диплопии (обзор литературы). Современные технологии в офтальмологии. 2022; 4(44): 69-74. [Pasikova NV, Kuznetsov IV. Causes of diplopia (literature review). *Modern Technologies in Ophthalmology.* 2022; 4(44): 69-74. (In Russ.)]. doi: 10.25276/2312-4911-2022-4-69-74.

12. Crouch ER, Dean TW, Kraker RT, Miller AM, Kraus CL, Gunton KB, et al. A prospective study of treatments for adult-onset divergence insufficiency-type esotropia. *J AAPOS*. 2021; 25(4): 203.e1-203.e11. doi: 10.1016/j.jaapos.2021.02.014

13. Щуко А.Г., Малышев В.В. (ред.). Теоретическая и клиническая бинариметрия. Новосибирск: Наука; 2006. [Shchuko AG, Malyshev VV (eds). *Theoretical and clinical binarimetry.* Novosibirsk: Nauka; 2006. (In Russ.)].

14. Grace SF, Cavuoto KM, Shi W, Capo H. Surgical treatment of adult-onset esotropia: Characteristics and outcomes. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2017; 54(2): 104-111. doi: 10.3928/01913913-20160929-02

15. Горбенко В.М., Фокин В.П. Новый метод хирургического лечения смешанной формы косоглазия. Волгоградский научно-медицинский журнал. 2007; 1: 40-42. [Gorbenko VM, Fokin VP. A new method of surgical treatment of a mixed form of strabismus. *Volgograd Journal of Medical Research.* 2007; 1: 40-42. (In Russ.)].

16. Розанова О.И., Щуко А.Г., Ильин В.П., Малышев В.В. Сходящееся содружественное косоглазие у взрослых. Иркутск; 2005. [Rozanvova OI, Shchuko AG, Ilyin VP, Malyshev VV. C*onvergent concomitant strabismus in adults.* Irkutsk; 2005. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Бачалдина Лариса Николаевна – кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: larinikba@list.ru, https://orcid.org/0000-0003-3376-8190

Короленко Анна Владимировна – кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог, заведующая отделением охраны зрения детей, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: dalgetti@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5878-9636

Information about the authors

Larisa N. Bachaldina – Cand. Sc. (Med.), Ophthalmologist, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: larinikba@list.ru, https://orcid.org/0000-0003-3376-8190

Anna V. Korolenko – Cand. Sc. (Med.), Ophthalmologist, Head of the Department of Children's Vision Protection, Irkutsk Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: dalgetti@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5878-9636

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМУЛ РАСЧЁТА И СИСТЕМ ИЗМЕРЕНИЯ ЦЕЛЕВОЙ АСТИГМАТИЧЕСКОЙ ОСИ ТОРИЧЕСКОЙ ИОЛ ПРИ ИНТРАОКУЛЯРНОЙ КОРРЕКЦИИ РОГОВИЧНОГО АСТИГМАТИЗМА

Набатова О.С.,
Фисенко А.И.,
Козина Е.В.,
Лексуткина Е.В.

Краснодарский филиал
ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России (350012, г. Краснодар, ул. Красных Партизан, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Козина Елена Владимировна,
e-mail: elena_eyedoc@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Эффективность интраокулярной коррекции роговичного астигматизма зависит от показателей кератометрии, биометрии и измерения целевой астигматической оси в расчётах онлайн-калькуляторов торической интраокулярной линзы (ИОЛ).*

Цель. *Оценить эффективность коррекции роговичного астигматизма торическими интраокулярными линзами, рассчитанными различными методиками измерения целевой астигматической оси.*

Материал и методы. *Проанализированы 40 пациентов (60 глаз) с простым правильным роговичным астигматизмом. Показатели кератометрии для расчётов в 30 глазах были получены на WaveLight Oculyzer II (Alcon Inc., США) или Pentacam HR (Oculus Pentacam, Германия), измерение астигматической оси для ориентации торического компонента проводилось по формуле Kane. В 30 глазах кератометрические данные для расчёта получались на Verion Measurement Module (Alcon Inc., США), целевая ось рассчитывалась по формуле Barett в Verion Measurement Module.*

Результаты. *Статистически значимо меньшую векторную и центроидную ошибку показали расчёты целевой астигматической оси по формуле Kane с кератометрией на Oculyzer II или Pentacam HR по сравнению с результатами расчётов с кератометрией и по формуле Barett в Verion Measurement Module ($p < 0,05$). Наименьший центроид (0,05 dntp) и наименьшая средняя абсолютная ошибка ($0,47 \pm 0,51$ dntp) показателей расчётного остаточного астигматизма отмечены в группе расчётов Kane. Арифметическая разница расчётных целевых осей ориентации торики по Verion и Kane выявила в 70 % расчётов второй группы разницу более 5° в измерении ориентации оси. Процент глаз с векторной ошибкой менее 0,5 dntp во второй группе превышал показатель первой группы на 13,3 %, с ошибкой менее 1,0 dntp – на 23,3 %.*

Заключение. *Расчёт торической оси по формулам онлайн-калькуляторов с применением кератометрических показателей Oculyzer II или Pentacam HR позволяет получить меньшую среднюю центроидную ошибку 0,05 dntp в сравнении с центроидной ошибкой 0,25 dntp при ориентации торической оси по кератометрическим измерениям на Verion Measurement Module и расчётом по калькуляторам на Verion Measurement Module.*

Ключевые слова: *торическая интраокулярная коррекция, векторный анализ, центроидная ошибка, целевая астигматическая ось, правильный роговичный астигматизм*

Для цитирования: Набатова О.С., Фисенко А.И., Козина Е.В., Лексуткина Е.В. Сравнительный анализ эффективности различных формул расчёта и систем измерения целевой астигматической оси торической ИОЛ при интраокулярной коррекции роговичного астигматизма. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 196-205. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.21

Статья поступила: 08.08.2024
Статья принята: 03.02.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EFFECTIVENESS OF VARIOUS CALCULATION FORMULAS AND MEASUREMENT SYSTEMS FOR THE TARGET ASTIGMATIC AXIS OF THE TORIC IOL IN INTRAOCULAR CORRECTION OF CORNEAL ASTIGMATISM

Nabatova O.S.,
Fisenko A.I.,
Kozina E.V.,
Leksutkina E.V.

Krasnodar Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Krasnykh Partizan str., 6, Krasnodar 350012, Russian Federation)

Corresponding author:
Elena V. Kozina,
e-mail: elena_eyedoc@mail.ru

ABSTRACT

Background. *The effectiveness intraocular correction of corneal astigmatism on the target astigmatic axis in the online calculators toric IOL.*
The aim. *To establish the effectiveness of corneal astigmatism correction by toric IOLs calculated by various methods of astigmatic axis measurement.*
Material and methods. *Forty patients (60 eyes) with corneal astigmatism were analyzed. Keratometry parameters for calculations in 30 eyes were obtained using Wave Light Oculyzer II or Pentacam HR, the measurement of the toric astigmatic axis was carried out using the Kane formula. In 30 eyes, keratometric data for calculation were obtained using the Verion Measurement Module, the target axis was calculated using the Barett formula in Verion.*
Results. *Statistically significantly lower vector and centroid error was shown by calculations of the target astigmatic axis using the Kane formula with Oculyzer II or Pentacam HR keratometry compared with the results of calculations with keratometry and Barett in Verion ($p < 0.05$). The smallest centroid (0.05 dpt) and the smallest average absolute error (0.47 ± 0.51 dpt) of the residual astigmatism indicators in the Kane calculation group, the arithmetic difference of the calculated target axes of the toric orientation according to Verion and Kane revealed, in 70 % of the calculations of the second group, a difference of more than 5° in measuring the axis orientation. The percentage of eyes with a vector error of less than 0.5 dpt in the second group exceeded the indicator of the first group by 13.3 %, less than 1.0 dpt – by 23.3 %.*
Conclusion. *The calculation of the toric axis according to online formula using Oculyzer II or Pentacam HR keratometric indicators allows us to obtain a smaller average centroid error of 0.05 dpt compared with a centroid error of 0.25 with the orientation of the toric axis according to keratometric measurements on Verion and the calculation on Verion.*

Key words: *toric intraocular correction, vector analysis, centroid error, target astigmatic axis, correct corneal astigmatism*

Received: 08.08.2024
Accepted: 03.02.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Nabatova O.S., Fisenko A.I., Kozina E.V., Leksutkina E.V. Comparative analysis of the effectiveness of various calculation formulas and measurement systems for the target astigmatic axis of the toric IOL in intraocular correction of corneal astigmatism. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 196-205. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.21

ОБОСНОВАНИЕ

Среди методов коррекции роговичного астигматизма у пациентов старше 40 лет наиболее эффективным общепризнано удаление хрусталика с имплантацией торической интраокулярной линзы (ИОЛ) [1]. Максимальную актуальность компенсация роговичного астигматизма приобретает в расчёте мультифокальных ИОЛ, так как отсутствие необходимой цилиндрической коррекции от 0,75 дптр и выше существенно снижает качество остроты зрения вблизи и на расстоянии у пациентов с мультифокальной ИОЛ [1, 2].

Составляющими эффективного расчёта торического компонента ИОЛ являются предоперационные данные кератометрии, аксиальной длины глазного яблока и измерения целевой астигматической оси [1–3]. Современное офтальмологическое оборудование обеспечивает максимальную точность расчёта диоптрийности ИОЛ. Оптимальные данные аксиальной длины глаза, по данным отечественных и зарубежных авторов, измеряются на IOL Master 500 и IOL Master 700 (Carl Zeiss Mediteg AG, Германия) [4–6]. Среди данных кератометрии наиболее часто предпочтение отдаётся полученным на приборах WaveLight Oculyzer II (Alcon Inc., США) и Pentacam HR (Oculus Pentacam, Германия), учитывающим кривизну и астигматический компонент передней и задней поверхностей роговицы [7–9]. Расчёт целевой оси торической ИОЛ для оптимального позиционирования осуществляется торическими онлайн-калькуляторами [10–12]. Один из наиболее эффективных из них – Kane Toric Calculator – применяет «закрытую» формулу Kane[1] [13–15]. Популярностью пользуются формулы Barett, Haigis, Holliday II в онлайн-калькуляторе Verion. В данных расчётах применяются кератометрические данные, полученные на приборе Verion Measurement Module (Alcon Inc., США) [16–18].

Ряд исследований отмечают, что более 30 % врачей считают приемлемой ошибку в 10° в определении ориентации астигматической оси торической ИОЛ. Однако известно, что 1° отклонения торической оси на 3,3 % уменьшает эффективность коррекции [19]. Ввиду этого нельзя недооценивать важность точности позиционирования торической ИОЛ для коррекции астигматизма.

Несмотря на прогресс в точности работы оборудования и программного обеспечения для расчёта торических ИОЛ, результаты коррекции в ряде случаев остаются сложнопрогнозируемыми и непредсказуемыми [20–22].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести сравнительный анализ эффективности интраокулярной коррекции роговичного астигматизма применением различных систем измерения целевой астигматической оси торической интраокулярной линзой.

[1] www.iolformula.com

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Изучены результаты интраокулярной коррекции 40 пациентов (60 глаз) с простым правильным роговичным астигматизмом, перенёсших с 2022 по 2024 г. факоэмульсификацию катаракты или удаление прозрачного хрусталика с имплантацией торической ИОЛ. Исследование проводилось в Краснодарском филиале ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России.

Исследование проводилось ретроспективно. Для анализа использовались архивные данные приборов расчёта ИОЛ, медицинских карт и информационной системы Med Work.

Пациентам в исследуемых группах имплантировались следующие заднекамерные моноблочные гидрофобные акриловые ИОЛ: торическая AcrySof IQ Toric (Alcon Inc., США) с монофокальной асферической оптикой и псевдоаккомодирующая торическая трифокальная AcrySof IQ PanOptix Toric (Alcon Inc., США). Обе ИОЛ имеют фильтры ультрафиолета и синего спектра цвета.

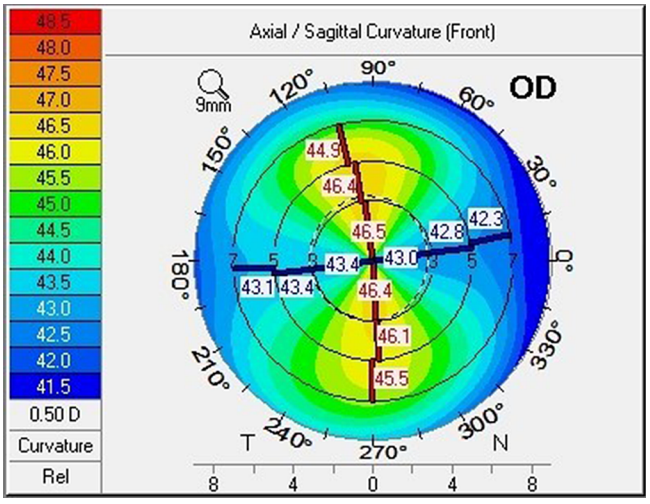
Необходимые для расчёта диоптрийности ИОЛ и торического компонента показатели кератометрии в актуальной для расчёта зоне оценивались на приборе Verion Measurement Module либо на приборах Pentacam HR или WaveLight Oculyzer II и учитывали данные преломляющей силы передней и задней поверхностей роговицы (рис. 1). Данные аксиальной длины глазного яблока, глубины передней камеры и размер хрусталика для расчёта ИОЛ были получены на IOL Master 700. Измерение целевой астигматической оси для ориентации торического компонента проводилось с помощью расчётов ИОЛ на Verion Measurement Module по формуле Barett Universal II и Barett Toric Calculator (рис. 2) и в онлайн-калькуляторе по формуле Kane (рис. 3). Все пациенты подписывали согласие на обработку персональных данных.

Критериями исключения из исследования стали: рубцы, помутнения, кератотомические насечки роговицы, вызывающие неправильный астигматизм; аксиальная длина менее 22,00 мм и более 25,00 мм; макулярная патология, снижающая зрение в послеоперационном периоде ниже 0,7; ротация ИОЛ более 5° относительно целевой оси в послеоперационном периоде.

Данные пациентов, включённых в исследование, выделены в две группы, различные по методике измерения целевой астигматической оси при расчёте торической ИОЛ. Сравнивалась эффективность коррекции роговичного астигматизма по величине остаточного послеоперационного астигматизма.

В первой группе пациентов (30 глаз) кератометрические данные были получены на Verion Measurement Module. Расчёт диоптрийности ИОЛ, торического компонента и измерение астигматической оси пациентов первой группы производились на Verion Measurement Module по формуле Barett.

Во второй группе пациентов (30 глаз) кератометрические данные были получены на WaveLight Oculyzer II



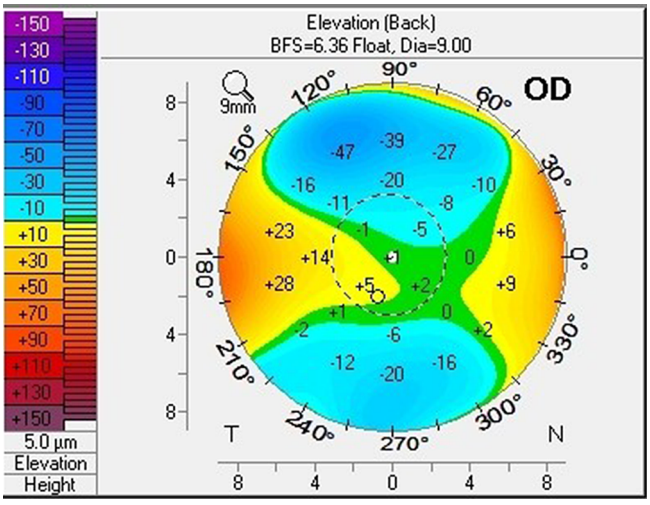


РИС. 1.

Кератотопограмма передней и задней поверхности роговицы в актуальной зоне для расчёта торической ИОЛ, полученная на WaveLight Oculyzer II (Alcon Inc., США)

FIG. 1.

Keratotopogram of the anterior and posterior surfaces of the cornea in the actual zone for calculating the toric IOL obtained with WaveLight Oculyzer II (Alcon Inc., USA)

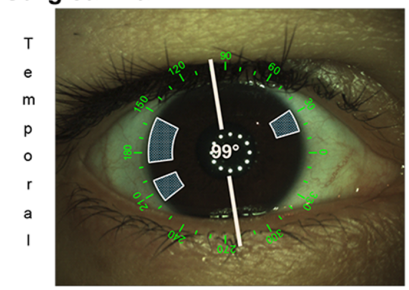
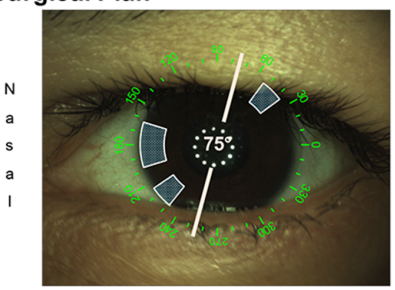
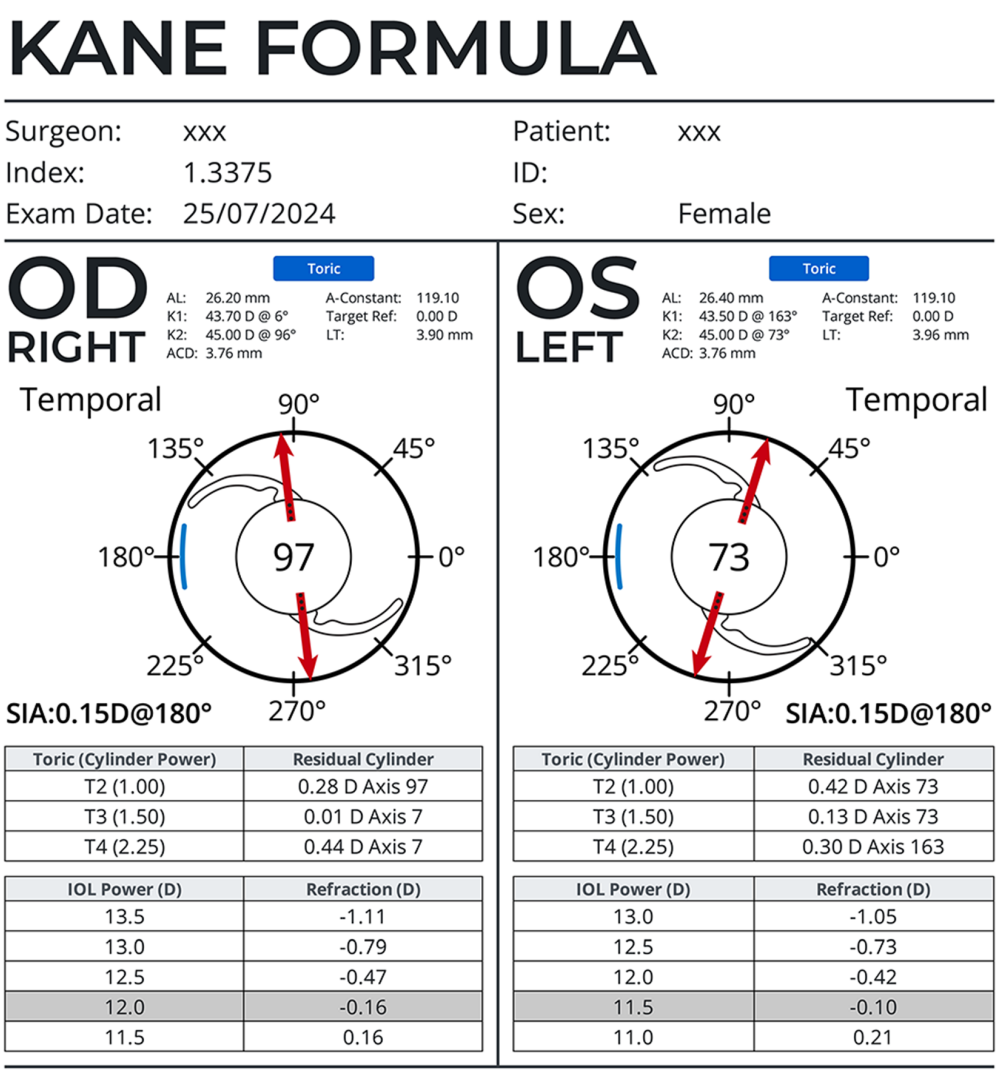
OD (RIGHT EYE)	(LEFT EYE) OS
Pre-Op 22/02/2024	**Pre-Op** 22/02/2024
R1/K1: 7.71 mm / 43.77 dpt @9° (Verion)	R1/K1: ! 7.66 mm / 44.07 dpt @167° (Verion)
R2/K2: 7.43 mm / 45.40 dpt @99°	R2/K2: ! 7.34 mm / 45.97 dpt @77° (! = uncertain value)
R/K: 7.57 mm / 44.57 dpt n: 1.3375	R/K: ! 7.50 mm / 45.00 dpt n: 1.3375
Cyl: -1.63D @9°	Cyl: -1.90D @167°
AL: 26.20 mm (IOL Master 700-Optical)	AL: 26.40 mm (IOL Master 700-Optical)
ACD: 3.76 mm LT: 3.90 mm	ACD: 3.76 mm LT: 3.96 mm
Rx: N/A WTW: 12.48 mm	Rx: N/A WTW: 12.58 mm
Post-Refractive: No Post-Refractive	Post-Refractive: No Post-Refractive
Pre-Refractive RX: N/A	Pre-Refractive RX: N/A
Surgical Plan N/A	**Surgical Plan** N/A
	
Primary: 2.4mm @170° Arc1: N/A Arc2: N/A	Primary: 2.4mm @180° Arc1: N/A Arc2: N/A
Sec1: 1.2mm @210° Depth: N/A	Sec1: 1.2mm @223° Depth: N/A
Sec2: 1.2mm @25° Diam: N/A	Sec2: 1.2mm @45° Diam: N/A
Nomogram: N/A	Nomogram: N/A
Barrett Target SEQ: -0.50 SIA: 0.15D	**Barrett** Target SEQ: -0.50 SIA: 0.15D
TFNT40 2.25D @99°	**TFNT40 2.25D @75°**
TFNTx 12.50D	**TFNTx 11.00D**
MFG LF(1.94)	MFG LF(1.94)
IOL(D) / Ref(D): 11.50 / 0.06; 12.00 / -0.26; **12.50 / -0.58**; 13.00 / -0.91; 13.50 / -1.24	IOL(D) / Ref(D): 10.00 / 0.22; 10.50 / -0.09; **11.00 / -0.40**; 11.50 / -0.72; 12.00 / -1.05
Lens / Res. Astigm.: TFNT0 -1.25D x 9°; TFNT20 -0.61D x 9°; TFNT30 -0.29D x 9°; **TFNT40 -0.18D x 99°**; TFNT50 -0.66D x 99°; TFNT60 -1.14D x 99°	Lens / Res. Astigm.: TFNT0 -1.55D x 165°; TFNT20 -0.92D x 165°; TFNT30 -0.61D x 165°; **TFNT40 -0.14D x 165°**; TFNT50 -0.33D x 75°; TFNT60 -0.79D x 75°
ExpectedRx: -0.49D -0.18D x 99°	ExpectedRx: -0.33D -0.14D x 165°

РИС. 2.

Расчёт ИОЛ по формуле Barett на Verion

FIG. 2.

Calculation of IOL using Barett formula in Verion



Toric (Cylinder Power)	Residual Cylinder
T2 (1.00)	0.28 D Axis 97
T3 (1.50)	0.01 D Axis 7
T4 (2.25)	0.44 D Axis 7

IOL Power (D)	Refraction (D)
13.5	-1.11
13.0	-0.79
12.5	-0.47
12.0	-0.16
11.5	0.16

Toric (Cylinder Power)	Residual Cylinder
T2 (1.00)	0.42 D Axis 73
T3 (1.50)	0.13 D Axis 73
T4 (2.25)	0.30 D Axis 163

IOL Power (D)	Refraction (D)
13.0	-1.05
12.5	-0.73
12.0	-0.42
11.5	-0.10
11.0	0.21

РИС. 3.
Расчёт ИОЛ по формуле Kane

FIG. 3.
Calculation of IOL using Kane formula

или Pentacam HR. Расчёт диоптрийности ИОЛ, торического компонента и измерение астигматической оси пациентов второй группы производились в онлайн-калькуляторе по формуле Kane.

Применялся оптический индекс 1,3375, принятый за основу расчёта сфероэквивалента и торического компонента ИОЛ в большинстве формул. Значение хирургически индуцированного астигматизма в расчётах было одинаковым – 0,15.

В таблице 1 представлены пред- и послеоперационные количественные данные пациентов двух групп.

Для проверки нормальности распределения количественных данных пред- и послеоперационного астигматизма в выборках был проведён тест Шапиро – Уилка. Данные соответствовали критериям нормального распределения, ввиду этого для статистического анализа был использован парный t-критерий Стьюдента для сравнения данных до и после операции. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым. Описательная статистика в таблицах представлена средним значением (M) и стандартным отклонением (σ).

Статистически значимой разницы значений предоперационного астигматизма и планируемого остаточного астигматизма между группами не определялось – $p > 0,05$ (критерий Стьюдента). Значение критерия Стьюдента $p < 0,05$ подтвердило статистически значимую разницу среднего значения послеоперационного астигматизма между группами.

У пациентов второй группы измерения астигматической оси проводились обеими методиками: в онлайн-калькуляторе Verion с кератометрией на Verion Measurement Module и по формуле Kane с кератометрией на WaveLight Oculyzer II или Pentacam HR. Оценивалась арифметическая разница в градусах ориентации оси торического компонента ИОЛ, полученных в обеих методиках расчёта.

Пациентам обеих групп выполнялась факоэмульсификация с техникой дробления ядра (Stop & Chop), с использованием наконечника BalansTip с углом сре-

ТАБЛИЦА 1
ПРЕДОПЕРАЦИОННЫЕ И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ ПАЦИЕНТОВ

TABLE 1
PRE- AND POSTOPERATIVE DATA OF PATIENTS

Данные	1-я группа	2-я группа
Осевая длина глаза (мм), M ± σ, диапазон	23,97 ± 1,25 22,1–25,9	23,59 ± 1,25 22,08–25,4
Сферическая коррекция (дптр), M ± σ, диапазон	2,82 ± 1,67 0,00–5,75	2,47 ± 1,81 0,00–5,75
Роговичный астигматизм (дптр), M ± σ, диапазон	1,88 ± 1,16 0,25–4,5	1,43 ± 1,19 0,25–4,5
Монофокальная ИОЛ, *n* (%)	8 (27)	11 (37)
Мультифокальная ИОЛ, *n* (%)	22 (73)	19 (63)
Прогнозируемый остаточный астигматизм (дптр), M ± σ, диапазон	0,2 ± 0,25 0,01–1,04	0,11 ± 0,1 0,02–0,49
Послеоперационный остаточный астигматизм (дптр), M ± σ, диапазон	0,98 ± 0,63 0,25–2,5	0,57 ± 0,34 0,25–1,5

за 30°. После выполнения двух парацентезов в переднюю камеру вводился дисперсивный вискоэластик. Используя систему слежения Verion, цанговым пинцетом 23 G выполнялся передний капсулорексис. Основной разрез выполнялся одноразовым металлическим копьём 2,2 мм на 110° также с использованием Verion. Далее ядро делили ультразвуковым наконечником на части, каждая из которых методом вертикального чопа дробилась и аспирировалась с использованием техники «bevel down». После бимануальной аспирации кортикальных масс в капсульный мешок имплантировалась ИОЛ AcrySof IQ Toric или AcrySof IQ PanOptix Toric.

В первой группе ротация и установка ИОЛ по целевой оси в капсульном мешке производилась под контролем электронной системы разметки Verion Measurement Module. Во второй группе значение целевой оси для установки ИОЛ бралось из расчётов по онлайн-формуле Kane с выполнением разметки путём точечного нанесения меток стерильным медицинским маркером на поверхность лимбальной зоны роговицы по лучу осветителя щелевой лампы, выставленному в соответствии с целевыми градусами и проходящему через центр зрачка (под местной анестезией, в положении пациента сидя).

В послеоперационном периоде через 3 месяца оценивалась ротационная стабильность ИОЛ и рефракционный остаточный астигматизм, который использовался для оценки эффективности расчёта торического компонента ИОЛ.

Данные рефракционного астигматизма в послеоперационном периоде использовались для расчёта среднего абсолютного (MAE, mean absolute prediction error) и срединного абсолютного (MedAE, median absolute prediction error) отклонения фактической цилиндрической коррекции от расчётной. Векторная ошибка рассчитывалась с использованием векторного анализа, а затем вычислялись средняя и срединная векторные ошибки. Центроид расчётной ошибки (средняя центроидная ошибка) и стандартное отклонение центроида (средняя абсолютная центроидная ошибка: диоптрии (градусы ± стандартное отклонение центроида)) рассчитывались при помощи Excel-алгоритма – Astigmatism Double Angle Plot Tool. Сравнительные результаты прогнозируемого и полученного центроидов обеих групп представлены на диаграммах (рис. 4–7).

Для оценки эффективности коррекции астигматизма торическими ИОЛ сравнивались изменения рефракционного астигматизма с расчётным. Так как астигматизм является вектором с величиной и ориентацией, применялся векторный анализ изменений рефракционного астигматизма после имплантации торической ИОЛ. В каждой группе рассчитывался процент глаз с ошибкой менее 0,5 дптр и менее 1,0 дптр по данным послеоперационного астигматизма.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Статистически значимо меньшую векторную и центроидную ошибку показали результаты расчёта по формуле Kane с кератометрией на WaveLight Oculyzer II/Pentacam HR во второй группе по сравнению с результатами расчётов в онлайн-калькуляторе Verion с кератометрией с использованием системы Verion Measurement Module в первой группе ($p < 0,05$). Наименьший центроид (0,05 дптр) и наименьшая средняя абсолютная ошибка (0,47 ± 0,51 дптр) показателей расчётного остаточного астигматизма в группе расчётов по Kane подтверждает более высокую точность расчёта прогнозируемого остаточного послеоперационного астигматизма (табл. 2).

ТАБЛИЦА 2

СРЕДНЯЯ (MAE) И СРЕДИННАЯ (MedAE) ВЕКТОРНЫЕ ОШИБКИ, ЦЕНТРОИДНАЯ ОШИБКА

TABLE 2

MEAN ABSOLUTE (MAE) AND MEDIAN ABSOLUTE (MedAE) PREDICTION ERRORS, CENTROID ERROR

Показатели	1-я группа	2-я группа
MAE (дптр), M ± σ	0,54 ± 0,6	0,47 ± 0,51
MedAE (дптр), Me (IQR)	0,57 (0,38)	0,4 (0,72)
Центроидная ошибка (дптр), Me (M ± σ)	0,25 (115 ± 1,15)	0,05 (73 ± 0,64)

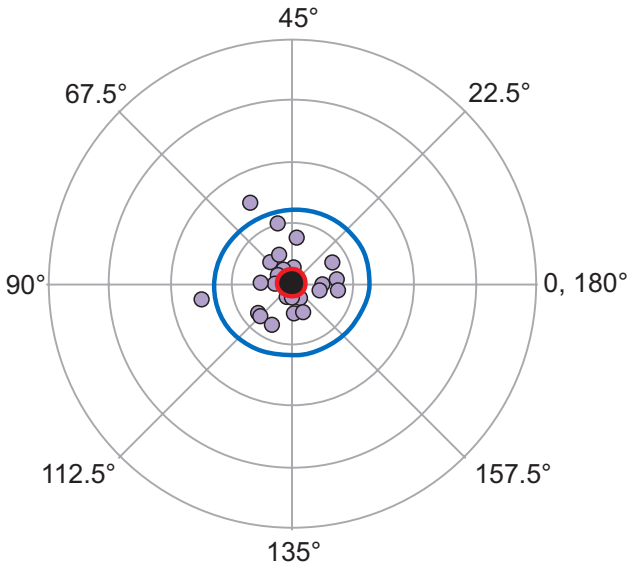


РИС. 4.

Диаграмма планируемой центроидной ошибки по формуле Kane (mean absolute: 0,56 ± 0,33 дптр; n = 30)

FIG. 4.

Diagram of the planned centroid error according to the Kane formula (mean absolute: 0.56 ± 0.33 dpt; n = 30)

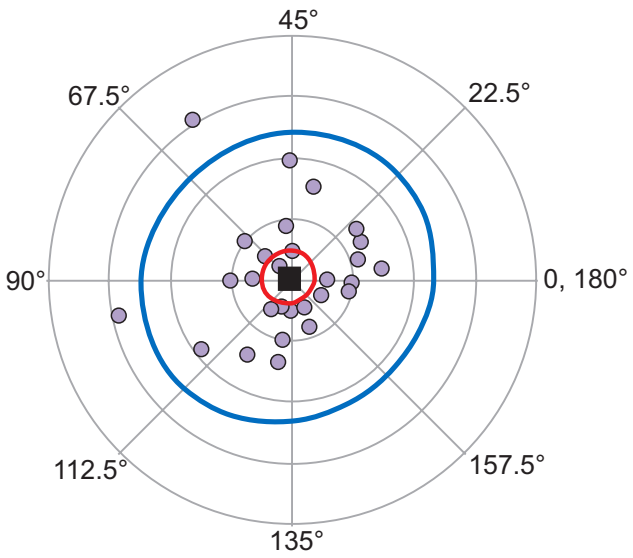


РИС. 5.

Диаграмма полученной центроидной ошибки по формуле Kane (mean absolute: 0,54 ± 0,34 дптр; n = 30)

FIG. 5.

Diagram of the resulting centroid error according to the Kane formula (mean absolute: 0.54 ± 0.34 dpt; n = 30)

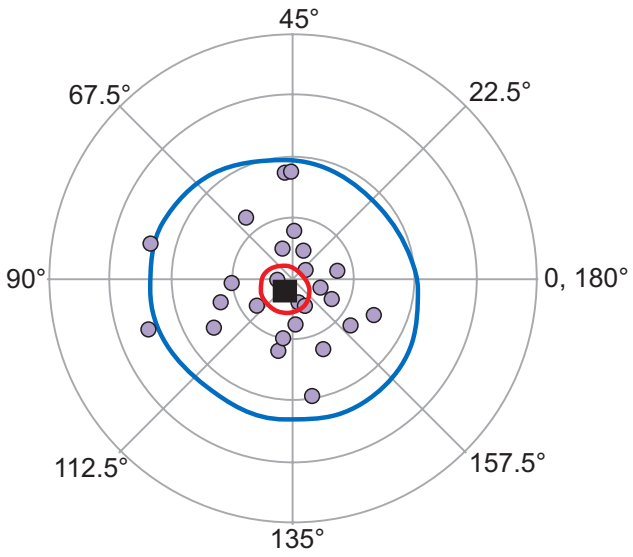


РИС. 6.

Диаграмма планируемой центроидной ошибки по формуле Barett на Verion (mean absolute: 0,99 ± 0,62 дптр)

FIG. 6.

Diagram of the planned centroid error according to the Barett formula using Verion (mean absolute: 0.99 ± 0.62 dpt)

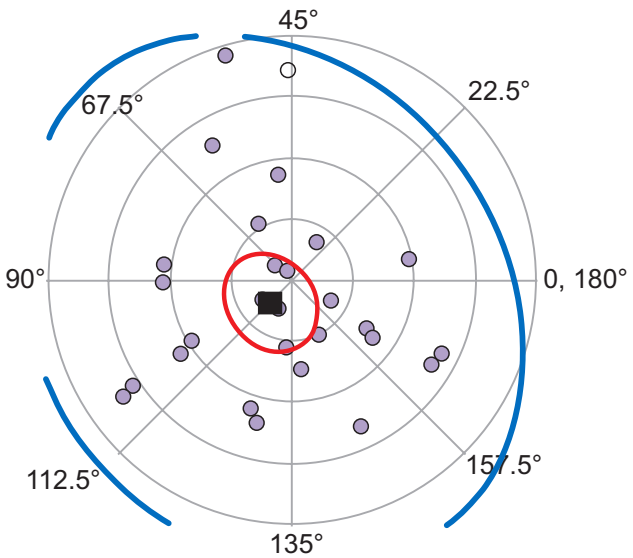


РИС. 7.

Диаграмма полученной центроидной ошибки по формуле Barett на Verion (mean absolute: 0,54 ± 0,34 дптр)

FIG. 7.

Diagram of the resulting centroid error according to the Barett formula using Verion (mean absolute: 0.54 ± 0.34 dpt)

Анализ арифметической разницы расчётных осей ориентации торики по формуле Barett с кератометрией на Verion Measurement Module и по формуле Kane на WaveLight Oculyzer II/Pentacam HR во второй группе определил разницу менее 5° в 9 глазах, от 5° до 10° – в 12 глазах, от 10° до 20° – в 7 глазах, 20° и более – в 2 глазах. Таким образом, 70 % расчётов второй группы имели клинически значимую разницу более 5° в измерении ориентации астигматической оси.

Анализ процента глаз со средней векторной ошибкой менее 0,5 дптр и менее 1,0 дптр в двух группах показал, что процент глаз с ошибкой 0,5 дптр и менее во второй группе превышал показатель первой группы на 13,3 %, 1,0 дптр и менее – на 23,3 % (рис. 8; табл. 3).

ТАБЛИЦА 3

ПРОЦЕНТ ГЛАЗ С ОШИБКОЙ МЕНЕЕ 0,5 ДПТР И МЕНЕЕ 1,0 ДПТР ПО КАЖДОМУ КАЛЬКУЛЯТОРУ

TABLE 3

PERCENTAGE OF EYES WITH AN ERROR OF LESS THAN 0.5 DPT AND 1.0 DPT FOR EACH CALCULATOR

Средняя векторная ошибка	1-я группа	2-я группа
± 1,0 дптр (%)	66,7	90,0
± 0,5 дптр (%)	36,7	50,0

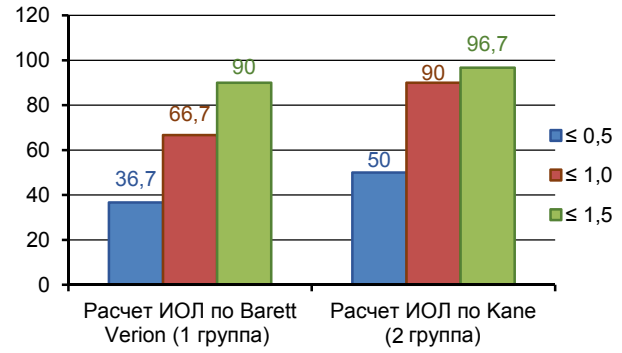


РИС. 8.

Число случаев с MAE < 0,5 дптр, < 1,0 дптр и < 1,5 дптр в каждой группе (%)

FIG. 8.

Number of cases with MAE< 0.50 dpt, < 1.00 dpt and < 1.5 dpt for each group (%)

ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность расчёта торической ИОЛ определяется максимально корректной комбинацией предоперационных данных кератометрии, аксиальной длины глазного яблока и измерения целевой астигматической оси, вводимых в формулы онлайн-калькуляторов. Точность коррекции роговичного астигматизма имеет наибольшее влияние на качество остроты зрения при имплантации мультифокальной торической ИОЛ [1–3].

По данным отечественных и зарубежных авторов, оптимальные биометрические данные для расчёта торической ИОЛ измеряют IOL Master 500 и IOL Master 700 [4–6]. В нашем исследовании для расчёта торической ИОЛ использовались данные аксиальной длины глазного яблока, полученные на IOL Master 700, что соответствует критериям эффективного расчёта, описанным в источниках литературы.

Кератометрические данные в эффективном расчёте торической ИОЛ должны учитывать кривизну и астигматический компонент как передней, так и задней поверхности роговицы [7–9]. Данный метод кератометрии применяется в большинстве современных торических калькуляторов с использованием оптического индекса 1,3375. В нашем исследовании для расчётов по двум современным онлайн-калькуляторам торической ИОЛ использовались кератометрические показатели, полученные на WaveLight Oculyzer II/Pentacam HR или кератометрические данные с прибора Verion Measurement Module.

Расчёт целевой оси торической ИОЛ в онлайн-калькуляторах для оптимального позиционирования является одним из наиболее важных факторов эффективной коррекции роговичного астигматизма [10–12]. Отклонение торической оси ИОЛ от целевой уменьшает эффективность астигматической коррекции [19], что обязывает хирургов оптимизировать измерения, не превышающие ошибку в позиционировании астигматической оси более 5°. Согласно литературным данным, торический калькулятор Kane Toric Calculator [13–15] и онлайн-калькулятор Verion с формулами Barett, Haigis, Holliday II [16–18] максимально эффективно измеряют целевую астигматическую ось для имплантации торической ИОЛ. В данном исследовании приведён сравнительный анализ эффективности расчёта целевой астигматической оси для позиционирования торического компонента ИОЛ двух систем расчёта: в калькуляторе Kane с кератометрией WaveLight Oculyzer II/Pentacam HR и в калькуляторе Verion по формуле Barett с кератометрическими данными Verion Measurement Module.

Центроидная ошибка в анализе эффективности коррекции астигматизма – это мера оценки сдвига расчёта торического компонента для разных формул [20–22]. В нашем исследовании оценивалась статистическая значимость разницы в центроидной ошибке по двум системам расчёта торической ИОЛ.

В настоящем исследовании анализировались результаты имплантации заднекамерных моноблочных гидрофобных акриловых торических ИОЛ компании Alcon (США): AcrySof IQ Toric с монофокальной асферической оптикой с шагом астигматической диоптрийности 1,0 – 1,5 – 2,25 – 3,0 – 3,75 – 4,5 – 5,25 – 6,00 дптр и псевдоаккомодирующей торической трифокальной AcrySof IQ PanOptix Toric с шагом астигматической диоптрийности 1,0 – 1,5 – 2,25 – 3,0 – 3,75 дптр. При проведении обзора литературы мы не нашли работ, сравнивающих изучаемые нами системы расчёта астигматической оси в различных калькуляторах. В нашем исследовании центроидная ошибка при расчётах по формуле Kane с кератометрией на WaveLight Oculyzer II/Pentacam HR (0,05) получилась статистически значимо меньше центроидной

ошибки в расчёте по формуле Barett и кератометрией, полученных на Verion (0,25), кроме того, у 70 % процентов глаз второй группы разница целевых осей, полученных сравнением двух исследуемых методик расчёта, была более 5°.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существует множество различных систем расчёта для наиболее точного позиционирования торической ИОЛ. Для выбора наиболее точного расчёта и измерения астигматической оси у эмметропов с простым роговичным астигматизмом результаты нашего исследования рекомендуют торический калькулятор, рассчитывающий по онлайн-формулам для эмметропических глаз с использованием кератометричеких данных WaveLight Oculyzer II или Pentacam HR, учитывающих преломляющую силу передней и задней поверхностей роговицы. Позиционирование торического компонента по целевой оси, рассчитанной данной методикой, позволяет получить среднюю центроидную ошибку в 0,05 дптр в сравнении с центроидной ошибкой в 0,25 дптр при ориентации торической оси, рассчитанной по онлайн-формулам с кератометрией, полученной на Verion.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Шухаев С.В., Бойко Э.В., Кудлахмедов Ш.Ш. Сравнительная оценка точности расчета торических интраокулярных линз. *Вестник офтальмологии*. 2022; 138(1): 5-12. [Shukhaev SV, Boiko EV, Kudlakhmedov SS. Comparative assessment of the accuracy of toric intraocular lens calculations. *Russian Annals of Ophthalmology.* 2022; 138(1): 5-12. (In Russ.)]. doi: 10.17116/oftalma20221380115

2. Альноелати Альмасри М.А., Стебнев В.С. Торические интраокулярные линзы: Исторический обзор, отбор пациентов, расчет ИОЛ, хирургическая техника, клинический исход и осложнения. *Национальная ассоциация ученых*. 2021; (63): 18-30. [Alnoelaty Almasri MA, Stebnev VS. Toric intraocular lenses: Historical overview, patient selection, IOL calculation, surgical techniques, clinical outcomes, and complications *National Association of Scientists.* 2021; (63): 18-30. (In Russ.)].

3. Ramsauer M, Luft N, Vounotrypidis E, Priglinger SG, Mayer WJ. Accuracy of toric intraocular lens power calculation depending on different keratometry values using a novel network based software platform. *Front Med (Lausanne)*. 2024; 11: 1363286. doi: 10.3389/fmed.2024.1363286

4. Cooke DL, Cooke TL. A comparison of two methods to calculate axial length. *J Cataract Refract Surg*. 2019; 45(3): 284-292. doi: 10.1016/j.jcrs.2018.10.039

5. Коновалов М.Е., Зенина М.Л., Горенский А.А., Коновалова М.М. Расчет и имплантация торических ИОЛ с применением системы ВЕРИОН. *Отражение.* 2018; 1(6): 121-124. [Konovalov ME, Zenina ML, Gorenskiy AA, Konovalova MM. Calculation and implantation of toric IOLs using Verion system. *Otrazhenie.* 2018; 1(6): 121-124. (In Russ.)]. doi: 10.25276/2686-6986-2018-1-121-124

6. Nemeth G, Szalai E, Hassan Z, Lipecz A, Berta A, Modis L Jr. Repeatability data and agreement of keratometry with the VERION system compared to the IOL Master. *J Refract Surg*. 2015; 31(5): 333-337. doi: 10.3928/1081597X-20150424-01

7. Asena L, Güngör SG, Akman A. Comparison of keratometric measurements obtained by the Verion Image Guided System with optical biometry and auto-keratorefractometer. *Int Ophthalmol*. 2017; 37(2): 391-399. doi: 10.1007/s10792-016-0274-8

8. Kern C, Kaissi LE, Kortuem K, Shajari M, Vounotrypidis E, Langenbucher A, et al. Comparing refractive outcomes of a standard industry toric IOL calculator using anterior corneal astigmatism and total corneal refractive power. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2020; 258(2): 345-350. doi: 10.1007/s00417-019-04570-1

9. Park DY, Lim DH, Hwang S, Hyun J, Chung TY. Comparison of astigmatism prediction error taken with the Pentacam measurements, Baylor nomogram, and Barrett formula for toric intraocular lens implantation. *BMC Ophthalmol*. 2017; 17(1): 156. doi: 10.1186/s12886-017-0550-z

10. Xia T, Martinez CE, Tsai LM. Update on intraocular lens formulas and calculations. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila).* 2020; 9(3): 186-193. doi: 10.1097/APO.0000000000000293

11. Goggin M. Toric intraocular lenses: Evidence-based use. *Clin Exp Ophthalmol*. 2022; 50(5): 481-489. doi: 10.1111/ceo.14106

12. Kobashi H, Kamiya K, Shimizu K, Kawamorita T, Uozato H. Effect of axis orientation on visual performance in astigmatic eyes. *J Cataract Refract Surg*. 2012; 38(8): 1352-1359. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.03.032

13. Paritekar P, Nayak A, Umesh Y, Sirivella I, Manoharan S, Khatib Z. Comparison of newer Kane formula with Sanders Retzlaff Kraff/Theoretical and Barrett Universal II for calculation of intraocular lens power in Indian eyes. *Indian J Ophthalmol.* 2022; 70(4): 1203-1207. doi: 10.4103/ijo.IJO_2014_21

14. Ferreira TB, Ribeiro F. How can we improve toric intraocular lens calculation methods? Current insights. *Clin Ophthalmol*. 2020; 14: 1899-1908. doi: 10.2147/OPTH.S238686

15. Priji P, Jacob SC, Kalikivayi L, Kalikivayi V. Correlating Kane formula with existing intraocular lens formulae for corneal curvatures and axial lengths. *Oman J Ophthalmol*. 2021; 14(2): 94-99. doi: 10.4103/ojo.ojo_62_21

16. Tamilarasi S, James Joseph A, Dandapani R. Predictive accuracy of Barrett TK toric calculator compared to measured posterior corneal astigmatism using Pentacam in toric IOL power calculation. *Indian J Ophthalmol*. 2024; 72(4): 582-586. doi: 10.4103/IJO.IJO_1386_23

17. Badakere A, Ghaisas P, Akshya P, Natarajan V, Guha S, Agarkar S. Intraocular lens formula calculation in pediatric eyes: Do we have an answer? A retrospective comparison between Sanders-Retzlaff-Kraff II and Barret's formula. *Indian J Ophthalmol*. 2023; 71(5): 2139-2142. doi: 10.4103/IJO.IJO_3191_22

18. Dong J, Zhang Y, Wang X. Calculation of toric intraocular lens power with the Barrett calculator and data from three keratometers. *J Trop Med*. 2021; 2021: 7712345. doi: 10.1155/2021/7712345

19. Hill WE, Holladay DT, Davidson D, Koper SV. A new era in the treatment of astigmatism: techniques and technologies that destroy old concepts. *New in Ophthalmology*. 2016; 1: 30-36.

20. Бикбов М.М., Оренбуркина О.И., Бабушкин А.Э., Тулякова А.М. Современные подходы к коррекции остаточного астигматизма после операции факоэмульсификации катаракты. *Клиническая офтальмология*. 2022; 22(1): 51-57. [Bikbov MM, Orenburkina OI, Babushkin AE, Tulyakova AM. Current approaches to residual astigmatism correction after phacoemulsification. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology*. 2022; 22(1): 51-57. (In Russ.)]. doi: 10.32364/2311-7729-2022-22-1-51-57

21. Liang J, Liu H, Zhou S, Zhou L, Qian Z, Jiang L, et al. Intraocular lens constant optimization in toric intraocular lens calculation using keratometry and total corneal power. *Eur J Ophthalmol* 2023; 33(1): 230-238. doi: 10.1177/11206721221106136

22. Reitblat O, Levy A, Barnir EM, Assia EI, Kleinmann G. Toric IOL calculation in eyes with high posterior corneal astigmatism. *J Refract Surg*. 2020; 36(12): 820-825. doi: 10.3928/1081597X-20200930-03

Сведения об авторах

Набатова Оксана Сергеевна – кандидат медицинских наук; заведующая хирургическим отделением, врач-офтальмолог высшей категории, Краснодарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: nabatova.oxana@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-0931-9985

Фисенко Андрей Иванович – врач-офтальмолог высшей категории, Краснодарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: fisa76@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9063-1145

Козина Елена Владимировна – врач-офтальмолог высшей категории, Краснодарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: elena_eyedoc@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2959-9649

Лексуткина Евгения Вячеславовна – кандидат медицинских наук, и. о. директора, заместитель директора по лечебной работе, врач-офтальмолог высшей категории, Краснодарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: lexutkina@inbox.ru, https://orcid.org/0009-0009-9446-6701

Information about the authors

Oxana S. Nabatova – Cand. Sc. (Med.), Head of the Surgical Department, Ophthalmologist, Krasnodar Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: nabatova.oxana@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-0931-9985

Andrey I. Fisenko – Ophthalmologist, Krasnodar Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: fisa76@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9063-1145

Elena V. Kozina – Ophthalmologist, Krasnodar Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: elena_eyedoc@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2959-9649

Eugenia V. Leksutkina – Cand. Sc. (Med.); Acting Director, Deputy Clinical Director, Ophthalmologist, Krasnodar Branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: lexutkina@inbox.ru, https://orcid.org/0009-0009-9446-6701

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ
PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

ОЦЕНКА СТРЕССОГЕННОСТИ СИТУАЦИИ СОЦИАЛЬНОГО ОТЧУЖДЕНИЯ РОССИЯН И СТРАТЕГИЙ ЕЁ ПРЕОДОЛЕНИЯ У МОЛОДЁЖИ И СТАРШЕГО ПОКОЛЕНИЯ

Тихомирова Е.В.,
Сапоровская М.В.,
Самохвалова А.Г.

ФГБОУ ВО «Костромской государственный университет» (156005, г. Кострома, ул. Дзержинского, 17/11, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Тихомирова Елена Викторовна,
e-mail: tichomirowa82@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Исследование посвящено изучению субъективной оценки молодёжью и представителями старшего поколения ситуации социального отчуждения России в пространстве международных отношений. Контекст жизни россиян осмыслен авторами через призму психологии социального стресса и совладания с ним, что отражает новизну исследования.

Цель исследования. *Выявить особенности субъективной оценки и когнитивно-поведенческих стратегий преодоления стресса социального отчуждения у молодёжи и старшего поколения.*

Методы. *Сравнительное исследование проведено на стыке идиографического и номотетического подходов. Выборка состояла из 4 эмпирических групп респондентов разных возрастов – 100 человек (мужчины и женщины) от 18 до 78 лет (M = 35,8; SD = 15,3). Методический комплекс включал: интервью на восприятие ситуации отчуждения россиян в современном контексте, обработанное методом контент-анализа; методики «Когнитивная оценка стрессовой ситуации» (Маленова А.Ю., 2015), «Шкала этнонациональных установок» (Хухлаев О.Е., Кузнецов И.М., Ткаченко Н.В., 2018), «Методика диагностики когнитивно-поведенческих стратегий преодоления стрессовой ситуации» (Сизова И.Г., Филиппченкова С.И., 2002), «Опросник личностных изменений» (Парфенова Т.В., 2008).*

Результаты. *Оценка последствий отчуждения амбивалетна, связана как с констатацией снижения качества жизни, ограничением возможностей, так и с интеграцией на уровне нации. Доминирующей эмоцией по отношению к отчуждению является печаль, отражающая сложность ситуации, при этом как стрессогенная она в большей степени оценивается представителями средней взрослости. Стратегии её преодоления направлены у молодых людей на усиление субъективного контроля над ситуацией. В юности восприятие действительности без переноса агрессии на другие этносы, возможно в случае менее выраженных этнических установок.*

Заключение. *Основными субъективными критериями ситуации социального отчуждения как социального стресса являются: разделение стран на «своих» и «чужих»; негативная оценка напряжённости международных отношений; восприятие ограничений планирования; самореализации в будущем.*

Ключевые слова: *социальное отчуждение, субъективная оценка, социальный стресс, преодоление стресса; межэтнические установки*

Статья поступила: 02.05.2024
Статья принята: 30.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Тихомирова Е.В., Сапоровская М.В., Самохвалова А.Г. Оценка стрессогенности ситуации социального отчуждения россиян и стратегий её преодоления у молодёжи и старшего поколения. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 206-220. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.22

ASSESSMENT OF THE STRESSFULNESS OF THE SITUATION OF SOCIAL EXCLUSION OF RUSSIANS AND STRATEGIES FOR OVERCOMING IT AMONG YOUNG PEOPLE AND THE OLDER GENERATION

Tikhomirova E.V.,
Saporovskaia M.V.,
Samokhvalova A.G.

Kostroma State University
(Dzerzhinskogo str. 17/11,
Kostroma 156005, Russian Federation)

Corresponding author:
Elena V. Tikhomirova,
e-mail: tichomirowa82@mail.ru

ABSTRACT

The research is devoted to the study of the subjective assessment by young people and representatives of the older generation of the situation of social exclusion of Russia in the space of international relations. The context of the lives of Russians is comprehended by the authors through the prism of the psychology of social stress and coping with it, which reflects the novelty of the study.

The aim. *To identify the features of subjective assessment and cognitive-behavioral strategies for overcoming the stress of social exclusion among young people and the older generation.*

Methods. *The comparative study was conducted at the intersection of idiographic and nomothetic approaches. The sample consisted of 4 empirical groups of respondents of different ages, a total of 100 people (men and women) from 18 to 78 years old (M = 35.8; SD = 15.3). The methodological complex included: a semi-structured interview, methods "Cognitive assessment of a stressful situation" (Malenova A.Yu., 2015), "Scale of ethno-national attitudes" (Khukhlaev O.E., Kuznetsov I.M., Tkachenko N.V., 2018), "Methods for diagnosing cognitive-behavioral strategies for overcoming a stressful situation" (Sizova I.G., Filippchenkova S.I., 2002), "Questionnaire of personal changes" (Parfenova T.V., 2008).*

Results. *Assessing the consequences of alienation is ambivalent, associated with a decline in the quality of life, limited opportunities, and integration at the national level. The dominant emotion is sadness, reflecting the uncertainty of the situation. It is more assessed as stressful by representatives of middle adulthood. Strategies for overcoming it are aimed at strengthening subjective control over the situation among young people. In youth, perception of reality without transferring aggression to other ethnic groups is possible in the case of less pronounced ethnic attitudes.*

Conclusion. *The main subjective criteria for the situation of social exclusion as social stress are the division of countries into "Ours" and "Strangers"; a prevailing negative assessment of the consequences of tension in international relations; perception of subjective limitations of planning and self-realization in the future.*

Key words: *social alienation, subjective assessment, social stress, coping with stress; interethnic attitudes*

Received: 02.05.2024
Accepted: 30.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Tikhomirova E.V., Saporovskaia M.V., Samokhvalova A.G. Assessment of the stressfulness of the situation of social exclusion of Russians and strategies for overcoming it among young people and the older generation. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 206-220. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.22

ВВЕДЕНИЕ

Резкое осложнение международных отношений привело к постепенной изоляции России и взаимной отчуждённости в мировом сообществе. При этом отмечается, что это происходит на фоне накопленной психологической усталости россиян, с одной стороны, и «сплочения вокруг флага» – с другой [1]. Введение санкций, трансляция негативного отношения к России, проявление агрессии в социальных сетях, визовые ограничения, запрет на использование отдельных цифровых сервисов и платформ лишь фасилитировали данный процесс. Стремление Запада к изоляции россиян на макросоциальном уровне подтолкнуло последних к консолидации, укреплению позитивной этнической идентичности, разделению мира на «своих» и «чужих» («дружественные страны» и «страны-агрессоры»), то есть к взаимной отчуждённости с миром.

Проблема социального отчуждения занимает важное место в современной науке. Учёные отмечают амбивалентную нагрузку отчуждения, уделяя внимание его негативным проявлениям и последствиям как для отдельного субъекта, так и группы. Отмечается, что в ситуациях отчуждения и изоляции усиливается социальная дезадаптация человека [2], фиксируются проявления депрессии, возникновение чувства вины [3], суицидальных мыслей [4], обостряются чувства невостребованности, бессилия, безразличия, одиночества, развиваются фобические состояния [5]. В ситуации отчуждения любой человек испытывает стресс, который, с одной стороны, забирает ресурсы, а с другой – необходим для адаптации к новым условиям и развития. На уровне большой социальной группы, этноса, страны отмечаются аналогичные последствия.

Отмеченные процессы влекут за собой изменения в образе жизни, ментальности, приводят к психологическим перегрузкам человека, повышению уровня повседневного стресса, снижению удовлетворённости жизнью и трудностям в самореализации. В свою очередь это приводит к ухудшению психологического здоровья, которое, по мнению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), определяется психическим и психологическим благополучием, психоэмоциональным состоянием человека. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что психологическое и физическое состояние людей в ситуации хронического повседневного стресса приводит к субъективно ощущаемой беспомощности и бессмысленности усилий. Накапливающееся напряжение постепенно приводит к истощению ресурсов и ухудшению психоэмоционального здоровья и благополучия людей разного возраста [6]. В комплексном плане действий ВОЗ в области психического здоровья на 2013–2030 гг. отмечено, что стресс наряду с другими факторами риска является важной причиной ухудшения психологического, психического и физического здоровья людей. В Глобальных оценках здоровья ВОЗ, опубликованных в 2024 г., отмечается, что неинфекционные заболевания входят в десятку самых распространённых причин смертности людей (в странах со средним и высоким уровнем дохода они входят в топ-3)[1]. По данным Информационного бюллетеня ВОЗ, около 18 % всех проблем здоровья приходится на стресс, депрессию и беспокойство[2]. Таким образом, каузальная связь стресса и здоровья очевидна. Стресс (в том числе социальный) может привести к краткосрочным и долгосрочным проблемам со здоровьем, поэтому актуальность его изучения не снижается. В свою очередь, хронический стресс выступает в качестве контекстуального слоя, на фоне которого люди сталкиваются с другими типами стрессоров (ежедневные неприятности, острые события), что увеличивает риск отсутствия ресурсов, чтобы эффективно справляться с дополнительными стрессорами [7].

Особый контекст жизни современных людей, связанный с переживанием социального отчуждения, требует нового осмысления с точки зрения психологии стресса и совладания.

Социальное отчуждение – это концепция, которая используется в мировой науке для описания современных форм социальных барьеров. Сам термин «отчуждение» (нем. *entfremdung*; англ. *alienation*) означает «отдаление», «отрыв», «прекращение близких отношений между кем-нибудь, внутреннее отдаление». Ситуация отчуждения сопровождается ощущением разобщённости человека с другой личностью, с группой или обществом, с самим собой и может рассматриваться на разных уровнях – антропологическом, социально-культурном и межнациональном [8].

Социальное отчуждение соотносится с процессами, в ходе которых отдельные люди и целые сообщества систематически сталкиваются с ограничениями своих прав, возможностей и ресурсов (например, жилищных условий, занятости, медицинского обслуживания, участия в общественной жизни, демократического участия и т. д.), обычно доступных для других членов общества. Это процесс, при котором человек, группа, ощущают себя отвергнутыми, изолированными или непризнанными в обществе. На макроуровне проблема отчуждения фиксируется в стремлении наций к обособлению, но при этом одновременно и к вынужденному взаимодействию. Этот процесс сопровождается локализацией, сокращением программ взаимодействия, усилением интолерантности, стремлением к доминированию одних наций, государств над другими [9].

Другими словами, это отделение «одних» от «других», что делает невозможным полноценное равноправное участие всех сторон в экономической, социальной и политической жизни общества.

Социальная стигматизация, которая часто сопровождает данные процессы и с которой столкнулось российское общество на мировой арене отношений [10], способна создавать атмосферу межэтнического отчуждения, переживание отчуждения на уровне отдельного человека [11], а также отчуждения нацией собственной системы ценностей, то есть самоотчуждения.

Таким образом, отчуждение на уровне группового и индивидуального самосознания можно рассматривать как социальный стрессор, требующий от человека и от общества ресурсов для совладания.

[1] https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376869/9789240094703-eng.pdf

[2] https://iris.who.int/handle/10665/355464

В психологической науке исследования социального стресса начались в 1960–1970-х гг. Однако при наличии довольно большого количества исследований, изучающих отдельные аспекты социального стресса, практически отсутствует единое понимание сущности этого феномена, его функций; не определён спектр стрессоров, вызывающих его возникновение. До сих пор используются несколько схожих по значению терминов, обозначающих это явление, а именно: «психосоциальный стресс», «социально-психологический стресс», «стресс в обществе». Среди учёных, чьи работы посвящены изучению феноменологии социального стресса, необходимо упомянуть американских исследователей B.S. Dohrenwend, B.P. Dohrenwend, S. Levine, N.A. Scotch, E. Gross, H. Kaplan, G.C. Gleser, B.L. Green, C. Winget. В данных работах началось изучение таких видов стресса, которые вызываются стимулами, генерируемыми обществом. Исследования B.S. Dohrenwend и B.P. Dohrenwend показали, что независимый тип стресса связан с принадлежностью к определённой социальной группе, слою общества. Это особенно верно в отношении низших слоёв общества, члены которого испытывают интенсивный психологический стресс [12]. A.M. Möller-Leimküller использует понятие «стресс в обществе» и рассматривает среди причин стресса в обществе быстрые экономические и социальные изменения, которые приводят к потере социального статуса и нарушению социальной идентичности индивида, войны и связанные с ними миграции населения [13]. «Социальный» стресс – это комплекс физиологических реакций и эмоциональных последствий, возникающих в результате избыточного воздействия на организм различных социальных факторов, среди которых на первый план выходят социальная изоляция и смежные феномены [14]. Также среди наиболее распространённых и значимых причин стресса в обществе выделяют: социальную несправедливость, дискриминацию, нарушение прав отдельных индивидов или групп людей, социально-политическую нестабильность, угрозу безопасности, неоднозначность оценки политических событий, действий политических и государственных деятелей. Политический стресс особенно силен, если политические изменения развиваются интенсивно и быстро. В таких ситуациях изменения происходят недостаточно осознанно, спонтанно, без учёта возможных последствий для различных групп людей, при этом многие люди теряют свой социальный статус, нарушаются права различных групп людей [15].

С началом специальной военной операции произошло усиление санкционного давления, информационного воздействия, стигматизации и отчуждения граждан России в мировом пространстве. В итоге россияне столкнулись с новым источником стресса, который является важнейшим социальным фактором здоровья/нездоровья населения [16]. Всё это определило проблемное поле, новизну и актуальность данного исследования.

Проблемные вопросы – какова специфика субъективной оценки ситуации социального отчуждения и связанного с ней психоэмоционального состояния, а также когнитивно-поведенческих стратегий преодоления социального отчуждения у молодёжи и старшего поколения?

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить особенности субъективной оценки ситуации социального отчуждения россиян и связанного с ней психоэмоционального состояния, а также особенности когнитивно-поведенческих стратегий преодоления социального отчуждения у молодёжи и старшего поколения.

Были выдвинуты следующие предположения:

1. Существуют общие и специфические, связанные с возрастом, особенности субъективной оценки ситуации социального отчуждения россиян в пространстве международных отношений и связанного с ней психоэмоционального состояния.
2. В период юности и молодости существуют специфические взаимосвязи оценки ситуации социального отчуждения россиян с социально-этническими установками личности.
3. Когнитивно-поведенческие стратегии преодоления стресса социального отчуждения имеют статистически значимые отличия у представителей разных возрастных групп.

МЕТОДЫ

Выборка. В исследовании приняли участие 100 человек (мужчины и женщины) от 18 до 78 лет (M = 35,8; SD = 15,3). Выборку составили только те респонденты, которые оценили сложившуюся ситуацию на арене международных отношений России как ситуацию социального отчуждения, а также дали информированное согласие на участие в исследовании. В выборку вошли граждане РФ, проживающие в г. Кострома (58 человек) и Костромской области (42 человека). Все респонденты – жители городов и районных центров. 100 % выборки отнесли себя к пользователям интернет-ресурсов и социальных сетей, отметили, что активно следят за обновлением политических, экономических, социальных новостей.

Респонденты были разделены по возрастному признаку (по Э. Эриксону) на основную исследовательскую группу (юность и ранняя взрослость/молодость) и группу сравнения (средняя и поздняя взрослость), т. е. в исследовании приняли участие 4 возрастных категории. 1-ю группу составили представители юношеского возраста от 18 до 20 лет – 25 человек (M = 19,32; SD = 0,7; 10 юношей и 15 девушек), студенты организаций высшего и среднего профессионального образования, из них 36 % совмещают учёбу и работу; 52 % состоят в романтических отношениях; 44 % проживают совместно с родителями. Во 2-ю группу вошли представители ранней взрослости от 21 до 39 лет – 25 человек (M = 26,1; SD = 8,1; 9 мужчин и 16 женщин), из них 48 % – студенты, преимущественно совмещающие учёбу с работой, остальные – работающие граждане; 60 % отметили средний уровень достатка, 16 % – достаток выше среднего, 8 % – высокий достаток, остальные – ниже среднего; 84 % отметили, что состоят в близких отношениях, из них 62 % – в браке; 48 % имеют 1 ребёнка, 20 % – 2 и более детей. 3-я группа включала представителей средней взрослости от 47 до 59 лет – 25 человек

(M = 53,7; SD = 4,3; 7 мужчин и 18 женщин), 84 % – работающие, 16 % – работающие пенсионеры; 88 % отметили средний достаток, 12 % – достаток выше среднего; 36 % воспитывают несовершеннолетних детей; 72 % состоят в браке, 12 % не находятся в отношениях на данный момент. В 4-ю группу вошли представители поздней взрослости от 62 до 78 лет – 25 человек (M = 69,6; SD = 4; 8 мужчин и 17 женщин), из них 28 % – работающие пенсионеры; 72 % состоят в браке, 20 % – не состоят в отношениях на данный момент; 64 % отметили средний достаток, 20 % – достаток ниже среднего, по 8 % – низкий и высокий достаток. Относительная принадлежность групп к однородным стратам общества по социально-экономическому статусу (уровень дохода, род деятельности, регион проживания) позволяет проводить сопоставительный анализ по изучаемым параметрам: субъективная оценка ситуации социального отчуждения и связанного с ней психоэмоционального состояния, стратегии преодоления, этнонациональные установки, оценка личностных изменений. Следует отметить, что Костромская область – один из субъектов Центрального федерального округа, при этом входит в условный выделенный тип «Северные регионы» (также в него входят Ярославская, Вологодская, Новгородская, Мурманская и другие области), для которых характерны низкая численность населения, высокий образовательный потенциал, относительно высокий уровень заработной платы и др. [17]. В настоящее время, по данным Росстата (за 2023 г.), Костромская область по основным социально-демографическим и экономическим показателям соответствует общероссийским тенденциям: соотношение проживающих в городах и сельской местности; уровень доходов населения; соотношение деторождения и естественной убыли населения (за исключением Москвы и крупных федеральных центров), – что повышает возможность экстраполяции результатов.

Модель исследования построена на субъектно-деятельностном подходе (С.Л. Рубинштейн, А.В. Брушлинский, Л.И. Анциферова, А.Л. Журавлев, Е.А. Сергиенко), позволяющем рассматривать человека в качестве субъекта жизненного пути, преобразующего жизненные ситуации, самостоятельно выстраивающего образ будущего, линии жизненного развития, индивидуальные стратегии совладающего поведения, самодетерминирующего социальную активность, находящего и фиксирующего ресурсы психологического благополучия; а также на социокультурном (экологическом) подходе (К. Левин, У. Бронфенбреннер, Д.С. Лихачев, В.И. Панов, А.А. Реан), рассматривающем развитие человека в контексте его взаимодействия с социальной средой (в т. ч. стрессогенной), предполагающем изучение влияния ситуации социального отчуждения на россиян разных поколений.

Методы исследования. Работа выполнена на стыке идиографического и номотетического подходов в связи с неоднородностью эмпирических референтов (восприятие, субъективная оценка, преодоление).

Методический комплекс включал:

1. Полуструктурированное интервью на восприятие ситуации отчуждения россиян в современном политическом контексте, включающее биографический (пол, возраст, род деятельности, наличие близких отношений, гражданство) и содержательный (позволяет узнать, почувствовали ли респонденты на себе эффекты отчуждения россиян, в чём оно проявляется; сопряжена ли ситуация с личными потерями; является ли эта ситуация значимой для них и какие эмоции/чувства вызывает) блоки.

2. «Когнитивная оценка стрессовой ситуации» А.Ю. Маленовой (2015). Респондентам было предложено оценить ситуацию отчуждения россиян. В основе методики лежит семантический дифференциал, позволяющий дать субъективную оценку ситуации, на основе которой строится ситуационный профиль и определяется степень выраженности каждого ситуационного фактора. Методика представляет собой набор из 17 полярных шкал [18].

3. «Шкала этнонациональных установок» О.Е. Хухлаева, И.М. Кузнецова, Н.В. Ткаченко (2018). Методика изучает аттитюды по отношению к феномену «национальность», содержит четыре субшкалы: националистические установки (неприязненное отношение к представителям иных национальностей); патриотические установки (ощущение гордости за свою национальную принадлежность и связи с людьми «своей национальности»); нейтральные этнонациональные установки (безразличное отношение к своей национальной принадлежности); негативистские этнонациональные установки (отрицательное отношение к феномену национальности и национальной принадлежности) [19].

4. «Методика диагностики когнитивно-поведенческих стратегий преодоления стрессовой ситуации» И.Г. Сизовой, С.И. Филиппченковой (2002). Диагностическая процедура позволяет исходно для анализа задать ситуацию отчуждения россиян в современном политическом контексте. Опросник состоит из 53 утверждений, где предлагаются субшкалы для оценки частоты употребления каждой из описанных стратегий, а также коэффициенты для оценки выраженности конструктивных преобразующих и приспособительных стратегий, включая неконструктивные стратегии преодоления [20].

5. «Опросник личностных изменений» Т.В. Парфеновой (2008). Методика включает 20 пар утверждений, разбитых на четыре шкалы (фактора): «Психологическое благополучие», «Религиозность», «Переживание угрозы экстремального события» и «Поиск ощущений» [21].

Описание процедуры. На первом этапе проанализированы результаты субъективной оценки ситуации социального отчуждения россиян во всех эмпирических группах (авторская анкета и методика «Когнитивная оценка стрессовой ситуации» А.Ю. Маленовой, 2015). На втором этапе исследования был проведён сравнительный анализ когнитивно-поведенческих стратегий преодоления ситуации отчуждения в разных возрастных группах («Методика диагностики когнитивно-поведенческих стратегий преодоления стрессовой ситуации» И.Г. Сизовой, С.И. Филиппченковой, 2002). На третьем этапе изучалась специфика связи восприятия ситуации отчуждения и социально-этнических установок, а также характера личностных изменений на фоне переживаемых событий современного контекста.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследования в четырёх эмпирических группах было проведено полуструктурированное интервью, результаты которого были обработаны методом контент-анализа. В основу были заложены следующие категории: *кто* является субъектом отчуждения (*мы* отчуждаемся или *от нас* отчуждаются); индикаторы отчуждения россиян в международном пространстве; личные последствия/эффекты отчуждения; связанные с отчуждением эмоции, чувства; потенциальные способы преодоления ситуации отчуждения. Содержательные ответы, полнота которых позволяла применить к обработке контент-анализ, была получена у 80 респондентов. Остальные респонденты дали на ряд вопросов краткие и/или обобщённые ответы («не знаю», «затрудняюсь ответить, просто чувствую», «разные»/«негативные чувства», «да»/«нет», «серьёзные последствия» и т. д.). Обобщение может быть индикатором попытки ухода от ответа вследствие того, что предмет вопроса воспринимается как небезопасный. В большей степени пытались давать обобщённые ответы респонденты третьей группы – средняя взрослость (14 человек), также по 3 человека в группах «юность» и «ранняя взрослость».

Результаты представлены в таблице 1.

ТАБЛИЦА 1

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ИНДИКАТОРОВ КАТЕГОРИЙ КОНТЕНТ-АНАЛИЗА РЕЗУЛЬТАТОВ ИНТЕРВЬЮ (*n* = 80)

TABLE 1

FREQUENCY OF OCCURRENCE OF INDICATORS OF CONTENT ANALYSIS CATEGORIES IN THE INTERVIEW RESULTS (*n* = 80)

Категории анализа	Юность	Ранняя взрослость	Средняя взрослость	Поздняя взрослость
Субъект отчуждения				
Субъект отчуждения – мы (россияне)	16 %	8 %	8 %	16 %
Субъект отчуждения – другие страны	88 %	96 %	96 %	84 %
Индикаторы отчуждения россиян на международной арене отношений				
Санкции	40 %	40 %	32 %	96 %
Запрет/ограничения въезда на территории других государств	32 %	16 %	0 %	0 %
Русофобия	28 %	16 %	20 %	0 %
Усложнение условий для поступления россиян в зарубежные ВУЗы	12 %	0 %	0 %	0 %
Потеря уважения к российскому образованию	0 %	20 %	0 %	0 %
Отказ от рыночных отношений	0 %	16 %	0 %	0 %
Уход брендов	0 %	0 %	12 %	0 %
Отказ от общения со стороны родственников из «недружественных» стран	0 %	0 %	0 %	16 %
Последствия отчуждения россиян на личностном уровне				
Трудности удовлетворения потребительских потребностей	32 %	36 %	12 %	16 %
Прекращение/ограничение общения с родственниками и друзьями из других стран	20 %	0 %	0 %	24 %
Ухудшение экономического положения	80 %	84 %	92 %	72 %
Невозможность выезда заграницу (отдых, учеба)	44 %	36 %	28 %	16 %
Чувства/эмоции, связанные с отчуждением				
Печаль	32 %	24 %	56 %	46 %
Презрение	8 %	8 %	8 %	4 %
Страх	4 %	12 %	12 %	0 %
Безразличие	8 %	4 %	16 %	28 %
Гнев	8 %	16 %	0 %	4 %
Волнующий интерес	20 %	12 %	0 %	0 %
Вина	8 %	12 %	0 %	0 %
Стыд	8 %	8 %	0 %	0 %
Способы преодоления ситуации отчуждения				
Прекращение военной операции	12 %	24 %	56 %	72 %
Объединение на уровне нации	28 %	20 %	0 %	4 %
Нет вариантов позитивного исхода	20 %	12 %	0 %	0 %

Установлено, что независимо от возраста в качестве основного индикатора отчуждения россияне рассматривают санкционную политику недружественных стран (введённые санкции). Молодёжь (юность и ранняя взрослость), в отличие от других возрастных групп, указывает в качестве индикаторов «запрет/ограничение въезда на территории других государств», «образовательные барьеры: потеря уважения к российскому образованию, усложнение условий поступления в зарубежные вузы», «отказ от рыночных отношений». Ситуация отчуждения вызывает у молодёжи более широкий спектр чувств, чем у старшего поколения, и для них в большей степени характерно «объединение вокруг флага». При этом их оценка ситуации отличается фаталистичностью и пессимизмом, связанным с прогнозированием необратимости ситуации.

Далее были выявлены статистически значимые различия в оценке ситуации отчуждения россиян (по методике А.Ю. Маленовой, 2015); был использован U-критерий Манна – Уитни для попарного сопоставления групп (табл. 2).

Большинство различий было выявлено между группами юношеского возраста и периода поздней взрослости с преобладанием факторов контроля, лидерства, объективной заданности и значимости в первой группе. Также факторы объективной заданности и контроля преобладают в группе ранней взрослости по сравнению с поздней взрослостью. То есть молодёжь по сравнению с иными возрастными группами воспринимает ситуацию отчуждения как управляемую, имеющую объективные причины, наделяет её личностным и социальным смыслом. По фактору стрессогенности выявлены статистически значимые различия между группами периодов ранней и средней взрослости, а также средней и поздней взрослости в сторону усиления выраженности фактора в период средней взрослости.

Далее был проведён сравнительный анализ когнитивно-поведенческих стратегий преодоления ситуации отчуждения в разных возрастных группах по критерию Краскела – Уоллиса (табл. 3).

Был выявлен ряд статистически значимых различий при множественном сопоставлении групп и ряд различий на уровне тенденций: превосходящая печаль и коррекция ожиданий и надежд. Для уточнения статистической значимости и характера данных различий между группами респондентов был дополнительно проведён попарный анализ независимых выборок с применением критерия Манна – Уитни. Было обнаружено, что превосходящая печаль статистически значимо превалирует в группе респондентов юношеского возраста по сравнению с группой респондентов периода средней взрослости ($U = 54{,}4$; $p = 0{,}009$), а коррекция ожиданий и надежд статистически значимо выше в группах респондентов периодов поздней взрослости ($U = 69{,}8$; $p = 0{,}04$) и юности ($U = 69$; $p = 0{,}041$) по сравнению с периодом средней взрослости. Также была применена поправка Бенъямини – Хохберга, которая показала, что в случае сравнения групп по превосходящей печали уровень статистической значимости корректируется до $p = 0{,}027$ (различие статистически значимо). В случае коррек-

ТАБЛИЦА 2

РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА ОЦЕНКИ СИТУАЦИИ ОТЧУЖДЕНИЯ РОССИЯН РЕСПОНДЕНТАМИ РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ (*n* = 100)

TABLE 2

RESULTS OF A COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ASSESSMENT OF THE SITUATION OF ALIENATION OF RUSSIANS BY THE RESPONDENTS OF DIFFERENT AGE GROUPS (*n* = 100)

Переменные	U-критерий	*p*-level	Ср. ранг 1	Ср. ранг 2
Юность (1) и поздняя взрослость (2)				
Фактор объективной заданности	156,5	0,01	29,39	19,26
Фактор контроля	81	0,00	32,82	16,24
Фактор объективной значимости	147	0,01	29,82	18,88
Фактор лидерства	166	0,02	28,95	19,64
Ранняя взрослость (1) и средняя взрослость (2)				
Фактор стрессогенности	68	0,04	14,59	21,82
Ранняя взрослость (1) и поздняя взрослость (2)				
Фактор объективной заданности	167	0,02	28,91	19,68
Фактор контроля	178	0,04	28,41	20,12
Средняя взрослость (1) и поздняя взрослость (2)				
Фактор стрессогенности	60	0,01	25,55	15,4

ТАБЛИЦА 3

СОПОСТАВИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОГНИТИВНО-ПОВЕДЕНЧЕСКИХ СТРАТЕГИЙ ПРЕОДОЛЕНИЯ СИТУАЦИИ ОТЧУЖДЕНИЯ В РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ (*n* = 100)

TABLE 3

COMPARATIVE ANALYSIS OF COGNITIVE BEHAVIORAL STRATEGIES FOR OVERCOMING THE SITUATION OF ALIENATION IN DIFFERENT AGE GROUPS (*n* = 100)

Стратегии	Стратегии статистически значимые различия)	Значение критерия	Юность (ср. ранг)	Взрослость (ср. ранг)			Уровень статистической значимости
				ранняя	средняя	поздняя	
Конструктивные преобразующие стратегии	Когнитивная репетиция	8,379	44,39	49,43	35,82	31,28	0,04
	Превосходящая печать	6,763	48,66	40,73	26,73	39,18	0,08
	Коррекция ожиданий и надежд	7,335	43,98	34,11	26,36	47,96	0,06
Конструктивные приспособительные стратегии	Позитивное истолкование	19,118	30,75	31,75	41,05	56,54	0,00
Неконструктивные стратегии	Фокусированная на эмоциях	20,255	34,32	27,50	43,00	56,28	0,00

ции ожиданий и надежд для периодов поздней взрослости и юности уровень статистической значимости уходит в тенденцию ($p = 0,06$), а при сравнении юности и средней взрослости различие можно признать статистически значимым ($p = 0,041$).

Таким образом, в периоды юности и ранней взрослости по сравнению с другими возрастными группами преобладают конструктивные преобразующие стратегии «когнитивная репетиция» и «превосходящая печаль», что напрямую согласуется с полученными выше результатами. Ментальное проигрывание сценариев возможного развития событий позволяет воспринимать данную ситуацию как поддающуюся контролю. Коррекция ожиданий и надежд в меньшей степени характерна для периода средней взрослости. Позитивное истолкование (конструктивная приспособительная стратегия) и фокусирование на эмоциях (неконструктивная стратегия) статистически значимо превалируют в более зрелом возрасте.

Важный шаг исследования – изучение специфики связи восприятия ситуации отчуждения, социально-этнических установок, характера личностных изменений на фоне переживаемых событий современного контекста и когнитивно-поведенческих стратегий преодоления (использован критерий Ч. Спирмена). Наиболее интересные результаты представлены в виде корреляционных плеяд, отражающих специфику связи показателей в разных возрастных группах (рис. 1–4, где: $r > 0$ при $p \leq 0,01$ – двойная сплошная линия; $r > 0$ при $p \leq 0,05$ – одна сплошная линия; $r < 0$ при $p \leq 0,01$ – двойная пунктирная линия; $r < 0$ при $p \leq 0,05$ – одна пунктирная линия).

Обращает на себя внимание прямая связь нейтральных националистических установок в юношеском возрасте, которые говорят о толерантности к другим национальностям, но более безразличному отношению к своей, и общего коэффициента конструктивности копинга, а также их обратная связь с неконструктивными стратегиями. Обратные им националистические установки напрямую связаны только с одной копинг-стратегией – «Придание ситуации нетривиального смысла», когда человек считает, что он страдает больше, чем другие, так как он особенный, и это испытание не зря выпало именно на него, в результате ситуация утрачивает резко негативный смысл.

Поддержание позитивного самоотношения, психологического благополучия и развитие осмысленности жизни в ситуации социального отчуждения по национальному признаку напрямую связано с когнитивной репетицией возможных вариантов решения ситуации и её развития в данном возрасте. Ощущение контролируемости и объективной заданности ситуации отчуждения возможно при неиспользовании стратегии «Идентификация себя со счастливчиком».

В ранней взрослости националистические установки обратно связаны с конструктивными приспособительными стратегиями и прямо связаны со стратегией «Отрицание», которая означает отказ принять ситуацию как сложную, трагичную, сохраняя ресурсность личности. Благодаря этому возможно постепенно ассимилировать ситуацию отчуждения в ценностно-смысловую сферу, после чего появляется новая оценка действительности, увеличивается пространство личного будущего. Ориентированность на свою национальную принадлежность и интолерантность к «другим» позволяют справиться с ситуацией отчуждения либо через обесценивание, либо через наделение её особым личностным смыслом. При этом поддержание психологического благополучия и позитивного самоотношения в данном ситуативном контексте возможно при обесценивании ее значения (объективной значимости). Стоит отметить, что в данной возрастной группе восприятие стрессогенности и в то же время лидерства

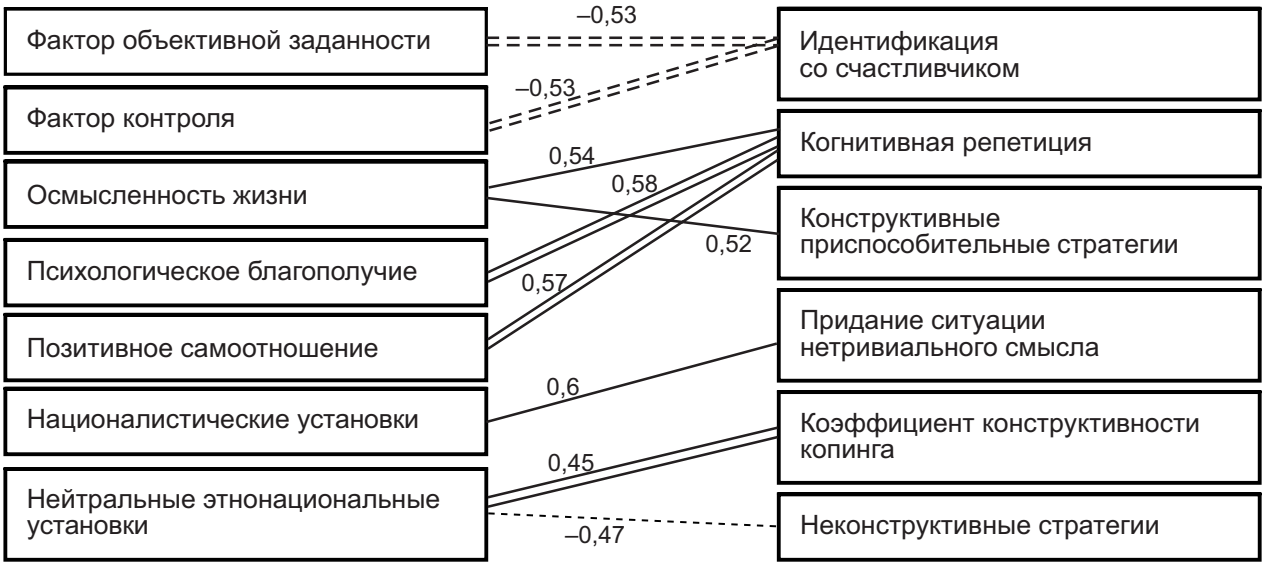


РИС. 1.
Корреляционная плеяда связей когнитивной оценки ситуации отчуждения, социально-этнических установок, характера личностных изменений и стратегий преодоления в группе юношеского возраста (n = 25)

FIG. 1. *Correlation pleiade of relationships between cognitive assessment of the situation of alienation, socio-ethnic attitudes, the nature of personal changes and coping strategies in the group of adolescence (n = 25)*

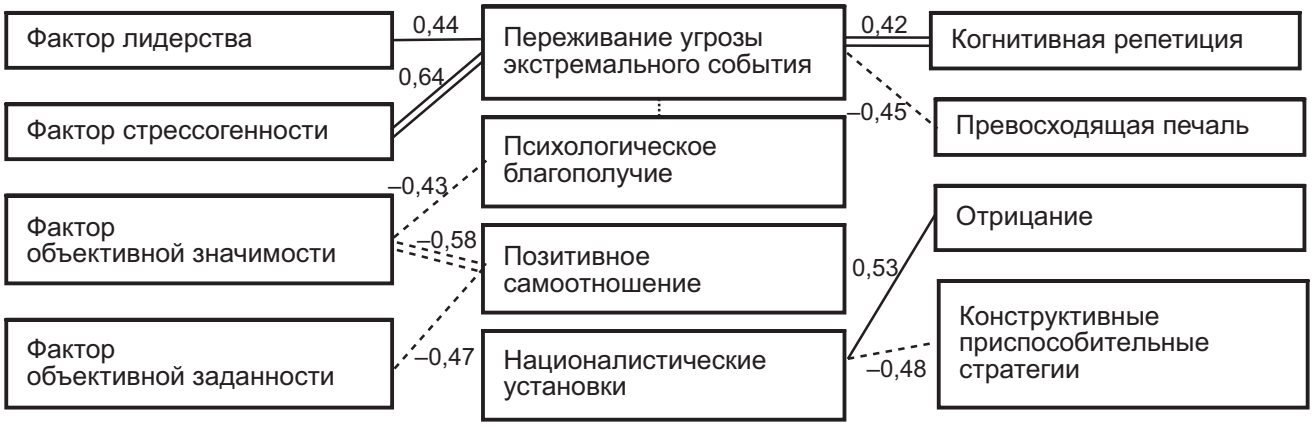


РИС. 2.
Корреляционная плеяда связей когнитивной оценки ситуации отчуждения, социально-этнических установок, характера личностных изменений и стратегий преодоления в группе ранней взрослости (n = 25)

FIG. 2.
Correlation pleiade of relationships between cognitive assessment of the situation of alienation, socio-ethnic attitudes, the nature of personal changes and coping strategies in the group of early adulthood (n = 25)

(«я в силах что-то изменить») в ситуации отчуждения возрастает при переживании угрозы контекста.

В период средней взрослости обращает на себя внимание обратная связь нейтральных этнонациональных установок (безразличное отношение к национальной принадлежности) и конструктивных приспособительных стратегий преодоления ситуации отчуждения и прямая связь с неконструктивной стратегией «ухода от ситуации».

Стоит отметить обратные связи в более зрелом возрасте фактора стрессогенности ситуации отчуждения и националистических установок, а также стратегии ухода от ситуации, обратные связи религиозности и целого ряда когнитивно-преобразующих стратегий.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Россияне независимо от возраста склонны рассматривать отчуждение как отдаление *от них* стран западного мира. Это позволяет современникам поддерживать дружественный образ нации, сохранять целостность и идентичность, что является проявлением «социального оптимизма» [22].

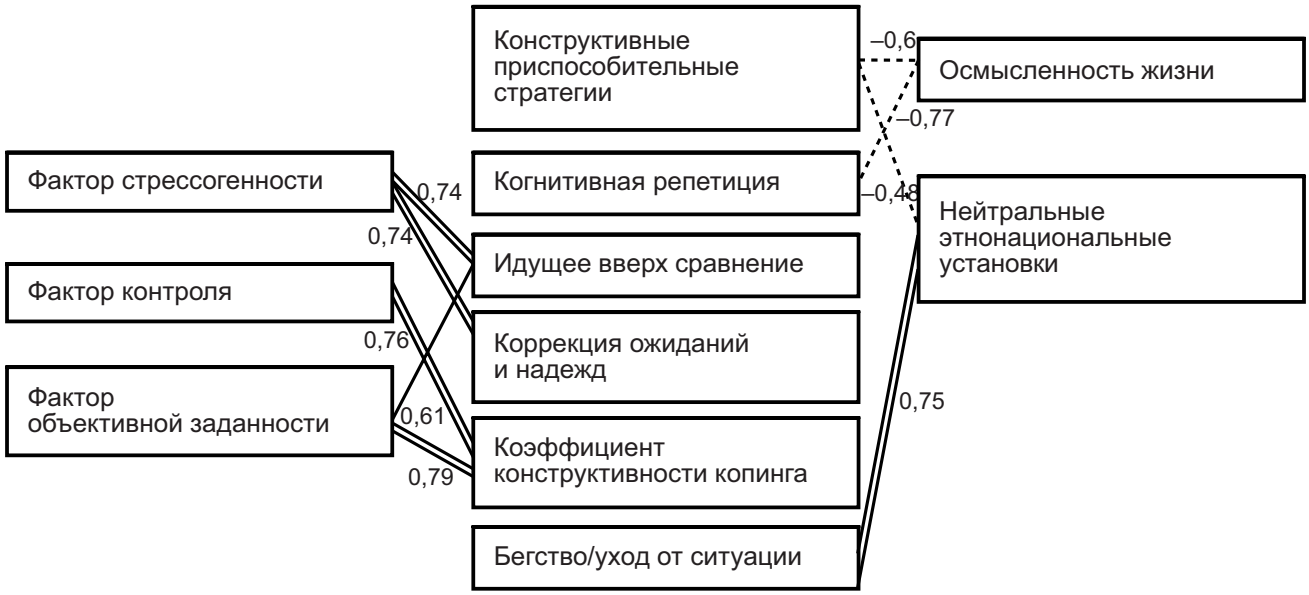


РИС. 3.

Корреляционная плеяда связей когнитивной оценки ситуации отчуждения, социально-этнических установок, характера личностных изменений и стратегий преодоления в возрастной группе средней взрослости (n = 25)

FIG. 3.

Correlation pleiade of relationships between cognitive assessment of the situation of alienation, socio-ethnic attitudes, the nature of personal changes and coping strategies in the age group of middle adulthood (n = 25)



РИС. 4.

Корреляционная плеяда связей когнитивной оценки ситуации отчуждения, социально-этнических установок, характера личностных изменений и стратегий преодоления в возрастной группе поздней взрослости (n = 25)

FIG. 4.

Correlation pleiade of relationships between cognitive assessment of the situation of alienation, socio-ethnic attitudes, the nature of personal changes and coping strategies in the age group of late adulthood (n = 25)

Как показало данное исследование, отчуждение россияне независимо от возраста прежде всего усматривают в вводе санкций и ограничений, в том числе связанных с получением виз, въездом на ряд территорий, экономической блокадой и проявлений русофобии (предвзятость, негативные оценки русских в СМИ и др.), особенно транслируемой в некоторых социальных сетях и интернет-платформах, например: *«Неприятно, когда читаешь, как пишут о русских в некоторых социальных сетях»; «Больше не захожу в эту социальную сеть, когда все это началось, это стало настоящим стрессом и испытанием», «Это настоящая травля, закрыла свой аккаунт, больше не захожу».* Молодёжь наиболее остро воспринимает также то, что непосредственно связано с ограничением возможностей получения образования, ликвидного за рубежом, а также свободы передвижения, которая напрямую коррелирует с чувством свободы в целом: *«Жаль, что нас ограничили», «Теперь как будто мы отделены от мира или его части».* Именно в юношеском возрасте важно исследовать собственную идентичность, «выходить за пределы собственного «Я», своей ментальности, культуры, мезосоциума, осмысливать мир как «открытый для себя» [23].

С возрастом всё более остро воспринимается возникновение барьеров на уровне реализации и поддержания близких отношений, отчуждение на политическом

уровне интегрируется с постепенным внутрисемейным отчуждением родственников, проживающих на «недружественных территориях». Для данной группы ограничение общения с родственниками является источником отчуждения в семье, переживания субъективного одиночества, незащищённости: «*Беспокоит, что не смогу общаться с дочерью*», «*Боюсь одиночества, так как родные далеко*», «*Обидно, что семья разделилась*», «*Всё время переживаю, что больше не увижу брата, перестал звонить, воспринимает теперь как врагов*». Это соотносится с результатами многочисленных исследований, продемонстрировавших, что самыми счастливыми и здоровыми среди пожилых людей являются те, кто включён в одну или несколько систем близких отношений, которые играют поддерживающую, ресурсную роль в поддержании жизнеспособности и жизнестойкости человека [24, 25]. Стоит отметить, что и в других возрастных группах прослеживается связь ответов с потребностями, отражающими специфику социальной ситуации развития личности.

На вопрос, каким образом лично на респондентах отразилась ситуация отчуждения россиян, были получены как общие для всех возрастных групп, так и специфичные ответы. Большинство респондентов независимо от возраста отметили снижение уровня и качества собственной жизни: «*Напряжённая ситуация с финансами в семье*», «*Приходится постоянно включать ВПН*», «*Увеличились цены на все виды товаров*», «*Стало напряжённо жить*», «*Постоянное внимание к безопасности*», «*Привело к санкциям, из-за которых изменился рынок в очень многих сферах*», «*У людей со средним достатком практически нет возможности путешествовать в другие страны*» и др.

С точки зрения возрастной специфики, можно отметить, что в более молодом возрасте люди в качестве последствий отчуждения, которые они испытали на себе, отмечают трудности удовлетворения потребительских потребностей – «невозможность покупки зарубежных товаров, того, что нравится, к чему привык», что может быть связано с более выраженной гедонистической установкой у молодёжи. Также представители юношеского возраста и поздней взрослости отметили, что серьёзным негативным эффектом отчуждения для них является «прекращение или ограничение общения с родственниками и друзьями из других стран», в том числе из Украины (юность – 20 %, поздняя взрослость – 24 %). В юношеском возрасте потребность в эмоционально-насыщенных отношениях, эмоционально-чувственной интимности достаточно ярко выражена. Утрата общения с друзьями, невозможность расширять круг общения за границей русского мира косвенно лишает молодого человека ощущения принадлежности к «молодёжи» на макросоциальном уровне, что в свою очередь затрудняет обретение чувства благополучия. Пожилые люди также нуждаются в общении, оно позволяет ощущать себя нужным, не одиноким, чувствовать уверенность в завтрашнем дне. В данном случае важно не только количество, но и качество коммуникации с окружающими. У многих родные уехали в другие страны, и они потеряли возможность непосредственно увидеться с ними.

Одной из значимых категорий анализа стали эмоции, чувства, связанные с ситуацией отчуждения. Доминирующей эмоцией, возникающей в ответ на отчуждение, во всех группах является «печаль». Также присутствуют «презрение», «страх», «безразличие», «гнев» (за исключением представителей средней взрослости) и др. В некоторых ответах прослеживается чувство обиды. В открытых ответах-пояснениях респонденты отмечали: «печально», «ситуация не может не огорчать», «обидно, что к нам так относятся», «это не приятно, когда в социальных сетях читаешь то, что говорят о русских», «страшно за наших детей, им придётся жить во враждебном мире», «в жизни появилось больше страха и беспокойства», «переживания за страну, за людей и за себя в том числе, нет уверенности в завтрашнем дне», «психологически давление на психику», «мне грустно». Превалирующая в данном контексте отрицательная эмоциональность может способствовать сужению ментального видения, снижению гибкости поведения в данной ситуации и рациональности её когнитивной оценки, повышать уязвимость респондентов в информационной среде в условиях целенаправленного нецивилизованного воздействия. Постепенно происходит смещение внимания в сторону угрозы, нейтральные сообщения интерпретируются как негативные, таким образом создаются и усиливаются предпосылки для тревожных переживаний. Необходимо отметить, что наиболее ярко выражена негативная валентность переживаемых эмоций в период средней взрослости, однако их спектр более узкий: печаль, страх, безразличие, презрение. В юности и ранней взрослости присоединяются такие чувства, как «волнующий интерес», «вина» и «стыд» (в диапазоне 8–20 %).

Чувства вины и стыда, проявляющиеся в юности и ранней взрослости, но отсутствующие в средней и поздней взрослости, можно объяснить разницей восприятия социального и исторического контекста. Мы можем предположить, что представители поздней и средней взрослости воспринимают агрессию со стороны Запада через призму отстаивания и защиты своей Родины, в аспекте сохранения национальной гордости, так как в сознании проводится параллель между актуальными событиями и Второй мировой войной. В связи с этим к агрессии и негативному отношению со стороны Запада старшее поколение испытывает в некоторой степени безразличие, более ровное отношение, их тревожит не само отчуждение, а последствия, которые связаны с ограничением общения с близкими. Молодёжь более чувствительна к внешней негативной оценке, спектр их эмоций шире: вина, стыд, гнев, презрение, волнующий интерес. Спектр переживаемых чувств и эмоций в ситуации, которая несёт в себе глубокую смысловую нагрузку, характеризуется неопределённостью и неоднозначностью, согласуется с активным экзистенциальным процессом поиска себя в VUCA-мире (Volatility, Uncertainty, Complexity, Ambiguity) [26], по отношению к нему, самоопределения и смыслопорождения, то есть высокой рефлексивностью юношей и девушек [27].

Для юношеского возраста характерны ответы, в которых прослеживается некоторая степень взаимной отчуждённости и усиление чувств «объединения вокруг флага», который можно расценивать как защитный или компенсаторный механизм [28]. Фатализм восприятия ситуации («у России нет вариантов выхода из ситуации отчуждения») более характерен также для более молодых возрастных групп, что можно объяснить возрастным максимализмом и социальным пессимизмом.

Таким образом, ситуация социального отчуждения россиян независимо от возраста оказывает влияние на психологическое состояние человека, несёт в себе стрессогенную нагрузку, так как демонстрирует агрессивность социальной среды, недружественность этносов, нестабильность современного мира, смену привычных ценностей. Отчуждение вызывает широкий спектр негативных эмоций, что также отображает её значимость и стрессогенность. С другой стороны, респонденты на фоне отчуждения демонстрируют позитивное отношение к своему этносу и этнической принадлежности.

Фактор стрессогенности ситуации отчуждения россиян превалирует у представителей средней взрослости – они в большей степени переживают за будущее своих детей, за круг их возможностей, который со временем значительно сужается, что согласуется и с результатами контент-анализа, то есть с переживаемыми в данном контексте отрицательными эмоциями. У представителей юности и ранней взрослости выше других уровень воспринимаемого контроля ситуации отчуждения. Молодёжь видит возможности и варианты для выстраивания собственной жизни в обход сложившегося контекста, выбирает более адаптивные стратегии. «Фактор объективной заданности» также превалирует в молодом возрасте; в юности и ранней взрослости ситуация отчуждения более критично осмысливается, рассматриваются объективные и логичные основания для её проявления. Молодёжь чувствует подконтрольность данной ситуации, её относительную управляемость, что, в свою очередь, снижает стрессогенную нагрузку.

Это соотносится с тем, что для представителей юности и ранней взрослости в большей степени характерно использование конструктивных преобразующих стратегий преодоления. В юности статистически значимо превалирует стратегия «превосходящая печаль», в ранней взрослости – «когнитивная репетиция»; обе позволяют проигрывать варианты развития событий, своё поведение в них и потенциально возникающие чувства. Такие стратегии ближе к рациональному восприятию ситуации отчуждения и деятельному отношению к ней. Вероятно, стресс отчуждения в данном случае выступает как стресс-ресурс, позволяющий мобилизовать и актуализировать латентные силы и ресурсы для совладания с ситуацией [29]. При этом в период средней взрослости стрессогенность выше и может сопровождаться стресс-симптомами. В период пандемии было выявлено, что отчуждение, социальная отгороженность коррелируют с ожиданием угрозы, чувством одиночества и являются психологическим спутником посттравматического стрессового расстройства [30]. В связи с этим представители данной возрастной категории наиболее уязвимы и требуют психосоциальной поддержки в современном контексте жизни.

Были выявлены специфические связи восприятия ситуации отчуждения, стратегий её преодоления в зависимости от социально-этнических установок и характера личностных изменений на фоне переживаемых событий современного контекста. В юношеском возрасте в случае менее выраженных этнических установок молодёжи свойственно более конструктивное поведение в данной ситуации, рациональное и адекватное восприятие действительности без переноса агрессии на другие этносы.

В данном возрастном периоде для сохранения позитивного восприятия себя, своей жизни, видения перспектив в стрессогенном социокультурном контексте необходимо ориентироваться на возможные варианты позитивного изменения ситуации, проигрывать конструктивные исходы, переосмысливая ситуацию и извлекая из неё позитивный опыт. Вера в то, что россияне способны справиться с данной ситуацией и наладить привычный стиль жизнедеятельности, придаёт сил, смысл жизни, у молодого человека появляется переживание уверенности в себе, своих силах, а также в силах страны, её способности преодолеть трудности, справиться с ситуацией социально-этнического отчуждения на международной арене отношений.

У представителей ранней взрослости ситуация отчуждения воспринимается как стрессогенное событие на фоне переживания угрозы, которая исходит из данного контекста, и связана с субъективной оценкой риска стать жертвой этого события. При этом чем выше у них развиты националистические установки, чем больше они ощущают превосходство своей страны, тем реже используют стратегии преодоления, направленные на изменение собственных характеристик и отношения к ситуации, то есть более радикальны в оценке ситуации.

ВЫВОДЫ

Данное исследование показало, что сложившаяся внешнеполитическая ситуация России воспринимается и субъективно оценивается людьми разного возраста как ситуация социального отчуждения, объективными индикаторами которой является введение санкций и ограничений, проявление русофобии. Существует возрастная специфика в определении индикаторов ситуации социального отчуждения: молодёжь более чувствительна к ограничениям академической мобильности и образовательных возможностей (что связано с определением жизненных планов и перспектив); люди среднего возраста отмечают снижение качества жизни и ограничение возможностей (например, путешествий); люди старшего поколения отмечают отчуждение в семье, ухудшение качества близких отношений (если члены семьи живут в разных странах). Мы не утверждаем, что это характерно для всех жителей России – существуют серьёзные ограничения в генерализации результатов исследо-

вания. Но, безусловно, есть основания говорить о выраженности определённых тенденций.

Важным признаком стрессогенности ситуации социального отчуждения является негативная эмоциональность (грусть, тоска, печаль, гнев и др.), связанная с её когнитивной оценкой. Это «запускает» механизмы преодоления и совладания. Больше, чем другие, стрессовую нагрузку данной ситуации испытывают респонденты средней взрослости. Этот факт требует дополнительной верификации и осмысления, т. к., возможно, данный ситуационный контекст «наслаивается» на другие стрессоры, что может привести к чрезмерности стрессовых нагрузок. Однако анализ стратегий преодоления социального отчуждения показывает, что у молодых людей они направлены на усиление субъективного контроля над ситуацией, что повышает уверенность не только в своих силах, но и в силах страны. При этом в юношеском возрасте более конструктивное поведение в данной ситуации, рациональное и адекватное восприятие действительности без переноса агрессии на другие этносы возможно в случае менее выраженных этнических установок.

Таким образом, в данном исследовании сделана попытка осмыслить контекст жизни россиян через призму психологии психоэмоционального благополучия, социального стресса и совладания с ним, что отражает новизну исследования.

Ограничения

Данное исследование имеет ряд существенных ограничений для генерализации данных, связанных с малочисленностью исследовательских групп, гомогенностью их состава (жители провинциальных городов и сельской местности, работающие в бюджетной сфере), а также с отсутствием сопоставления результатов по полу. Перспектива дальнейших исследований видится в расширении выборки, более детальной дифференциации маркеров и последствий социального отчуждения россиян.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Этический комитет

В соответствии с Федеральным законом от 27.07.2006 № 152-ФЗ «О персональных данных» все испытуемые дали информированное согласие на участие в исследовании до начала его проведения. Респонденты были проинформированы о цели исследования и дали разрешение на использование полученных данных. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г., пересмотренной в 2013 г. Протокол был одобрен Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Костромской государственный университет» (№ 7 от 05.03.2024).

Благодарности

Авторы статьи благодарят за помощь в сборе и обработке эмпирических материалов студентку направления подготовки «психология» Юлию Козлову.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ «Социализация, идентичность и жизненные стратегии молодёжи в условиях “новых войн”» (№ FZEW-2023-0003).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Нестик Т.А. Влияние военных конфликтов на психологическое состояние общества: перспективные направления исследований. *Социальная психология и общество.* 2023; 14(4): 5-22. [Nestik TA. The influence of military conflicts on the psychological state of society: Promising areas of research. *Social Psychology and Society*. 2023; 14(4): 5-22. (In Russ.)]. doi: 10.17759/sps.2023140401

2. Молодцова Т.Д., Шалова С.Ю. Влияние отчуждения подростков на возникновение их социальной дезадаптации. *Проблемы современного педагогического образования*. 2019; 63(3): 294-297. [Molodtsova TD, Shalova SYu. The influence of adolescent alienation on the occurrence of their social maladjustment. *Problems of Modern Pedagogical Education*. 2019; 63(3): 294-297. (In Russ.)].

3. Метелкина А.А. Проявление депрессии, аккультурационного стресса и чувства вины у эмигрантов. *Проблемы современного образования*. 2020; 6: 59-67. [Metelkina AA. The manifestation of depression, acculturation stress and guilt in emigrants. *Problems of Modern Education*. 2020; 6: 59-67. (In Russ.)]. doi: 10.31862/2218-8711-2020-6-59-70

4. Zhu J, Xie P, Zhang X. Social exclusion and suicide intention in Chinese college students: A moderated mediation model. *Front Psychol*. 2024; 15: 1354820. doi: 10.3389/fpsyg.2024.1354820

5. Агамиров К.В., Григорьева М.А. Отчуждение личности и тревожность как факторы отклоняющегося поведения. *Юридическая наука*. 2016; 6: 5-9. [Agamirov KV, Grigorieva MA. Personal alienation and anxiety as factors of deviant behavior. *Legal Science*. 2016; 6: 5-9. (In Russ.)].

6. Schneiderman N, Ironson G, Siegel SD. Stress and health: Psychological, behavioral, and biological determinants. *Annu Rev Clin Psychol*. 2005; 1: 607-628. doi: 10.1146/annurev.clinpsy.1.102803.144141

7. Epel ES, Crosswell AD, Mayer SE, Prather AA, Slavich GM, Puterman E, et al. More than a feeling: A unified view of stress measurement for population science. *Front Neuroendocrinol.* 2018; 49: 146-169. doi: 10.1016/j.yfrne.2018.03.001

8. Смолева Е.О. Социальное отчуждение: анализ теоретических подходов. *Вопросы территориального развития.* 2016; 4(34): 7-14. [Smoleva EO. Social alienation: An analysis of theoretical approaches. *Territorial Development Issues*. 2016; 4(34): 7-14. (In Russ.)].

9. Комиссаренко С.С. Отчуждение как культурологическая проблема в эпоху глобальных перемен. *Мировое развитие: проблемы предсказуемости и управляемости: XIX Международные Лихачевские научные чтения* (*22–24 мая 2019 г.*) СПб.: СПбГУП; 2019: 352-353. [Komissarenko SS. Alienation as a cultural problem in an era of global change. *World Development: Problems of Predictability and Controllability: Proceedings of the XIX International Likhachev Scientific Readings* (*May 22–24, 2019)*. St. Pe-

tersburg: Saint Petersburg State Pedagogical University; 2019: 352-353. (In Russ.)].

10. Капицын В.М. Стигматизация как угроза национальной идентичности (уроки прошлого для настоящего). *Вестник Института социологии.* 2023; 14(1): 45-66. [Kapitsyn VM. Stigmatisation as a threat to national identity (lessons for the present from the past). *Bulletin of the Institute of Sociology*. 2023; 14(1): 45-66. (In Russ.)]. doi: 10.19181/vis.2023.14.1.3

11. Paskaleva-Yankova A. Interpersonal and intersubjective alienation in social stigmatization and depression. *Psychopathology.* 2022; 55(3-4): 201-210. doi: 10.1159/000519253

12. Dohrenwend BS. Social status and stressful life events. *J Pers Soc Psychol*. 1973; 28(2): 225-235. doi: 10.1037/h0035718

13. Möller-Leimküller AM. Societal stress and stress-related disorders by gender. *Soc Clin Psychiatry*. 2004; 14(4): 5-11.

14. Ясенявская А.Л., Мурталиева В.Х. «Социальный» стресс как модель оценки эффективности новых стресс-протекторов. *Астраханский медицинский журнал.* 2017; 12(2): 23-35. [Yasenyavskaya AL, Murtalieva VKh. Social stress as a model of evaluation of efficiency of new stress protectors. *Astrakhan Medical Journal*. 2017; 12(2): 23-35. (In Russ.)].

15. Штемберг А.С. Социальный стресс и психологическое состояние населения России. Часть 1. Общественно-политические процессы, формирующие социальный стресс. *Пространство и время.* 2014; 1(15): 187-195. [Shtemberg AS. Social stress and psychological status of Russian population. Part 1. Social and political processes forming of social stress. *Space and Time*. 2014; 1(15): 187-195. (In Russ.)].

16. Нестик Т.А. Психологическое состояние российского общества в условиях СВО. *СоциоДиггер;* 2023; 4(9(28)). [Nestik TA. Psychological state of Russian society in the conditions of special military operation. *SotsioDigger.* 2023; 4(9(28)). (In Russ.)]. URL: https://sociodigger.ru/articles/articles-page/psikhologicheskoe-sostojanie-rossiiskogo-obshchestva-v-uslovijakh-svo [дата доступа: 30.11.2023].

17. Брут-Бруляко А.А. *Определение стратегических направлений регионального развития на основе метода типологий*: автор. дис. … канд. экон. наук. Иваново; 2012. [Brut-Brulyako AA. *Determination of strategic directions of regional development based on the typology method:* Abstract of the Dissertation of Cand. Sc. (Econ.). Ivanovo; 2012. (In Russ.)].

18. Маленова А.Ю., Потапова Ю.В. К вопросу о способах диагностики когнитивной оценки стрессовых ситуаций. *Психодиагностика в современном мире*. Екатеринбург; 2015: 126-132. [Malenova AYu, Potapova YuV. On the methods of diagnostics of cognitive assessment of stressful situations. *Psychodiagnostics in the Modern World.* Yekaterinburg; 2015: 126-132. (In Russ.)].

19. Хухлаев О.Е., Кузнецов И.М., Ткаченко Н.В. Разработка и адаптация методики «Шкала этнонациональных установок». *Психология. Журнал Высшей школы экономики*. 2018; 15(3): 527-541. [Khukhlaev OE, Kuznetsov IM, Tkachenko NV. Development and adaptation of the ethno-national attitudes scale. *Psychology. Journal of the Higher School of Economics*. 2018; 15(3): 527-541. (In Russ.)]. doi: 10.17323/1813-8918-2018-3-527-541

20. Сизова И.Г., Филипченкова С.И. Методика диагностики когнитивно-поведенческих стратегий преодоления. *Современная психология: состояние и перспективы исследований: Материалы юбилейной научной конфференции Института психологии РАН*. М.: ИП РАН; 2002: 180-199. [Sizova IG, Filipchenkova SI. Methodology for diagnosing cognitive behavioral coping strategies. *Modern Psychology: State and Prospects of Research: Proceedings of the Anniversary Research Conference of the Institute of Psychology RAS*. Moscow: Institute of Psychology RAS; 2002: 180-199. (In Russ.)].

21. Карпинский К.В., Колышко А.М., Парфёнова Т.В. *Современные методы психологической диагностики.* Гродно: ГрГУ; 2022: 314-340. [Karpinsky KV, Kolyshko AM, Parfenova TV. Modern methods of psychological diagnostics. Grodno: Grodno State University; 2022: 314-340. (In Russ.)].

22. Нестик Т.А. Социальный оптимизм в условиях кризиса: от защитных механизмов к постановке совместных целей. *Проектирование будущего. Проблемы цифровой реальности: Труды 6-й Международной конференции (Москва, 2–3 февраля 2023 г.).* М.: ИПМ им. М.В. Келдыша; 2023: 140-145. [Nestik TA. Social optimism in times of crisis: From protective mechanisms to setting joint goals. *Designing the Future. Problems of Digital Reality: Proceedings of the 6th International Conference (Moscow, February 2–3, 2023).* Moscow: Keldysh Institute of Applied Mathematics; 2023: 140-145. (In Russ.)].

23. Иванова А.Н. Путешествия как потребность в самотрансценденции. *Вестник Томского государственного университета*. 2015; 395: 51-58. [Ivanova AN. Travelling as a need in self-transcendence. *Bulletin of Tomsk State University*. 2015; 395: 51-58. (In Russ.)]. doi: 10.17223/15617793/395/8

24. Smith TW. Relationships matter: Progress and challenges in research on the health effects of intimate relationships. *Psychosom Med*. 2019; 81(1): 2-6. doi: 10.1097/PSY.0000000000000660

25. Shrout MR. The health consequences of stress in couples. A review and new integrated dyadic biobehavioral stress model. *Brain Behav Immun Health*. 2021; 16: 100328. doi: 10.1016/j.bbih.2021.100328

26. Макеева Е.А., Макеева И.А., Логинова Е.В. Особенности социальной адаптации личности в условиях VUCA-мира. *Гуманитарные, социально-экономические и общественные науки*. 2021; 11(1): 55-58. [Makeeva EA, Makeeva IA, Loginova EV. The peculiarities of personal social adaptation in the conditions of VUCA world. *Humanities, Social-Economic and Social Sciences*. 2021; 11(1): 55-58. (In Russ.)]. doi: 10.23672/q5737-5749-0512-n

27. Вязникова Л.Ф., Ткач Е.Н., Вырупаева А.О. *Психология переживания одиночества в юности и молодости*. Хабаровск: Тихоокеанский государственный университет; 2019: 26-30. [Vyaznikova LF, Tkach EN, Vyrupaeva AO. *Psychology of the experience of loneliness in adolescence and young adulthood*. Khabarovsk: Pacific State University; 2019: 26-30. (In Russ.)].

28. Казун А.Д. Эффект "rally around the flag". Как и почему растет поддержка власти во время трагедий и международных конфликтов? *Полис. Политические исследования*. 2017; 1: 136-146. [Kazun AD. "Rally around the flag" effect. How and why support of the authorities grows during international conflicts and tragedies? *Polis. Political Studies*. 2017; 1: 136-146. (In Russ.)]. doi: 10.17976/jpps/2017.01.12

29. Крюков С.Н. Феномен стресса в контексте философско-культурологической проблематики. *Вестник культуры и искусств.* 2019; 2(58): 82-92. [Kryukov SN. Stress phenomenon in the context of philosophical and culture studies problematics. *Culture and Arts Herald*. 2019; 2(58): 82-92. (In Russ.)].

30. Акарачкова Е.С., Беляев А.А., Блинов Д.В., Бугорский Е.В., Кадырова Л.Р., Котова О.В., и др. Эпидемия COVID-19. Стресс-связанные последствия. *Клинический разбор в общей*

медицине. 2020; 2: 16-24. [Akarachkova ES, Belyaev AA, Blinov DV, Bugorskii EV, Kadyrova LR, Kotova OV, et al. COVID-19 pandemic. Effects of stress. *Clinical Review for General Practice*. 2020; 2: 16-24. (In Russ.)]. doi: 10.47407/kr2020.1.2.00013

Сведения об авторах

Тихомирова Елена Викторовна – кандидат психологических наук, доцент, доцент кафедры общей и социальной психологии, заместитель директора Института педагогики и психологии по научно-исследовательской деятельности, ФГБОУ ВО «Костромской государственный университет», e-mail: tichomirowa82@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3844-4622

Сапоровская Мария Вячеславовна – доктор психологических наук, доцент, профессор кафедры общей и социальной психологии, заведующая кафедрой общей и социальной психологии, ФГБОУ ВО «Костромской государственный университет», e-mail: saporov35@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0852-1949

Самохвалова Анна Геннадьевна – доктор психологических наук, доцент, профессор кафедры педагогики и акмеологии личности, директор Института педагогики и психологии, ФГБОУ ВО «Костромской государственный университет», e-mail: a_samohvalova@kosgos.ru, https://orcid.org/0000-0002-4401-053X

Information about the authors

Elena V. Tikhomirova – Cand. Sc. (Psychol.), Docent, Associate Professor at the Department of General and Social Psychology, Deputy Director of the Institute of Pedagogy and Psychology for Research, Kostroma State University, e-mail: tichomirowa82@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3844-4622

Mariia V. Saporovskaia – Dr. Sc. (Psychol.), Docent, Professor at the Department of General and Social Psychology, Head of the Department of General and Social Psychology, Kostroma State University, e-mail: saporov35@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0852-1949

Anna G. Samokhvalova – Dr. Sc. (Psychol.),, Docent, Professor at the Department of Pedagogy and Acmeology of Personality, Director of the Institute of Pedagogy and Psychology, Kostroma State University, e-mail: a_samohvalova@kosgos.ru, https://orcid.org/0000-0002-4401-053X

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ
PHARMACOLOGY AND PHARMACY

ВЛИЯНИЕ ФИТОКОМПОЗИЦИИ НА ДИСЛИПИДЕМИЮ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЁСШИХ ИНФЕКЦИЮ SARS-COV-2, НА САНАТОРНО-КУРОРТНОМ ЭТАПЕ ЛЕЧЕНИЯ

Яцков И.А. [1],
Дудченко Л.Ш. [2],
Меликов Ф.М. [3],
Белоглазов В.А. [1],
Соловьева Е.А. [2],
Андреева Г.Н. [2]

[1] Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (295000, г. Симферополь, б-р Ленина, 5-7, Россия)
[2] ГБУЗ РК «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации им. И.М. Сеченова» (298603, г. Ялта, ул. Мухина, 10/3, Россия)
[3] ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН» (298648, г. Ялта, пгт Никита, Никитский спуск, 52, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Яцков Игорь Анатольевич,
e-mail: egermd@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Основной угрозой в постковидном периоде являются сердечно-сосудистые события, риск возникновения которых повышен у пациентов, перенёсших новую коронавирусную инфекцию (НКИ; SARS-CoV-2). В связи с этим особую актуальность имеет направление изучения коррекции уже хорошо изученных модифицируемых факторов риска. Одним из таких факторов, безусловно, является дислипидемия.*

Цель исследования. *Изучение уровня липидов крови у больных после перенесённой новой коронавирусной инфекции и возможности его коррекции в период реабилитации в санаторно-курортных условиях с дополнительным применением фитотерапии.*

Материалы и методы. *В исследование было включено 50 человек, перенёсших, по данным анамнеза, инфекцию SARS-CoV-2 и поступивших на санаторно-курортное лечение. Всем пациентам был проведён курс реабилитационных мероприятий продолжительностью 20 дней. До и после проведения курса реабилитационных мероприятий пациентам был выполнен лабораторный анализ, включавший основные биохимические показатели, в том числе общий холестерин, липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) и триглицериды (ТГ). Респонденты были разделены на две группы – экспериментальную (группа № 1; n = 21) и контрольную (группа № 2; n = 29). Пациенты из группы № 1 в дополнение к стандартным мероприятиям получали чай из фитокомпозиции.*

Результаты. *В группе, получавшей чай на основе растительной фитокомпозиции, отмечалось статистически значимое снижение показателей общего холестерина – с 6,91 ± 1,75 до 5,9 ± 1,64 ммоль/л (p = 0,04) и ЛПНП – с 4,68 ± 1,65 до 3,78 ± 1,28 ммоль/л (p = 0,038). Изменения в данных показателях, а также в уровне ТГ в группе № 2 выявлены не были.*

Заключение. *Использование представленной в исследовании фитокомпозиции позволило статистически значимо снизить уровень ЛПНП в крови у постковидных пациентов – более чем на 0,9 ± 1,85 ммоль/л. Применение фитопрепаратов с целью снижения риска развития кардиоваскулярных событий у пациентов, перенёсших НКИ, является перспективным направлением, требующим более детальных углублённых исследований.*

Ключевые слова: *SARS-CoV-2, холестерин, ЛПНП, постковид, фитотерапия*

Для цитирования: Яцков И.А., Дудченко Л.Ш., Меликов Ф.М., Белоглазов В.А., Соловьева Е.А., Андреева Г.Н. Влияние фитокомпозиции на дислипидемию у пациентов, перенёсших инфекцию SARS-CoV-2, на санаторно-курортном этапе лечения. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 221-229. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.23

Статья поступила: 26.04.2024
Статья принята: 23.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

EFFECT OF PHYTOCOMPOSITION ON DYSLIPIDEMIA IN PATIENTS WITH SARS-COV-2 INFECTION AT THE HEALTH RESORT STAGE OF TREATMENT

Yatskov I.A. [1],
Dudchenko L.Sh. [2],
Melikov F.M. [3],
Beloglazov V.A. [1],
Solovyova E.A. [2],
Andreeva G.N. [2]

[1] Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Lenina Blvd. 5-7, Simferopol 295000, Russian Federation)
[2] I.M. Sechenov Academic Research Institute for Physical Therapy, Medical Climatology and Rehabilitation (Mukhina str. 10/3, Yalta 298603, Russian Federation)
[3] The Order of the Red Banner of Labour Nikitsky Botanical Garden – National Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (Nikitsky slope 52, Nikita settlement, Yalta 298648, Russian Federation)

Corresponding author:
Igor A. Yatskov,
e-mail: egermd@yandex.ru

ABSTRACT

Background. *Cardiovascular events are the main threat in the post-COVID period, and their risk is increased in patients who have had a new coronavirus infection (SARS-CoV-2). In this regard, the direction of studying the correction of already well-studied modifiable risk factors is of particular relevance. One of such factors is certainly dyslipidemia.*

The aim. *To study the level of blood lipids in patients after new coronavirus infection and the possibility of its correction during rehabilitation in sanatorium conditions with the additional use of the phytotherapy.*

Materials and methods. *The study included 50 people who, according to their medical history, had suffered from SARS-CoV-2 infection and were admitted to sanatorium treatment. All patients underwent a course of rehabilitation measures lasting 20 days. Before and after the course of rehabilitation, patients underwent laboratory analysis, which included the main biochemical parameters, including total cholesterol, low-density lipoproteins, high-density lipoproteins and triglycerides. The respondents were divided into two groups – experimental (group 1; n = 21) and control (group 2; n = 29). Patients from group 1 received tea from a phytocomposition in addition to standard measures.*

Results. *In the group receiving tea based on herbal phytocomposition, there was a statistically significant decrease in total cholesterol from 6.91 ± 1.75 to 5.9 ± 1.64 mmol/l (p = 0.04) and low-density lipoproteins from 4.68 ± 1.65 to 3.78 ± 1.28 mmol/l (p = 0.038). No changes were detected in these indicators, as well as in the level of triglycerides in group 2.*

Conclusion. *The use of the phytocomposition presented in the study during the course allowed a statistically significant reduction in low-density lipoproteins levels in the blood of post-Covid patients by more than 0.9 ± 1.85 mmol/l. The use of phytopreparations in order to reduce the risk of cardiovascular events in patients who have undergone new coronavirus infection is a promising area that requires more detailed in-depth studies.*

Key words: *SARS-CoV-2, cholesterol, low-density lipoproteins, post-Covid, phytotherapy*

Received: 26.04.2024
Accepted: 23.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Yatskov I.A., Dudchenko L.Sh., Melikov F.M., Beloglazov V.A., Solovyova E.A., Andreeva G.N. Effect of phytocomposition on dyslipidemia in patients with SARS-CoV-2 infection at the health resort stage of treatment. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 221-229. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.23

По состоянию на 18.04.2024 количество реконвалесцентов после новой коронавирусной инфекции (НКИ) составило уже более 675 млн по всему миру [1]. В Российской Федерации насчитывается 23,5 млн человек, перенёсших острую инфекцию SARS-CoV-2 различной степени тяжести [1]. Далеко не все пациенты смогли быстро вернуться к полноценной жизни в связи с наличием достаточно сложного симптомокомплекса, называемого long-Covid – в случае персистенции симптомов вплоть до 12-й недели после развития заболевания или постковидный синдром – при выявлении соответствующей симптоматики после 12-й недели без других явных причин [2]. Одышка, хронический кашель и усталость являются наиболее распространёнными симптомами в первые 6 месяцев после заражения, но когнитивные нарушения и психологические симптомы могут сохраняться и после этого времени [2]. Данные симптомы существенно влияют на качество жизни пациентов, однако не являются жизнеугрожающими. Осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы, напротив, могут в значительной мере клинически не проявляться в течение длительного периода, однако могут привести к фатальным последствиям. Известно, что пациенты, перенёсшие НКИ, по данным литературы, имеют повышенный риск развития сердечно-сосудистых событий [3, 4].

Наличие неопределённости в понимании механизмов патогенеза постковидного синдрома затрудняет поиск путей влияния на конкретные причины, обуславливающие увеличение сосудистого риска у данных пациентов [5]. В связи с этим особую актуальность имеет направление изучения коррекции уже хорошо изученных модифицируемых факторов риска у пациентов, перенёсших НКИ. Одним из таких факторов, безусловно, является дислипидемия [6, 7]. Помимо влияния на развитие отдалённых сердечно-сосудистых последствий, дислипидемия играла важную роль в развитии тяжёлых осложнений острой инфекции, а применение липид-снижающих средств было ассоциировано с меньшей частотой госпитализации в период пандемии SARS-CoV-2 [8]. Данный эффект может быть связан с подавлением дальнейшего инфицирования клеток на фоне гиполипидемической терапии, т. к. холестерин является важной молекулой, позволяющей вирусу НКИ проникать в клетки-мишени [9]. Учитывая данные о возможной персистенции вируса в органах и тканях после острого периода, дислипидемия потенциально может являться фактором, поддерживающим заражение новых клеток и утяжеление проявлений постковидного синдрома [10].

Препараты, ингибирующие ГМГ-КоА-редуктазу (статины), усиливающие выделение холестерина с желчью (фибраты), нарушающие абсорбцию холестерина (эзетимиб) и ингибирующие пропротеиновую конвертазу субтилизин-кексинового типа 9 (алирокумаб и эволокумаб), являются основными инструментами коррекции дислипидемии на данный момент [11]. Но, как и у любого лекарственного препарата, применение во многом ограничено противопоказаниями и наличием побочных эффектов, в некоторых случаях имеющих достаточно серьёзные клинические последствия и делающих данные препараты непригодными к использованию у ряда пациентов [12].

Дополнением к применению классических липид-снижающих препаратов, а в некоторых случаях – и альтернативой им, могут служить препараты лекарственных растений, обладающих широким спектром фармакотерапевтической активности при низком уровне побочных эффектов, что позволяет проводить длительные курсы фитотерапии в комплексе с другими методами терапии и реабилитации, корректировать состав и методику применения в ходе реабилитационных мероприятий [13]. В связи с этим изучение возможностей применения метода фитотерапии у больных после перенесённой новой коронавирусной инфекции COVID-19 и возможность его коррекции – одно из перспективных направлений в период реабилитации в санаторно-курортных условиях.

Исходя из вышесказанного, **целью нашего исследования** было изучение уровня липидов крови у больных после перенесённой новой коронавирусной инфекции и возможностей его коррекции в период реабилитации в санаторно-курортных условиях с дополнительным применением метода фитотерапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 50 человек, перенёсших, по данным анамнеза, инфекцию SARS-CoV-2 и поступивших на санаторно-курортное лечение в отделение пульмонологии ГБУЗ РК «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации им. И.М. Сеченова». С момента появления первых симптомов до поступления пациента в отделение пульмонологии в среднем проходило 182 ± 16 дней. Интерпретацию клинических симптомов (кашля и одышки) осуществляли с использованием трёхбалльной шкалы, в соответствии с которой 1 балл – умеренная выраженность; 2 балла – средняя выраженность; 3 балла – выраженный клинический симптом. Всем пациентам был проведён курс реабилитационных мероприятий в условиях Южного берега Крыма продолжительностью 20 дней. Стандартный комплекс реабилитационных мероприятий включал занятия на дыхательных тренажёрах с инспираторной нагрузкой Coach 2 (Portex, США); лечебную физкультуру (дыхательный комплекс); галоингаляционную терапию от аппарата «Галоингалятор ГИСА-01» (Аэромед, Россия); небулайзерную терапию бронхолитиками и муколитиками (при необходимости); высокочастотную осцилляцию грудной клетки; тренировки диафрагмального дыхания; гипоксически-гиперкапнические тренировки; массаж грудной клетки; методы физиотерапии (магнитотерапия на грудную клетку); терренкуры; климатотерапию (круглосуточную или дозированную аэротерапию); воздушные и солнечные ванны; морские купания; медикаментозную терапию сопутствующей патологии по показаниям в обеих группах. Организовывалось полноценное сбалансированное лечебное питание

с нормальным содержанием белков, жиров, углеводов, обогащённое витаминами и микроэлементами, гипоаллергенное. В состав диеты входило достаточное количество витаминов C, A, D и микроэлементов. Питание было разнообразным, с повышенным количеством свежих овощей и фруктов. К минимуму были сведены блюда с высоким гликемическим индексом и насыщенными жирами, а также специи, маринады, копчёные и консервированные продукты. Питание строилось на основе диет № 11 или № 15.

До и после проведения курса реабилитационных мероприятий пациентам был выполнен лабораторный анализ, включавший основные биохимические показатели, в том числе общий холестерин, липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) и триглицериды (ТГ). Анализ биоматериала производился на биохимическом анализаторе Microlab 300 (ELITechGroup, Франция) с использованием наборов производства компании Cormay Diagnostics (Варшава, Польша). Респонденты были разделены на две группы – экспериментальную (группа № 1; $n = 21$) и контрольную (группа № 2; $n = 29$). Характеристика исследуемых групп представлена в таблице 1.

Следует отметить, что, несмотря на показания у пациентов с ишемической болезнью сердца, включённых в исследование, к проведению терапии статинами, они не принимали их систематически.

Пациенты из группы № 1 в дополнение к стандартным мероприятиям получали чай из фитокомпозиции, разработанной и подготовленной лабораторией ароматических и лекарственных растений ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН» (Ялта). Состав фитокомпозиции и режим дозирования представлены в таблице 2.

Пациенты, перенёсшие НКИ по данным анамнеза (выписка из стационара), включались в исследование при наличии симптомов, составляющих постковидный синдром и не имеющих других явных причин.

Из исследования исключались пациенты старше 75 лет, а также респонденты, имевшие противопоказания для санаторно-курортного лечения. Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Используемое в исследовании лекарственное растительное сырьё входит в Государственную фармакопею РФ, Государственный реестр лекарственных средств РФ и подлежит безрецептурному отпуску из аптек. Растительное сырьё, приготовленное для исследования, соответствует показателям подлинности, отсутствия примесей, содержания биологически активных веществ (БАВ), другим показателям качества, предусмотренным «Декларацией о соответствии Евразийского экономического союза», и соответствует требованиям Технического регламента ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

Протокол исследования (№ 8 от 06.09.2022) одобрен Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (Симферополь). Перед началом исследования все ре-

ТАБЛИЦА 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ, ВКЛЮЧЁННЫХ В ИССЛЕДОВАНИЕ

TABLE 1

CHARACTERISTICS OF PATIENTS INCLUDED IN THE STUDY

Признаки	Группа № 1 ($n = 21$)	Группа № 2 – контрольная ($n = 29$)	p
Пол, n (%) муж.	7 (33,33)	5 (17,24)	0,328
Пол, n (%) жен.	14 (66,67)	24 (82,76)	
Возраст (годы), M ± SD	64,6 ± 7,69	63,6 ± 7,93	0,182
ИМТ (кг/м^2), M ± SD	31,2 ± 5,18	30,9 ± 5,59	0,091
ИБС, n (%)	5 (23,81)	9 (31,03)	0,809
АГ, n (%)	7 (33,33)	15 (51,72)	0,316
БА, n (%)	3 (14,29)	2 (6,9)	0,703
СД2, n (%)	7 (33,33)	5 (17,24)	0,328
Одышка (mMRC), баллы	1,280 ± 0,084	1,160 ± 0,1	0,583
Кашель – частота, баллы	0,74 ± 0,835	0,731 ± 0,962	0,298
Кашель – выраженность, баллы	0,476 ± 0,826	0,492 ± 0,704	0,221
Одышка – выраженность, баллы	1,31 ± 0,794	1,208 ± 0,879	0,427
Утомляемость, баллы	0,471 ± 0,628	0,477 ± 0,704	0,247

Примечание. ИМТ – индекс массы тела; ИБС – ишемическая болезнь сердца; АГ – артериальная гипертензия; БА – бронхиальная астма; СД2 – сахарный диабет 2-го типа; mMRC – модифицированный опросник Британского медицинского исследовательского совета (modified Medical Research Council) для оценки тяжести одышки.

ТАБЛИЦА 2

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ И ПРАВИЛА ПРИМЕНЕНИЯ ФИТОКОМПОЗИЦИИ, ПРЕДСТАВЛЕННОЙ В ИССЛЕДОВАНИИ

TABLE 2

COMPONENTS AND APPLICATION RULES OF PHYTOCOMPOSITION PRESENTED IN THE STUDY

Состав фитокомпозиции		Приготовление
Компоненты	%	
Цветки календулы лекарственной	15	10 г фитокомпозиции настоять в течение 20 мин на 250 мл воды комнатной температуры, затем довести до кипения и настоять 10 мин. Отцедить. Шрот отжать, и полученный отжим объединить с настоем. Приём в тёплом виде (40–45 °C) – 100 мл утром и ещё 3 раза (по 50 мл) за 1 час до приёма пищи. Курс лечения – 20 дней. Противопоказания и ограничения: аллергическая реакция на компоненты.
Лист подорожника большого	20	
Корень алтея лекарственного	20	
Трава эхинацеи пурпурной	15	
Корень солодки лекарственной	5	
Цветки ромашки лекарственной	10	
Трава зверобоя перфорированного	10	
Плоды фенхеля обыкновенного	5	

спонденты подтвердили своё участие письменным информированным добровольным согласием.

Статистический анализ полученных данных производился с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 27 (IBM Corp., США). Для сравнения частот качественных признаков использовался тест χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность. Все изучаемые количественные показатели проверяли на нормальность распределения с помощью W-критерия Шапиро – Уилка; за нормальное распределение принимали выборки, в которых критерий составлял $p \geq 0{,}1$, за ненормальное распределение – значение W-критерия $p < 0{,}1$. При обработке непараметрических данных для сравнения групп использовали Т-критерий Вилкоксона для связанных выборок. Статистически значимыми считали показатели при $p < 0{,}05$. При нормальном распределении для обработки данных для сравнения групп использовали парный t-критерий Стьюдента для связанных выборок. Статистически значимыми считали показатели при $p < 0{,}05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из данных, представленных в таблице 3, в группе, получавшей водный настой на основе растительной фитокомпозиции, отмечалось статистически значимое снижение показателей общего холестерина – с 6,91 ± 1,75 до 5,9 ± 1,64 ммоль/л ($p = 0{,}04$), ЛПНП – с 4,68 ± 1,65 до 3,78 ± 1,28 ммоль/л ($p = 0{,}038$). Изменения в данных показателях, а также в уровне ТГ в группе № 2 выявлены не были. Можно отметить тенденцию к снижению показателя ТГ в группе № 1, однако данное изменение не было статистически значимым ($p = 0{,}07$), что, возможно, связано с ограничениями исследования, а именно с небольшой выборкой испытуемых. Статистически значимых изменений уровня ЛПВП в исследуемых группах также выявлено не было ($p > 0{,}05$).

Результаты анализа других основных показателей биохимического состава крови свидетельствовали об отсутствии существенных сдвигов на фоне проводимого санаторно-курортного лечение в группах № 1 и № 2 (табл. 4).

Полученные данные свидетельствуют о наличии избирательного липид-корректирующего эффекта (снижение ЛПНП) при применении представленной фитокомпозиции.

Для понимания и анализа выявленного эффекта стоит отметить основные характеристики входящих в состав фитокомпозиции компонентов. Так, цветки календулы лекарственной содержат каротин (провитамин А), стерины, тритерпеноиды, флавоноиды, эфирные масла, кумарины [14]. В цветках календулы лекарственной найдены каротиноиды: b-, g-, d-каротины, ликопин, неуроспорин, фитоен, фитофлуин, рубиксантин, ксантофил (лютеин), зеаксантин, виолоксантин, флавохром, цитроксантин, флавоксантин, хризантемаксантин [14]. Флавоноиды – одни из наиболее реакционноспособных фенольных соединений. На организм человека они оказывают противовоспалительное, антиоксидантное, спазмолитическое, желчегонное, антитоксическое, диуретическое, противоязвенное и противоопухолевое действие [14]. Также из календулы выделены флавоноиды – производные изорамнетина, кверцетина [14].

Водные экстракты корня алтея *in vitro* стимулируют фагоцитоз и высвобождение радикалов кислорода и лейкотриенов из нейтрофилов человека. Водный экстракт *in vitro* также вызывает высвобождение цитокинов, интерлейкина 6 и фактора некроза опухоли из моноцитов человека, тем самым проявляя противовоспалительное и иммуностимулирующее действия [15].

ТАБЛИЦА 3

ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ ДО И ПОСЛЕ ПРОХОЖДЕНИЯ КУРСА САНАТОРНО-КУРОРТНОГО ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 3

LIPID PROFILE INDICATORS BEFORE AND AFTER THE COURSE OF HEALTH RESORT TREATMENT

Маркеры	Группы	До курса санаторно-курортного лечения	После курса санаторно-курортного лечения	*p*
Холестерин (ммоль/л), M ± SD	Группа № 1	6,91 ± 1,75	5,9 ± 1,64	0,04*
	Группа № 2	6,51 ± 1,14	6,38 ± 1,44	0,744
ЛПНП (ммоль/л), M ± SD	Группа № 1	4,68 ± 1,65	3,78 ± 1,28	0,038*
	Группа № 2	4,42 ± 0,95	4,23 ± 1,02	0,589
Триглицериды (ммоль/л), Me (Q1–Q3)	Группа № 1	1,32 (0,99–1,87)	1,18 (0,94–1,75)	0,07
	Группа № 2	1,22 (0,67–1,95)	1,29 (0,82–1,8)	0,433
ЛПВП (ммоль/л), M ± SD	Группа № 1	1,04 ± 0,91	1,09 ± 0,9	0,865
	Группа № 2	1,1 ± 0,79	1,2 ± 0,8	0,591

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

ТАБЛИЦА 4

ПОКАЗАТЕЛИ БИОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КРОВИ ПАЦИЕНТОВ ДО И ПОСЛЕ ПРОХОЖДЕНИЯ КУРСА САНАТОРНО-КУРОРТНОГО ЛЕЧЕНИЯ

TABLE 4

INDICATORS OF BIOCHEMICAL BLOOD TEST IN PATIENTS BEFORE AND AFTER THE COURSE OF HEALTH RESORT TREATMENT

Маркеры	Группы	До курса санаторно-курортного лечения	После курса санаторно-курортного лечения	*p*
Глюкоза (ммоль/л), Me (Q1–Q3)	Группа № 1	6,2 (5,5–7,05)	6,1 (5,6–7,35)	0,519
	Группа № 2	6,15 (5,3–8,73)	6,1 (5,5–7,0)	0,379
АЛТ (Ед/л), Me (Q1–Q3)	Группа № 1	24,0 (20,5–30,5)	27,0 (20,0–33,5)	0,204
	Группа № 2	20,5 (14,0–27,8)	19,5 (14,5–22,8)	0,875
АСТ (Ед/л), M ± SD	Группа № 1	25,7 ± 6,78	29,57 ± 6,42	0,061
	Группа № 2	24,3 ± 5,53	21,63 ± 4,65	0,102
Креатинин (мкмоль/л), Me (Q1–Q3)	Группа № 1	90,0 (73,0–97,5)	86,0 (79,5–93,0)	0,322
	Группа № 2	79,5 (74,8–87,5)	85,0 (74,0–94,8)	0,362
Мочевая кислота (мкмоль/л), M ± SD	Группа № 1	304,4 ± 63,8	302,9 ± 55,6	0,915
	Группа № 2	309,2 ± 64,5	319,0 ± 58,8	0,644
СРБ (мг/л), Me (Q1–Q3)	Группа № 1	3,0 (3,0–4,0)	3,0 (3,0–4,0)	0,083
	Группа № 2	3,0 (3,0–4,0)	3,0 (3,0–4,0)	1,0

Примечание. АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспартатаминотрансфераза; СРБ – С-реактивный белок.

Основными химическими составляющими высушенных листьев подорожника большого являются иридоиды: аукубин, 3,4-дигидроаукубин, 6'-О-β-глюкозилаукубин, катальпол, плантареналозид и мелитозид. Содержатся также флавоноиды (апигенин, баикалеин, скутеллареин, гомоплантагинин, непитрин, лютеолин, гиспидулин, плантагозид), алкалоиды (босниакин, метил эфир босниакиновой кислоты) и кислоты (бензойная, кофейная, хлорогеновая, коричная, р-кумаровая, феруловая, фумаровая, гентизиновая, 4-гидроксибензойная, неохлорогеновая, салициловая, сирингиновая, урсоловая, ванильная, олеаноловая) [16]. Растение применяется также в качестве гепатопротектора, слабого антибиотика, вяжущего средства, а также иммуномодулирующего, противогипертонического, гипогликемического, гемостатического, антиаллергического и противозудного средства [16].

Эхинацеи пурпурной трава содержит группу биологически активных соединений, в комплексе обладающих противовоспалительным, ранозаживляющим,

нейропротекторным, иммуномодулирующим эффектом, а также антибактериальным действием [17]. Одной из действующих групп веществ являются флавоноиды (апигенин, рутин), обладающие детоксикационным действием, а рутин, кроме этого, оказывает капилляроукрепляющий эффект [17]. Важными БАВ в составе эхинацеи являются алкиламиды, ксантинеопиран, изобутиламиды полиненасыщенных жирных кислот. Они обеспечивают противовоспалительную функцию, являясь агонистами каннабиноидных рецепторов 2-го типа [17]. В составе всех видов эхинацеи обнаруживаются эфирные масла: изобутират гераниол, a- и b-пиены, 2,4-гептадиеналь, b-кариофиллен, – обладающие противовоспалительной активностью [17].

Цветки ромашки аптечной содержат эфирные масла, полифенольные соединения в виде гликозидов, апиин, при гидролизе дающий апигенин, а также прохамазулен, матрицин, лактон матрикарин, умбеллиферон и его метиловый эфир герниарин, диоксикумарины, триакантан, холин, фитостерин, салициловую кислоту, глицериды жирных кислот, каротин, горечи, слизи, камеди, аскорбиновую кислоту [18].

В составе биологически активных соединений травы зверобоя присутствуют: дубильные вещества, флаваноиды, в том числе кверцетин, гиперин, гиперицин, гиперфорин, производные антраценов, алкалоиды, эфирные масла, антоцианы, каротиноиды, холин, сесквитерпены, азулен, ретинол, терпены пинен, мирцен, цинеол, гераниол [19]. При приёме внутрь препараты зверобоя оказывают противовоспалительное, желчегонное, вяжущее и мочегонное действие [19].

Корень солодки голой содержит тритерпеновый сапонин глицирризин (до 23 %), флавоноиды, производные флавонона и халкона (ликвиритин, изоликвиритин). Стимулирует выработку гормонов надпочечников. Обладает отхаркивающим, противовоспалительным, спазмолитическим, противоаллергическим действием [20].

Плоды фенхеля содержат до 8,5 % эфирного масла, органические кислоты – лимонную, яблочную; жирные масла; флавоноиды; сахара 4–5 %; до 22 % белка; витамины C, B, K, E; соли K, Ca, Mg, Fe; до 18 % жирного масла. Определены дигликозиды – стилбен и бензойсофуранин. Водный настой плодов фенхеля стимулирует перистальтику кишечника [21].

Несмотря на отсутствие в приведённом выше описании ярко выраженных гиполипидемических свойств, интерес представляют биологически активные вещества, содержащиеся в использованном для приготовления фитокомпозиции растительном сырье. Эффект же снижения общего холестерина и ЛПНП может быть опосредован комбинированным действием химических растительных соединений и благотворным влиянием на гепатоциты и желудочно-кишечный тракт в целом.

В недавнем метаанализе M.S. Adel Mehraban и соавт. был проведён анализ 141 работы, посвящённой липид-снижающему эффекту растительных препаратов [22]. Среди лекарственных средств растительного происхождения растительные масла, фитостеролы, чай, соевый белок, орехи и куркумин изучались чаще всего. Из 13 публикаций, посвящённых растительным маслам, наибольшее снижение содержания общего холестерина (на 0,49 ммоль/л), ЛПНП (на 0,42 ммоль/л) и ТГ (на 0,16 ммоль/л) было выявлено в подсолнечном масле. Кроме того, масло из рисовых отрубей значительно повышало уровень холестерина ЛПВП – на 0,17 ммоль/л. Фитостеролы в 12 работах продемонстрировали значительное улучшение в снижении уровня общего холестерина (на 0,42 ммоль/л), ЛПНП (на 0,61 ммоль/л) и ТГ (на 0,1 ммоль/л), а также повышение уровня ЛПВП на 0,28 ммоль/л. Наибольшее снижение сывороточных уровней холестерина, ЛПНП и ТГ было зафиксировано при приёме зелёного чая в рамках 9 публикаций (на 0,71, 0,64 и 0,36 ммоль/л соответственно). Куркумин, куркуминоиды и куркума привели к снижению уровня холестерина (на 0,65 ммоль/л), ЛПНП (на 1,02 ммоль/л) и ТГ (на 0,38 ммоль/л) и увеличению ЛПВП на 0,11 ммоль/л [22].

Систематический обзор 32 исследований с участием 1386 участников выявил наличие влияния применения чеснока и чёрного тмина на состояние гиперхолестеринемии [23]. Чеснок снижал уровень ЛПНП на 0,27 ммоль/л, а чёрный тмин снизил уровень общего холестерина на 0,24 ммоль/л. Отмеченные побочные эффекты были минимальными [23].

Исследование вьетнамского комбинированного препарата «GANMO», в состав которого входит кожура мандарина, атрактилодес крупноголовый, рейнутрия японская, листья лотоса, саргассум, кассия, частуха обыкновенная, горец многоцветковый, боярышник лопатчатый и ревень, показало существенное снижение уровня общего холестерина и не-ЛПВП на животной модели в сравнении с контрольной группой. Уровень холестерина ЛПВП повышался у крыс, получавших высокие дозы «GANMO» по сравнению с крысами, получавшими низкие дозы [24].

Структурные компоненты фитокомпозиции, использованной нами в исследовании, способны воздействовать на различные звенья патогенеза дислипидемии. Так, антоцианы влияют на моделирование липопротеинов, ингибируя переносчик эфиров холестерина (CETP, cholesteryl ester transfer protein), что сопровождается снижением концентрации ЛПНП и липопротеинов очень низкой плотности [25]. Кверцетин увеличивает отток холестерина из макрофагов, ингибируя образование пенистых клеток посредством активации пути PPARgamma – ABCA1, подавляет белок-переносчик триглицеридов (MTTP, microsomal triglyceride transfer protein) и снижает образование хиломикронов, а также увеличивает селективный захват ЛПВП гепатоцитами [26, 27]. Ликопин ингибирует всасывание холестерина в кишечнике по сигнальному пути LXRα – NPC1L1 [28]. Лютеолин может способствовать оттоку холестерина в ЛПВП, блокируя рецепторы ABCA1 или ABCG1 на макрофагах, тем самым активируя обратный транспорт холестерина (RCT, reverse cholesterol transport), препятствуя образованию пенистых клеток и увеличивая вывод холестерина с желчью [29]. Терпеновые кислоты, в частности урсоловая и олеаноловая, снижают уровень холестерина

путём ингибирования ацил-КоА-холестерол-ацилтрансферазы (ACAT), катализирующей образование эфиров холестерина в эпителиальных клетках кишечника [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование представленной в исследовании фитокомпозиции в течение 20 дней позволило статистически значимо снизить уровень ЛПНП в крови у постковидных пациентов – более чем на 0,9 ± 1,85 ммоль/л. Из представленных нами данных и данных зарубежных и отечественных исследований следует, что применение фитопрепаратов с целью снижения риска развития кардиоваскулярных событий у пациентов, перенёсших НКИ, является перспективным направлением, требующим более детальных углублённых исследований. Изучение гиполипидемического действия отдельных компонентов фитокомпозиции и их возможных комбинаций позволит обосновать и выбрать более эффективный и безопасный путь для достижения целевых показателей липидного профиля.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *COVID-19 coronavirus pandemic worldometer.* URL: https://www.worldometers.info/coronavirus [date of access: 18.04.2024].

2. Chuang HJ, Lin CW, Hsiao MY, Wang TG, Liang HW. Long COVID and rehabilitation. *J Formos Med Assoc*. 2024; 123(1): S61-S69. doi: 10.1016/j.jfma.2023.03.022

3. Mitrani RD, Dabas N, Alfadhli J, Lowery MH, Best TM, Hare JM, et al. Long-term cardiac surveillance and outcomes of COVID-19 patients. *Trends Cardiovasc Med.* 2022; 32(8): 465-475. doi: 10.1016/j.tcm.2022.06.003

4. Vosko I, Zirlik A, Bugger H. Impact of COVID-19 on cardiovascular disease. *Viruses*. 2023; 15(2): 508. doi: 10.3390/v15020508

5. Chilosi M, Doglioni C, Ravaglia C, Piciucchi S, Dubini A, Stefanizzi L, et al. COVID-19. Biology, pathophysiology, and immunology: A pathologist view. *Pathologica.* 2023; 115(5): 248-256. doi: 10.32074/1591-951X-954

6. Berberich AJ, Hegele RA. A modern approach to dyslipidemia. *Endocr Rev.* 2022; 43(4): 611-653. doi: 10.1210/endrev/bnab037

7. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2020; 41(1): 111-188. doi: 10.1093/eurheartj/ehz455

8. Huang W, Xiao J, Ji J, Chen L. Association of lipid-lowering drugs with COVID-19 outcomes from a Mendelian randomization study. *Elife.* 2021; 10: e73873. doi: 10.7554/eLife.73873

9. Grewal T, Nguyen MKL, Buechler C. Cholesterol and COVID-19-therapeutic opportunities at the host/virus interface during cell entry. *Life Sci Alliance*. 2024; 7(5): e202302453. doi: 10.26508/lsa.202302453

10. Stein SR, Ramelli SC, Grazioli A, Chung JY, Singh M, Yinda CK, et al. SARS-CoV-2 infection and persistence in the human body and brain at autopsy. *Nature.* 2022; 612(7941): 758-763. doi: 10.1038/s41586-022-05542-y

11. Tokgözoğlu L, Libby P. The dawn of a new era of targeted lipid-lowering therapies. *Eur Heart J.* 2022; 43(34): 3198-3208. doi: 10.1093/eurheartj/ehab841

12. Attardo S, Musumeci O, Velardo D, Toscano A. Statins neuromuscular adverse effects. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(15): 8364. doi: 10.3390/ijms23158364

13. Ji X, Shi S, Liu B, Shan M, Tang D, Zhang W, et al. Bioactive compounds from herbal medicines to manage dyslipidemia. *Biomed Pharmacother.* 2019; 118: 109338. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109338

14. Olennikov DN, Kashchenko NI. Marigold metabolites: Diversity and separation methods of calendula genus phytochemicals from 1891 to 2022. *Molecules.* 2022; 27(23): 8626. doi: 10.3390/molecules27238626

15. Bonaterra GA, Bronischewski K, Hunold P, Schwarzbach H, Heinrich EU, Fink C, et al. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of Phytohustil® and root extract of *Althaea officinalis* L. on macrophages *in vitro*. *Front Pharmacol.* 2020; 11: 290. doi: 10.3389/fphar.2020.00290

16. Zhakipbekov K, Turgumbayeva A, Issayeva R, Kipchakbayeva A, Kadyrbayeva G, Tleubayeva M, et al. Antimicrobial and other biomedical properties of extracts from *Plantago major*, Plantaginaceae. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023; 16(8): 1092. doi: 10.3390/ph16081092

17. Burlou-Nagy C, Bănică F, Jurca T, Vicaş LG, Marian E, Muresan ME, et al. *Echinacea purpurea* (L.) Moench: Biological and pharmacological properties. A Review. *Plants (Basel).* 2022; 11(9): 1244. doi: 10.3390/plants11091244

18. Sah A, Naseef PP, Kuruniyan MS, Jain GK, Zakir F, Aggarwal G. A comprehensive study of therapeutic applications of chamomile. *Pharmaceuticals (Basel).* 2022; 15(10): 1284. doi: 10.3390/ph15101284

19. Буданцев А.Л., Приходько В.А., Варганова И.В., Оковитый С.В. Биологическая активность *Hypericum perforatum L. (Hypericaceae)*: обзор. *Фармация и фармакология.* 2021; 9(1): 17-31. [Budantsev AL, Prikhodko VA, Varganova IV, Okovitiy SV. Biological activity of *Hypericum perforatum L. (Hypericaceae)*: A review. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021; 9(1): 17-31. (In Russ.)]. doi: 10.19163/2307-9266-2021-9-1-17-31

20. Sharifi-Rad J, Quispe C, Herrera-Bravo J, Belén LH, Kaur R, Kregiel D, et al. Glycyrrhiza genus: Enlightening phytochemical components for pharmacological and health-promoting abilities. *Oxid Med Cell Longev.* 2021; 2021: 7571132. doi: 10.1155/2021/7571132

21. Das B, Rabalais J, Kozan P, Lu T, Durali N, Okamoto K, et al. The effect of a fennel seed extract on the STAT signaling and intestinal barrier function. *PLoS One.* 2022; 17(7): e0271045. doi: 10.1371/journal.pone.0271045

22. Adel Mehraban MS, Tabatabaei-Malazy O, Rahimi R, Daniali M, Khashayar P, Larijani B. Targeting dyslipidemia by herbal medicines: A systematic review of meta-analyses. *J Ethnopharmacol.* 2021; 280: 114407. doi: 10.1016/j.jep.2021.114407

23. Gyawali D, Vohra R, Orme-Johnson D, Ramaratnam S, Schneider RH. A systematic review and meta-analysis of ayurvedic

herbal preparations for hypercholesterolemia. *Medicina (Kaunas)*. 2021; 57(6): 546. doi: 10.3390/medicina57060546

24. Ba Tuyen P, Huyen TT, Hang DTT, Thi Van Anh P. A novel herbal medicine for dyslipidemia: Assessments in experimental models. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021; 2021: 5529744. doi: 10.1155/2021/5529744

25. Qin Y, Xia M, Ma J, Hao Y, Liu J, Mou H, et al. Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90(3): 485-492. doi: 10.3945/ajcn.2009.27814

26. Ren K, Jiang T, Zhao GJ. Quercetin induces the selective uptake of HDL-cholesterol via promoting SR-BI expression and the activation of the PPARγ / LXRα pathway. *Food Funct.* 2018; 9(1): 624-635. doi: 10.1039/c7fo01107e

27. Sun L, Li E, Wang F, Wang T, Qin Z, Niu S, et al. Quercetin increases macrophage cholesterol efflux to inhibit foam cell formation through activating PPARγ-ABCA1 pathway. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(9): 10854-10860.

28. Zou J, Feng D. Lycopene reduces cholesterol absorption through the downregulation of Niemann-Pick C1-like 1 in Caco-2 cells. *Mol Nutr Food Res.* 2015; 59(11): 2225-2230. doi: 10.1002/mnfr.201500221

29. Francisco V, Figueirinha A, Costa G, Liberal J, Ferreira I, Lopes MC, et al. The flavone luteolin inhibits liver X receptor activation. *J Nat Prod.* 2016; 79(5): 1423-1428. doi: 10.1021/acs.jnatprod.6b00146

30. Lin Y, Vermeer MA, Trautwein EA. Triterpenic acids present in hawthorn lower plasma cholesterol by inhibiting intestinal ACAT activity in hamsters. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011; 2011: 801272. doi: 10.1093/ecam/nep007

Сведения об авторах

Яцков Игорь Анатольевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренней медицины № 2, Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: egermd@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-5486-7262

Дудченко Лейла Шамилевна – доктор медицинских наук, заведующая научно-исследовательским отделом пульмонологии, ГБУЗ РК «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации им. И.М. Сеченова», e-mail: vistur@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1506-4758

Меликов Фархад Маисович – кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории ароматических и лекарственных растений, ФГБУН «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», e-mail: f.melikov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2001-7585

Белоглазов Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой внутренней медицины № 2, Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: biloglazov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9640-754X

Соловьёва Елена Александровна – научный сотрудник научно-исследовательского отдела пульмонологии, ГБУЗ РК «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации им. И.М. Сеченова», e-mail: elenasolovjova0507@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-7882-8885

Андреева Галина Николаевна – научный сотрудник научно-исследовательского отдела пульмонологии, ГБУЗ РК «Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации им. И.М. Сеченова», e-mail: galinaandreeva2901@internet.ru, https://orcid.org/0000-0002-1876-0011

Information about the authors

Igor A. Yatskov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Internal Medicine No. 2, Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: egermd@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-5486-7262

Leyla Sh. Dudchenko – Dr. Sc. (Med.), Head of the Research Department of Pulmonology, I.M. Sechenov Academic Research Institute for Physical Therapy, Medical Climatology and Rehabilitation, e-mail: vistur@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1506-4758

Farkhad M. Melikov – Cand. Sc. (Pharm.), Leading Research Officer at the Laboratory of Aromatic and Medicinal Plants, The Order of the Red Banner of Labour Nikitsky Botanical Garden – National Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, e-mail: f.melikov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2001-7585

Vladimir A. Beloglazov – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of Internal Medicine No. 2, Medical Institute named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: biloglazov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-9640-754X

Elena A. Solovyova – Research Officer at the Research Department of Pulmonology, I.M. Sechenov Academic Research Institute for Physical Therapy, Medical Climatology and Rehabilitation, e-mail: elenasolovjova0507@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-7882-8885

Galina N. Andreeva – Research Officer at the Research Department of Pulmonology, I.M. Sechenov Academic Research Institute for Physical Therapy, Medical Climatology and Rehabilitation, e-mail: galinaandreeva2901@internet.ru, https://orcid.org/0000-0002-1876-0011

ХИРУРГИЯ
SURGERY

COMPARATIVE STUDY OF OPEN EXCISION TECHNIQUE VERSUS LIMBERG FLAP RECONSTRUCTION IN THE MANAGEMENT OF SACROCOCCYGEAL PILONIDAL SINUS

Ali S.M. [1],
Mohammed R.F. [1],
Mahmood K.I. [2],
Kadhim S.H. [2]

[1] Jabir Ibn Hayyan University for Medical and Pharmaceutical Sciences (Corniche str., Al-Kufa 54003, Al-Najaf Governorate, Iraq)
[2] Hammurabi College of Medicine, University of Babylon (Hillah Najaf Road, 60, Hillah 51002, Babylon Governorate , Iraq)

Corresponding author:
Sahal Mohammed Ali,
e-mail: sahal.mohammed@jmu.edu.iq

ABSTRACT

Background. *Sacrococcygeal pilonidal sinus is a common condition in the natal cleft that typically requires surgical intervention. This study compares the outcomes of two surgical techniques for this condition: open excision and Limberg flap reconstruction.*
The aim of the study. *To conduct a comparative evaluation of the open excision versus Limberg flap in managing sacrococcygeal pilonidal sinus to determine the relative advantages of the Limberg flap technique.*
Materials and methods. *This prospective study involved 70 randomly selected patients diagnosed with pilonidal sinus disease. Thirty-five patients underwent open excision, while 35 underwent Limberg flap reconstruction.*
Results. *The study found that the open excision method (1st method) had an average surgical duration of 33 minutes, while the Limberg flap method (2nd method) had an average duration of 40 minutes. Patients in the 1st method group recovered in 3–4 weeks, while those in the 2nd method group recovered in 12–15 days. The 1st method had two cases of wound infections and three recurrences, whereas the 2nd method had one case of seroma and no recurrence. The postoperative pain-free period ranged from 15–17 days for the 1st method and 12–15 days for the 2nd method.*
Conclusion. *The Limberg flap technique excels in managing the pilonidal sinus. It offers faster healing, lower pain scores, an earlier return to standard functions, and lower recurrence rates, making it an attractive choice for treating this condition. The study's findings provide valuable insights into the comparative outcomes of these two surgical approaches, highlighting the advantages of the Limberg flap technique in managing the sacrococcygeal pilonidal sinus.*

Key words: *pilonidal sinus, natal cleft, rhomboid excision, Limberg flap, PNS*

Received: 22.06.2024
Accepted: 20.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Ali S.M., Mohammed R.F., Mahmood K.I., Kadhim S.H. Comparative study of open excision technique versus Limberg flap reconstruction in the management of sacrococcygeal pilonidal sinus. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 230-237. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.24

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДА ОТКРЫТОГО ИССЕЧЕНИЯ И ПЛАСТИКИ ЛОСКУТОМ ЛИМБЕРГА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПИЛОНИДАЛЬНОГО СИНУСА

Али С.М. [1],
Мохаммед Р.Ф. [1],
Махмуд К.И. [2],
Кадим С.Х. [2]

[1] Университет медицинских и фармацевтических наук имени Джабира ибн Хайяна (54003, г. Эль-Куфа, ул. Корниш, провинция Наджаф, Ирак)
[2] Медицинский колледж Хаммурапи, Университет Вавилона (51002, г. Эль-Хилла, провинция Бабиль, Ирак)

Автор, ответственный за переписку:
Sahal Mohammed Ali,
e-mail: sahal.mohammed@jmu.edu.iq

РЕЗЮМЕ

Введение. *Крестцово-копчиковый пилонидальный синус – патология, характеризующаяся наличием дефекта в межъягодичной складке, которая обычно требует хирургического вмешательства. В представленном исследовании сравниваются результаты двух хирургических методов лечения данного состояния: открытого иссечения и реконструкции лоскутом Лимберга.*

Цель исследования. *Провести сравнительную оценку открытого иссечения и пластики лоскутом Лимберга в лечении крестцово-копчикового пилонидального синуса с целью определения преимуществ реконструкции лоскутом Лимберга.*

Материалы и методы. *В проспективном исследовании приняли участие 70 случайно выбранных пациентов с диагнозом пилонидальный синус. Тридцати пяти пациентам была проведена открытая резекция, а 35 пациентам – пластическая реконструкция с использованием лоскута Лимберга.*

Результаты. *Исследование показало, что при открытом методе иссечения (1-я группа) средняя продолжительность операции составила 33 мин, а при использовании пластики лоскутом Лимберга (2-я группа) – 40 мин. Выздоровление в первой группе пациентов наступило через 3–4 недели, во второй группе – через 12–15 дней. В группе с применением открытого метода иссечения наблюдалось два случая раневой инфекции и три рецидива, тогда как во второй группе был зафиксирован один случай серомы и ни одного рецидива. Послеоперационный безболезненный период составил 15–17 дней для пациентов первой группы и 12–15 дней – для группы с применением пластической реконструкции.*

Заключение. *Пластика лоскутом Лимберга является эффективным методом лечения пилонидального синуса. Она характеризуется более быстрым процессом заживления, низкими показателями боли, ранним возвращением к повседневной жизни и низким уровнем рецидивов. Это делает данную методику привлекательным выбором для лечения этой патологии. Результаты исследования предоставляют ценную информацию о сравнительных результатах двух хирургических подходов, подчеркивая преимущества пластической реконструкции с использованием лоскута Лимберга в лечении крестцово-копчикового пилонидального синуса.*

Ключевые слова: *пилонидальный синус, эпителиально-копчиковый ход, межъягодичная складка, ромбовидное иссечение, лоскут Лимберга*

Статья поступила: 22.06.2024
Статья принята: 20.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

Для цитирования: Али С.М., Мохаммед Р.Ф., Махмуд К.И., Кадим С.Х. Сравнительный анализ метода открытого иссечения и пластики лоскутом Лимберга при лечении пилонидального синуса. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 230-237. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.24

BACKGROUND

Pilonidal disorder encompasses a spectrum of conditions, including pilonidal sinus, pilonidal cyst, and pilonidal abscess, primarily affecting the sacrococcygeal area. This condition poses significant challenges, often manifesting as infection or abscess and progressing to a chronic sinus disease state. Individuals afflicted by pilonidal disease frequently experience discomfort, which can persist over extended periods and potentially impact their ability to engage in learning or work [1, 2]. Historically, pilonidal disease was attributed to congenital origins. However, contemporary perspectives favor an acquired etiology linked explicitly to the invagination of broken hair within the skin. This process provokes localised inflammation and is now considered the principal cause of the condition [3–5]. Pilonidal disease has historically been called "jeep driver's bottom disease" due to its prevalence among certain vehicle operators. Although this ailment can manifest in various body areas, it most commonly afflicts the sacrococcygeal region. The complex nature of this disease complicates its management, primarily due to an elevated risk of wound inflammation, reduced curative efficacy, and a propensity for recurrence [6, 7]. While pilonidal disease is not a life-threatening condition, it significantly impairs patients' well-being for prolonged durations, often extending to several months and increasing the likelihood of recurrence [8–10]. Multiple surgical and non-surgical therapeutic approaches have addressed pilonidal disease. These interventions include non-operative strategies such as sclerotherapy injection, cryotherapy (cryosurgery), electrocautery, and the regular mechanical removal of hair or topical creams. Operative procedures include open and wide-ranging excision, with options for open wound management and marsupialization [11–13].

The **principal aim of this study** is to compare open excision and the Limberg technique in treating sacrococcygeal pilonidal sinus.

In this study, it is essential to note that the effectiveness of the Limberg flap technique is widely acknowledged in the management of sacrococcygeal pilonidal sinus. This acknowledgement is supported not only by the present study's findings but also by a literature review that systematically assessed the management of pilonidal diseases, such as S.P. Chopade et al. [14] and J. Grabowski et al. [15]. The reviewed literature aligns with the current research findings, emphasizing the Limberg flap's efficacy in reducing postoperative complications, including wound infections.

However, our study provides an in-depth, firsthand analysis of comparing open excision and Limberg flap techniques in pilonidal sinus management. It offers detailed findings specific to this study's cohort, including gender distribution, duration of symptoms, surgical duration, and postoperative recovery times. This data contributes to a more detailed and statistically grounded evaluation of the Limberg flap's effectiveness. However, the article adds the valuable dimension of the original study's specific statistical and clinical data, providing a more detailed assessment of the Limberg flap's advantages in a real-world clinical setting.

METHODOLOGY

Study design

This study assessed 70 patients presenting with clinical manifestations of pilonidal sinus (diagnosed according to clinical symptoms and physical examination) who visited the Department of Surgery of Al-Hilla Teaching Hospital between January 2020 and September 2023. The institutional ethics committee approved the study. Ethical considerations were followed, and all patients were informed about the research objectives. Informed consent was obtained from all patients. Significantly, our experience in these two techniques exceeds ten years.

Patient selection criteria

Patients present with pilonidal sinus disease for more than three months duration with no active infection, and after the failure of conservative management, males and females, aged between 18 and 36 years and without comorbid diseases. Patients with pregnancy and those suffering from complicated or recurrent pilonidal sinuses were excluded from the study. The selected patients had a good general health status and underwent surgical intervention under general anesthesia. We discussed the applied technique with each patient, and the treatment method was based on each patient's decision. Recurrence means the same primary disease was observed within six months to 1-year follow-up after surgical removal [16]. Our study recorded pain scores using visual analog scale (VAS), widely used to measure pain intensity after surgeries.

Surgical procedures

The surgical procedure for pilonidal sinus treatment involves several steps. Initially, patients were positioned prone to provide access to the affected pilonidal cleft, and any hair within the area was removed. Subsequently, a solution comprising methylene blue dye (a salt used as a dye and as a medication) and hydrogen peroxide (H_2O_2 in a concentration of 3 %) was infused into the external opening of the sinus [17]. This was done to enable visualization of both the primary sinus tract and any branching tracts, which are essential for a thorough understanding of the condition. Surgical removal of the sinus was then carried out. The wound is left open to heal through the secondary intention process.

Post-surgery, patients were advised to rest, with a focus on maintaining proper wound care. This included daily dressing changes to prevent infection and promote optimal healing. For additional support during the healing process, patients were recommended to engage in bed rest and sleep in a prone or lateral position to alleviate pressure on the affected area. Patients were typically discharged within 24–48 hours following the surgical procedure. However, their care did not end there. Patients were encouraged to continue daily dressing changes and attend weekly follow-up visits to monitor their progress and ensure the wound was healing as expected.

The surgical process for the Limberg flap involved marking the resection borders and the flap using a surgical marker. This will guide the surgical team in removing the entire sinus, ensuring a comprehensive approach to treatment. The sinus excision involves extending the surgical incision laterally and inferiorly to the *gluteus maximus* fascia. To control bleeding during the procedure, hemostasis was achieved using electrocautery (a commonly used technique in surgical settings to stop bleeding by coagulating blood vessels).

Following the successful removal of the sinus, the flap was mobilized to fill the rhombus-shaped defect created by the excision. In addition, a closed suction drain was inserted through a separate wound to aid in postoperative drainage. The final stages of the surgical procedure involved wound closure. First, the subcutaneous layer was closed using interrupted 2/0 absorbable sutures (vicryl), followed by the closure of the skin layer using subcuticular 2/0 nonabsorbable sutures (nylon) (Fig. 1, 2).



FIG. 1.
Method 1 (open technique)



FIG. 2.
Method 2 (Limberg flap)

Postoperative medication

Patients received the following postoperative treatment:

- Amikacin vial 500 mg × 2
- Flagyl vial 500 mg × 3
- Paracetamol vial 1 g × 3
- Tramadol ampule once nightly (O/N).

This comprehensive approach to surgical intervention and postoperative care addressed the pilonidal sinus while ensuring optimal patient recovery and well-being.

Statistical analysis

The data were evaluated with the SPSS program (version 25); continuous numbers were described as mean ± standard deviation (*SD*). Categorical data were represented as frequency and percentage, in which the Chi-square test was applied. The *p*-value less than 0.05 was significant.

Ethical approval

The study was conducted under the ethical principles originating in the Declaration of Helsinki. Before the sample was taken, patients' verbal and analytical approval was obtained. According to document number 262, a local ethics committee reviewed and approved the study protocol, the subject information, and the consent form on January 2, 2020.

RESULTS

The study encompassed a cohort of 70 patients, with a significant male predominance (85.72 %), accounting for 60 male and 10 female patients. The average age of the participants was 27.3 years, falling within a range of 18 to 36 years. Among the patients, 35 cases were subjected to the first surgical method, comprising 30 males and five females, while the remaining 35 cases underwent the second surgical method, with an identical gender distribution.

The average duration of clinical symptomatology before surgical intervention was 2.35 months, ranging from 1 to 3 months. The first method's average surgical duration was approximately 33 minutes, ranging from 30 to 35 minutes. For the second method, the average surgical duration was around 40 minutes, ranging from 35 to 45 minutes. The difference in surgical duration between the two methods was statistically significant ($p < 0.05$).

Postoperatively, two patients in the first method group experienced wound infections, successfully managed through conservative measures. Conversely, three cases of recurrence were observed within six months to one year after the first method. The second method, however, exhibited more favorable outcomes, with one case of wound seroma treated through multiple aspirations under local anesthesia in a private clinic. No fat necrosis or recurrence incidents were recorded in the second method group. The difference in wound complications between the two methods was statistically significant ($p < 0.05$).

The postoperative pain-free walking period, without needing analgesic medication, ranged from 15 to 17 days for the first method. In contrast, the second method was reduced to 12 to 15 days. The difference in postoperative pain scores between the two methods was statistically significant ($p < 0.01$). The time required for patients to regain their normal daily functions was 3 to 4 weeks for the first method and 2 to 3 weeks for the second method. The difference in recovery time between the two methods was statistically significant ($p < 0.05$). A detailed summary of the study results is presented in Tables 1–3, along with graphical representations in Figures 3 and 4. This analysis suggests that the second method demonstrated a favourable outcome compared to the first method, with lower postoperative complications and faster recovery times.

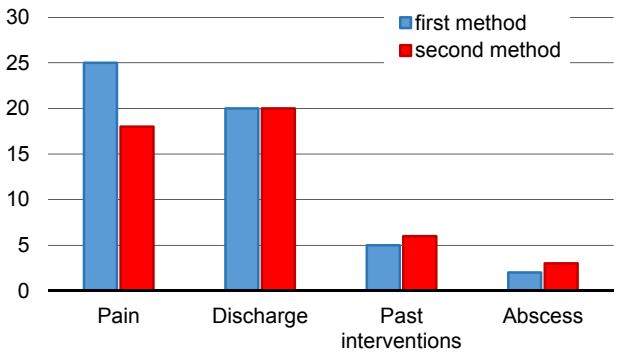


FIG. 3.
Preoperative signs and symptoms of patients for the two surgical methods

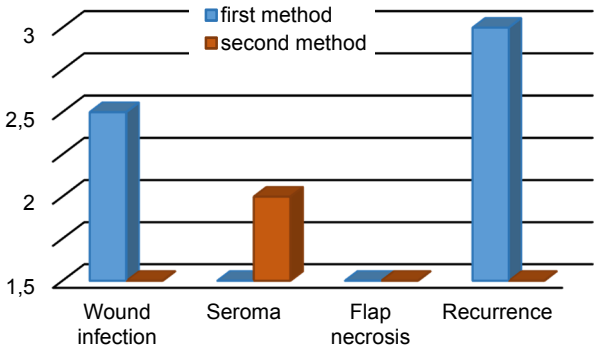


FIG. 4.
Postoperative complications of patients for the two surgical methods

TABLE 1
DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS (BOTH METHODS)

Age group	Males	Females
18–22.5	18	3
22.5–27	25	4
27–31.5	7	2
31.5–36	10	1
Total	60	10

TABLE 2
HISTORY OF THE DISEASE (BOTH METHODS)

Clinical presentation	Number of patients – first method, *n* (%)	Number of patients – second method, *n* (%)
Pain	25 (71.1 %)	18 (51 %)
Discharge	20 (57 %)	20 (57 %)
Abscess	2 (5 %)	3 (8 %)

TABLE 3
OPERATIVE DATA (BOTH METHODS)

Parameters	Range – first method	Range – second method	*p*
Operative time	30–35 min	35–45 min	< 0.05
Pain score (VAS)	6–8	2–4	< 0.01
Hospital stay	1–2 days	1–2 days	0.10
Drain removal	–	Variable*	N/A
Suture removal	–	12–14 days	N/A

Note. * – removed after discharge dropped to less than 30 ml per day.

This analysis suggests that the second method demonstrated a favourable outcome compared to the first method, with lower postoperative complications and faster recovery times.

DISCUSSION

Surgical management of sacrococcygeal pilonidal sinus is guided by several paramount objectives, including optimising wound healing, reducing the likelihood of recurrence, minimizing hospital duration, alleviating patient discomfort, and minimizing postoperative complications. The primary surgical goals encompass eliminating all sinus tracts and addressing the underlying causes contributing to this condition [18–21]. Various surgical techniques have been employed in pilonidal sinus treatment, ranging from excision with open wound management to primary closure of the surgical incision and, in some cases, flap reconstruction [22]. Final wound closure following pilonidal sinus surgery presents several advantages, particularly in achieving aesthetically pleasing results for selected patients.

Moreover, this approach is associated with expedited wound healing, allowing patients to resume their normal daily activities more promptly than open wound management procedures. It is important to note that leaving the wound tract exposed can be uncomfortable for patients, necessitating regular follow-up care to ensure proper wound healing and, in some cases, delaying the initial closure of the wound until it has completely healed. This emphasizes the significance of wound closure techniques in enhancing patient comfort and expediting recovery [23–27]. Wound infection rates following pilonidal sinus surgery have been a subject of interest and concern. Different series have reported infection rates ranging from 1.5 to 10 %. Our study's recorded wound infection rate was 7.5 %, which falls within this reported range. This suggests that the Limberg flap technique, while highly effective in preventing recurrence and reducing pain, aligns with the broader range of wound infection rates in other treatment modalities. It is essential to acknowledge that our study's relatively low infection rate is a positive outcome, especially considering the technique's other benefits. Pain management is a crucial aspect of postoperative care. Our study reported pain scores ranging from 2 to 4, with a mean score of 3.

In comparison, other studies employing various treatment modalities have reported varying levels of postoperative pain. For instance, patients undergoing simple excision in some studies experienced minimal to no pain (score of zero), while excision and marsupialization yielded pain scores of 6.7. The excision and midline closure approach resulted in pain scores of 7.3, and excision with flap techniques led to scores of 4.5. It is evident from these findings that the Limberg flap technique is associated with reduced postoperative pain, with our study demonstrating a mean pain score that is notably lower than that of some other modalities. This reduction in postoperative pain is a significant advantage of the Limberg flap technique, contributing to a more comfortable and less distressing patient recovery period. In terms of recurrence, our study offers particularly encouraging results. No cases of recurrence were recorded among patients treated with the Limberg flap technique. This contrasts with other studies where recurrence rates of approximately 10 % have been reported following various treatment modalities, including wide excision and marsupialization. The absence of recurrence in our study is a noteworthy finding and a testament to the efficacy of the Limberg flap technique in preventing the reappearance of the condition. This is a pivotal factor in ensuring long-term patient satisfaction and the overall success of the surgical approach [25, 28].

Thus, this study offers a comprehensive comparative analysis of open excision and Limberg flap techniques for managing sacrococcygeal pilonidal sinus. It notably demonstrates the Limberg flap technique's advantage in reducing postoperative pain. The Limberg flap technique eliminates the risk of recurrence, a vital outcome in pilonidal sinus management. These findings strongly advocate for the broader adoption of the Limberg flap technique in the clinical management of sacrococcygeal pilonidal sinus, as it offers a patient-centered approach to treatment with superior outcomes. Further research and clinical implementation of this technique are warranted to advance the field of pilonidal sinus management and enhance patient care.

CONCLUSION

In conclusion, the effectiveness of the Limberg flap technique in managing the sacrococcygeal pilonidal sinus has been widely acknowledged in the literature, including reviews conducted by S.P. Chopade et al. [29] and J. Grabowski et al. [15] have consistently demonstrated the Limberg flap's efficacy in reducing postoperative complications, including wound infections, compared to other treatment modalities. The surgical management of sacrococcygeal pilonidal sinus poses some challenges, requiring a balance between efficient wound healing, low recurrence rates, and shorter hospital stays. This study conducted a comparative analysis of two surgical techniques, open excision and Limberg flap, in pursuit of these objectives.

The results indicate that the Limberg flap technique outperforms the open excision method regarding surgical duration, postoperative recovery time, pain scores, and recurrence rates compared to other studies [26, 30, 21]. These advantages make the Limberg flap an attractive choice for treating sacrococcygeal pilonidal sinus, as it offers faster healing, an earlier return to standard functions, and a lower risk of complications, ultimately improving patient outcomes and quality of life. The study's findings contribute to the growing body of evidence supporting the clinical adoption of the Limberg flap as a preferred surgical approach for this condition.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

This study was conducted in Al-Hilla Teaching Hospital; we appreciate the efforts of our seniors and colleagues and the excellent assistance of all the medical staff.

REFERENCES

1. Seow-Choen F, Seow-En I. Pilonidal disease: A new look at an old disease. *Semin Colon Rectal Surg.* 2022; 33(4). doi: 10.1016/j.scrs.2022.100909

2. Kumar M, Clay WH, Lee MJ, Brown SR, Hind D. A mapping review of sacrococcygeal pilonidal sinus disease. *Tech Coloproctol.* 2021; 25(6): 675-682. doi: 10.1007/s10151-021-02432-9

3. Gil LA, Deans KJ, Minneci PC. Management of pilonidal disease. *JAMA Surg.* 2023; 158(8): 875-883. doi: 10.1001/jamasurg.2023.0373

4. Rudd AB, Davis A, Butts CC. Presentation, management, and women's health implications of pilonidal disease. *Nurs Womens Health.* 2021; 25(4): 312-318. doi: 10.1016/j.nwh.2021.06.004

5. Bubenova M, Mittlboeck M, Kulinna-Cosentini C, Teleky B, Cosentini E. Pilonidal sinus disease: A 25-year experience and long-term results of different surgical techniques. *Eur Surg.* 2022; 54(5): 240-248. doi: 10.1007/s10353-022-00767-7

6. Kaleem M, Mubarik F, Afzal MU, Zahid A, Andrabi WI, Qureshi SS, et al. Compare outcome of simple excision with primary closure vs rhomboid excision with Limberg flap for pilonidal sinus. *Pakistan J Med Health Sci.* 2021; 15(11): 2920-2922. doi: 10.53350/pjmhs2115112920

7. Bukhari SH, Masood S, Asaf HM, Saleem MA, Naseem N, Zubair Z. Comparative study of outcome of simple excision with primary closure versus rhomboid excision with Limberg flap for sacrococcygeal pilonidal sinus. *Pakistan J Med Health Sci.* 2020; 14(3): 632-637.

8. Sinnott CJ, Glickman LT. Limberg flap reconstruction for sacrococcygeal pilonidal sinus disease with and without acute abscess: Our experience and a review of the literature. *Arch Plast Surg.* 2019; 46(03): 235-240. doi: 10.5999/aps.2018.01312

9. Dass TA, Zaz M, Rather A, Bari S. Elliptical excision with midline primary closure versus rhomboid excision with Limberg flap reconstruction in sacrococcygeal pilonidal disease: A prospective, randomized study. *Indian J Surg.* 2012; 74(4): 305-308. doi: 10.1007/s12262-011-0400-9

10. Salih AM, Kakamad FH, Essa RA, Othman S, Salih RQ, Aziz MS, et al. Pilonidal sinus of the face: Presentation and management – A literature review. *Pilonidal Sinus J.* 2017; 3(1): 9-13.

11. Irpatgire R, Chakrod S. Limberg flap reconstruction following rhomboid excision of the sacrococcygeal pilonidal sinus. *Int J Surg.* 2016; 3(2): 846-849. doi: 10.18203/2349-2902.isj20161159

12. Dogra V, Mushtaq U, Gilkar IA, Peer JA. Pilonidal sinus and use of Limberg flap: A three years' experience from two tertiary care centres of Northern India. *Int J Surg.* 2022; 9(2): 444-448. doi: 10.18203/2349-2902.isj20220339

13. Ekici U, Kanlıöz M, Ferhatoğlu MF, Kartal A. A comparative analysis of four different surgical methods for treatment of sacrococcygeal pilonidal sinus. *Asian J Surg.* 2019; 42(10): 907-913. doi: 10.1016/j.asjsur.2018.12.011

14. Chopade SP, Adhikari GR. Comparative study of Limberg flap reconstruction with wide-open excision and healing by secondary intention in the management of pilonidal sinus: Our experience at a tertiary care center in India. *Cureus.* 2022; 14(6): e26396. doi: 10.7759/cureus.26396

15. Grabowski J, Oyetunji TA, Goldin AB, Baird R, Gosain A, Lal DR, et al. The management of pilonidal disease: A systematic review. *J Pediatr Surg.* 2019; 54(11): 2210-2221. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2019.02.055

16. Myles PS, Myles DB, Galagher W, Boyd D, Chew C, MacDonald N, et al. Measuring acute postoperative pain using the visual analog scale: The minimal clinically important difference and patient acceptable symptom state. *Br J Anaesth.* 2017; 118(3): 424-429. doi: 10.1093/bja/aew466

17. Aldaqal SM, Kensarah AA, Alhabboubi M, Ashy AA. A new technique in management of pilonidal sinus, a university teaching hospital experience. *Int Surg.* 2013; 98(4): 304-306. doi: 10.9738/INTSURG-D-13-00064.1

18. Khan N, Singhal P, Chandrashekhar S, Goel D. Is Limberg flap better than excision and primary closure for treatment of sacrococcygeal pilonidal sinus – a prospective randomised study of 30 cases. *Int J Surg.* 2021; 8(2): 699-703. doi: 10.18203/2349-2902.isj20210388

19. Ghaffar N, Farooq N, Hussain MS. Limberg flap versus open procedure in treatment of chronic pilonidal sinus. *Pakistan J Med Health Sci.* 2022; 16(3): 248. doi: 10.53350/pjmhs22163248

20. Büyükakincak S, Tarim IA, Karapolat B, Ateş G. Comparison of different surgical techniques of sacrococcygeal pilonidal sinus disease. *J Experim Clin Med (Turkey).* 2021; 38(3): 283-287. doi: 10.52142/omujecm.38.3.14

21. Palsania OP, Galwa R, Choudhary G, Singh N, Meena SK. A comparative study between wide local excision with lay open versus Limberg flap transposition in the management of pilonidal sinus disease – A single center study. *Asian J Med Sci.* 2023; 14(10): 251-257. doi: 10.3126/ajms.v14i10.55335

22. Eldsoky ES, Atwa NS, Naroz MI, Hifny A. Comparative study between excision with primary closure versus flap reconstruction in management of sacrococcygeal pilonidal sinus. *Sci J Med Scholar.* 2021; 2021(1): 13-22. doi: 10.55675/sjms.v2021i1.45

23. Fahrni GT, Vuille-Dit-Bille RN, Leu S, Meuli M, Staerkle RF, Fink L, et al. Five-year follow-up and recurrence rates following surgery for acute and chronic pilonidal disease: A survey of 421 cases. *Wounds.* 2016; 28(1): 20-26.

24. Muzi MG, Milito G, Cadeddu F, Nigro C, Andreoli F, Amabile D, et al. Randomized comparison of Limberg flap versus modified primary closure for the treatment of pilonidal disease. *Am J Surg.* 2010; 200(1): 9-14. doi: 10.1016/j.amjsurg.2009.05.036

25. Ersoy E, Devay AO, Aktimur R, Doganay B, Özdoğan M, Gündoğdu RH. Comparison of the short-term results after Limberg and Karydakis procedures for pilonidal disease: Randomized prospective analysis of 100 patients. *Colorectal Dis.* 2009; 11(7): 705-710. doi: 10.1111/j.1463-1318.2008.01646.x

26. Kumar R, Hastir A, Walia RS, Goyal S, Kaur A. Prospective randomized study of surgical treatment of pilonidal sinus; primary midline closure after elliptical excision versus rhomboid excision with Limberg flap reconstruction versus open excision and healing by secondary intention. *Int J Surg.* 2017; 4(11): 3646-3651. doi: 10.18203/2349-2902.isj20174879

27. Algazar M, Zaitoun MA, Khalil OH, Abdalla WM. Sinus laser closure (SiLaC) versus Limberg flap in management of pilonidal disease: A short-term non-randomized comparative pro-

spective study. *Asian J Surg.* 2022; 45(1): 179-183. doi: 10.1016/j.asjsur.2021.04.026

28. Boshnaq M, Phan YC, Martini I, Harilingam M, Akhtar M, Tsavellas G. Limberg flap in management of pilonidal sinus disease: Systematic review and a local experience. *Acta Chirurgica Belgica.* 2018; 118(2): 78-84. doi: 10.1080/00015458.2018.1430218

29. Uçar AD, Carti EB, Oymaci E, Sari E, Yakan S, Yildirim M, et al. Recurrent pilonidal disease surgery: Is it second primary or reoperative surgery? *Turk J Surg.* 2016; 32(3): 162. doi: 10.5152/UCD.2015.3112

30. Wadhawan G, Sharma D, Vyas KC. A comparative study of different treatment outcomes in cases of pilonidal disease. *Int J Surg.* 2020; 4(3): 292-297. doi: 10.33545/surgery.2020.v4.i3e.511

Information about the authors

Sahal Mohammed Ali – Bachelor of Medicine, Bachelor of Surgery, Fellow of Iraqi Board of Medical Specialties (General Surgery), Lecturer at the Faculty of Medicine, Jabir Ibn Hayyan University for Medical and Pharmaceutical Sciences, e-mail: sahal.mohammed@jmu.edu.iq, https://orcid.org/0000-0001-6444-5437

Raad Fadhil Mohammed – Lecturer at the Faculty of Medicine, Jabir Ibn Hayyan University for Medical and Pharmaceutical Sciences, e-mail: raad.fadhil@uobabylon.edu.iq, https://orcid.org/0000-0002-0387-1552

Karrar Ibrahim Mahmood – Assistant Professor, Fellow of Iraqi Commission for Medical Specializations, Lecturer at the Department of Surgery, University of Babylon, Hammurabi College of Medicine, e-mail: Karar.ibrahim@uobabylon.edu.iq, https://orcid.org/0000-0002-6154-9609

Salah Hadi Kadhim – Assistant Professor, Fellow of Iraqi Commission for Medical Specializations, Lecturer at the General Surgery Department, Hammurabi College of Medicine, University of Babylon, e-mail: Salahaljanaby@yahoo.com, https://orcid.org/0000-0001-8416-8860

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
EXPERIMENTAL RESEARCHES

МЕТАБОЛИЧЕСКИ АССОЦИИРОВАННАЯ ЖИРОВАЯ БОЛЕЗНЬ ПЕЧЕНИ И САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 2-ГО ТИПА У МЫШЕЙ *DB/DB*. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН В ПЕЧЕНИ, МИКРО- И УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Мичурина С.В. [1],
Колесников С.И. [2, 3],
Васендин Д.В. [4, 5],
Ищенко И.Ю. [1]

[1] Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, Россия)
[2] ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)
[3] ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (119991, г. Москва, Ленинские горы, 1, Россия)
[4] ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет геосистем и технологий» (630108, г. Новосибирск, ул. Плахотного, 10, Россия)
[5] ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет телекоммуникаций и информатики» (630102, г. Новосибирск, ул. Гурьевская, 86, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Мичурина Светлана Викторовна,
e-mail: michurinasv3000@gmail.com

Статья поступила: 21.08.2024
Статья принята: 20.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

РЕЗЮМЕ

Ожирение, сахарный диабет (СД) и метаболически ассоциированная жировая болезнь печени (МАЖБП) – одни из самых актуальных проблем современности. Показано, что мелатонин (МТ) эффективен в коррекции ряда метаболических нарушений, но данных о его влиянии на морфологические особенности липидного обмена при ожирении и СД 2-го типа (СД2) недостаточно.

Цель работы. *Изучить микро- и ультраструктурные особенности липидного обмена в печени мышей db/db с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа и оценить влияние на них введения мелатонина.*

Методы. *Самкам мышей db/db с 8-недельного возраста интрагастрально в течение 56 суток вводили раствор МТ (1 мг/кг в 200 мкл воды). Группами сравнения были интактные (контроль) и плацебо-животные, которым вводили 200 мкл dH_2O по вышеуказанной схеме. Проводили светооптическое и электронно-микроскопическое исследование образцов печени.*

Результаты. *У контрольных и плацебо db/db мышей гепатоциты характеризовались вакуолярной дистрофией и абберантным накоплением мелких липидных включений, иногда с наличием гигантских липидных капель (ЛК). Также выявлены: стресс эндоплазматического ретикулума (ЭПР); уплотнение матрикса митохондрий с хаотично расположенными кристами либо разрушение их ультраструктуры; митофагосомы; комплексы митохондрий с ЛК; массовый экзоцитоз ЛК в межгепатоцитарные щели и пространства Диссе с застоем межклеточной жидкости.*

Введение МТ приводило к снижению относительного числа гепатоцитов с ЛК, уменьшению доли клеток с мелкокапельными включениями и увеличению процента гепатоцитов со средними и крупными, но не гигантскими ЛК. Нормализовалась ультраструктура митохондрий, нарастали комплексы митохондрий с большими компартментами гранулярной ЭПР. Экзоцитоз ЛК в межгепатоцитарные щели не выявлялся.

Заключение. *Мелатонин может рассматриваться как перспективное средство в комплексной терапии МАЖБП при ожирении и СД2.*

Ключевые слова: *мыши db/db, сахарный диабет 2-го типа, мелатонин, ультраструктура, метаболически ассоциированная жировая болезнь печени (МАЖБП)*

Для цитирования: Мичурина С.В., Колесников С.И., Васендин Д.В., Ищенко И.Ю. Метаболически ассоциированная жировая болезнь печени и сахарный диабет 2-го типа у мышей *db/db*. Влияние мелатонина на липидный обмен в печени, микро- и ультраструктурная характеристика. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 238-247. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.25

GENETICALLY DETERMINED FATTY LIVER DISEASE AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN *DB/DB* MICE. THE EFFECT OF MELATONIN ON LIPID METABOLISM IN THE LIVER, MICRO- AND ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS

Michurina S.V. [1],
Kolesnikov S.I. [2, 3],
Vasendin D.V. [4, 5],
Ishchenko I.Yu. [1]

[1] Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences (Timakova str. 2, Novosibirsk 630060, Russian Federation)
[2] Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)
[3] Lomonosov Moscow State University (Leninskie Gory 1, Moscow 119991, Russian Federation)
[4] Siberian State University of Geosystems and Technologies (Plakhotnogo str. 10, Novosibirsk 630108, Russian Federation)
[5] Siberian State University of Telecommunications and Informatics (Guryevskaya str. 86, Novosibirsk 630102, Russian Federation)

Corresponding author:
Svetlana V. Michurina,
e-mail: michurinasv3000@gmail.com

Received: 21.08.2024
Accepted: 20.01.2025
Published: 13.03.2025

ABSTRACT

Background. *Obesity, diabetes mellitus and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease are some of the most pressing issues of our time. Melatonin has been shown to be effective in correcting a number of metabolic disorders, but there is insufficient data on its effect on morphological features of lipid metabolism in obesity and type 2 diabetes mellitus.*

The aim. *To study micro- and ultrastructural features of lipid metabolism in the liver of db/db mice with obesity and type 2 diabetes mellitus and to evaluate the effects of melatonin treatment on them.*

Methods. *Female db/db mice from 8 weeks of age were administered melatonin solution intragastrically (1 mg/kg in 200 µl of water) for 56 days. The comparison groups were intact (control) and placebo animals, which were injected with 200 µl of dH_2O according to the above scheme. Light-optical and electron microscopic examinations of liver samples were performed.*

Results. *In control and placebo db/db mice, hepatocytes were characterized by vacuolar dystrophy and aberrant accumulation of small lipid inclusions, sometimes with the presence of giant lipid droplets (LDs). Also we revealed: endoplasmic reticulum stress; densification of the mitochondrial matrix with chaotically arranged cristae, or destruction of their ultrastructure; mitophagosomes; complexes of mitochondria with LDs; mass exocytosis of LDs into the interhepatocyte slits and Dysse spaces with stagnation of intercellular fluid. Treatment with melatonin resulted in a decrease in the relative number of hepatocytes with LDs, a decrease in the percentage of cells with small-droplet inclusions, and an increase in the percentage of hepatocytes with medium and large, but not giant LDs. The mitochondria ultrastructure improved, and the formation of complexes from mitochondria with large compartments of granular endoplasmic reticulum increased. Exocytosis of LDs into the interhepatocytic slits was not detected.*

Conclusion. *Melatonin can be considered as a promising agent in complex therapy of metabolic associated fatty liver disease in obesity and type 2 diabetes mellitus.*

Key words: *db/db mice, type 2 diabetes mellitus, melatonin, ultrastructure, metabolic associated fatty liver disease, (MAFLD)*

For citation: Michurina S.V., Kolesnikov S.I., Vasendin D.V., Ishchenko I.Yu. Genetically determined fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus in *db/db* mice. The effect of melatonin on lipid metabolism in the liver, micro- and ultrastructural characteristics. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 238-247. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.25

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что нарушение циркадных ритмов, гиподинамия, неправильное питание и хронические инфекционные заболевания приводят к развитию метаболического синдрома, который является одной из актуальных проблем современной медицинской науки в связи с высокой распространённостью и ранней инвалидизацией этой категории пациентов. Метаболический синдром образован кластером различных синергических патологий (абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, инсулинорезистентность, дислипидемия), которые взаимосвязаны, несмотря на то, что могут различаться по этиологии, развитию, проявлениям и механизмам [1, 2].

Начало проявления ожирения, сахарного диабета 2-го типа (СД2) и метаболического синдрома как сочетания вышеперечисленных патологий характеризуется преждевременной прогрессирующей цитоатрофией и органоинволюцией, вызванными нарушением регуляции клеточных глюко- и липометаболических каскадов. Последующая системная интерстициальная и внутриклеточная гиперлипидемия приводит к нарушению нормальной цитоинтеграции и метаболической чувствительности к установленной гиперкалорической перицеллюлярной среде [3]. Печень является ключевым органом, контролирующим энергетический баланс, а нарушения функции печени имеют серьёзные последствия для гомеостаза глюкозы и липидов, гемодинамики и иммунных процессов. Дисбаланс липидного обмена в печени приводит к аномальному отложению триглицеридов в гепатоцитах и, как следствие, к развитию метаболически ассоциированной с ними жировой болезни печени (МАЖБП) [4, 5].

Согласно последним научным данным, многие патологические состояния, включая ожирение, СД2 или метаболический синдром в целом развиваются на фоне нарушения/снижения продукции мелатонина (МТ) и его концентрации в крови пациентов, что играет важную роль в регуляции гомеостаза глюкозы [6]. МТ не только реализует важные для организма функции антиоксиданта и хронобиотика, но и оказывает влияние на углеводный обмен, секрецию инсулина, лептина и адипонектина, пролиферацию адипоцитов и пищевое поведение. Гипомелатонинемия совместно с вызываемыми ею депривацией сна, нарушением пищевого поведения, углеводного и жирового обмена, в настоящее время считается одной из причин «неинфекционной эпидемии XXI века» – экзогенно-конституционального ожирения [7, 8]. Ожирение вызывает серьёзные метаболические нарушения в организме и предрасполагает к развитию тяжёлых заболеваний, таких как артериальная гипертензия, атеросклероз, СД2 и МАЖБП [9], которые в значительной степени ассоциированы с дислипидемией [10]. Четырьмя основными механизмами, ответственными за регуляцию метаболизма липидов в печени, являются поглощение жирных кислот, липогенез *de novo*, липолиз и окисление жирных кислот [11, 12]. Однако влияние мелатонина на морфологические особенности липидного обмена в печени *db/db* мышей исследованы недостаточно.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить микро- и ультраструктурные особенности липидного обмена в печени мышей линии BKS.Cg-Dock7^{m}+/+Lepr^{db}/J (*db/db*) с метаболически ассоциированной жировой болезнью печени и сахарным диабетом 2-го типа и оценить влияние на них введения мелатонина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводился на самках селекционной модели животных: мыши *db/db* (BKS.Cg-Dock7^{m}+/+Lepr^{db}/J) с генетически детерминированным развитием ожирения и СД2. Гомозиготные животные данной линии имеют дефект рецептора лептина (*Lepr db*) и характеризуются полифагией, прогрессирующим ожирением с 3–4-й недели жизни, выраженной гипергликемией с 4–8-й недели жизни, развитием органных поражений после 8–10-й недели. Животных содержали в контролируемых барьерных помещениях ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (RFMEFI62119X0023), предоставляли им свободный доступ к еде (сбалансированный гранулированный корм SSNIFF, Германия) и воде. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза о защите животных, используемых в научных целях, и с соблюдением правил надлежащей лабораторной практики. Исследование одобрено этическим комитетом Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (протокол № 128 от 15.03.2017).

Мелатонин (MP Biomedicals, США) вводили мышам с 8-й по 16-ю неделю интрагастрально через зонд (1 мг/кг в 200 мкл dH_2O в течение 56 суток; $n = 7$). Группами сравнения были интактные особи в возрасте 16 недель (контроль; $n = 5$) и *db/db* мыши плацебо (200 мкл dH_2O по вышеуказанной схеме; $n = 5$).

Животных выводили из эксперимента методом краниоцервикальной дислокации, забирали образцы печени для электронно-микроскопического исследования, фиксировали их в 4%-м параформальдегиде на 0,1 М фосфатном буфере (pH = 7,4) с последующей дофиксацией в 1%-м OsO_4 (Sigma Aldrich, США), обезвоживали и заключали в эпон-812 (Serva, Германия). Полутонкие срезы, окрашенные толуидиновым синим (Sigma Aldrich, США), использовали для подсчёта доли гепатоцитов (%), содержавших липидные включения, а среди них высчитывали % клеток с мелкими ($d \leq 2$ мкм), средними ($2 \leq d \leq 6$ мкм) и крупными ($d > 6$ мкм) липидными каплями (ЛК). Было исследовано более 100 полей зрения в каждой группе: в контроле – 134 поля зрения, в плацебо – 173, в группе введения мелатонина – 225. Определяли значения медианы, первого и третьего квартилей, среднее арифметическое. Статистическую значимость различий сравни-

ваемых величин между группами вычисляли с помощью непараметрического теста Краскела – Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Срезы толщиной 35–45 нм контрастировали водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали под электронным микроскопом JEOL JEM-1400 (Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Паренхиматозные клетки печени как интактных *db/db* мышей, так и животных плацебо характеризовались вакуолярной дистрофией и абберантным накоплением липидных включений (рис. 1а, б), что свидетельствовало о развитии у них МАЖБП. При этом доля гепатоцитов, содержавших ЛК, была повышена у мышей плацебо (табл. 1), что может быть объяснено стрессом, вызванным внутрижелудочным введением воды через зонд.

Среди липидосодержащих паренхиматозных клеток преобладали гепатоциты с мелкими ЛК (табл. 1; рис. 1а, б). Иногда в цитоплазме гепатоцитов встречались гигантские ЛК, достигающие размеров клетки, формирующиеся в результате слияния мелких липидных включений (рис. 1а).

На ультраструктурном уровне (рис. 2) как у интактных, так и у животных плацебо выявлялся стресс эндоплазматического ретикулума (ЭПР), проявлявшийся в разбухании цистерн и трубочек, теряющих свои стенки с осыпающимися рибосомами. Встречались аутофагосомы, формирующиеся из скопления рибосом. Отмечались большие поля гликогена (рис. 2а–в). Митохондрии либо характеризовались очень плотным матриксом с хаотично расположенными кристами, либо имели разрушающуюся структуру (рис. 2а–г), встречались митофагосомы. Дезорганизация митохондрий, как известно, приводит к выделению факторов, запускающих апоптоз (цитохром с, каспазы) [13]. Наблюдался выраженный экзоцитоз мелких капель липидов из гепатоцитов в пространства Диссе (рис. 2а) и в межгепатоцитарные щели (рис. 2б, г). Компактные участки с комплексами «митоГЭР (гранулярного эндоплазматического ретикулума)» (комплексы митохондрий с неразрушенными профилями гранулярного ЭПР) выявлялись редко.

ТАБЛИЦА 1

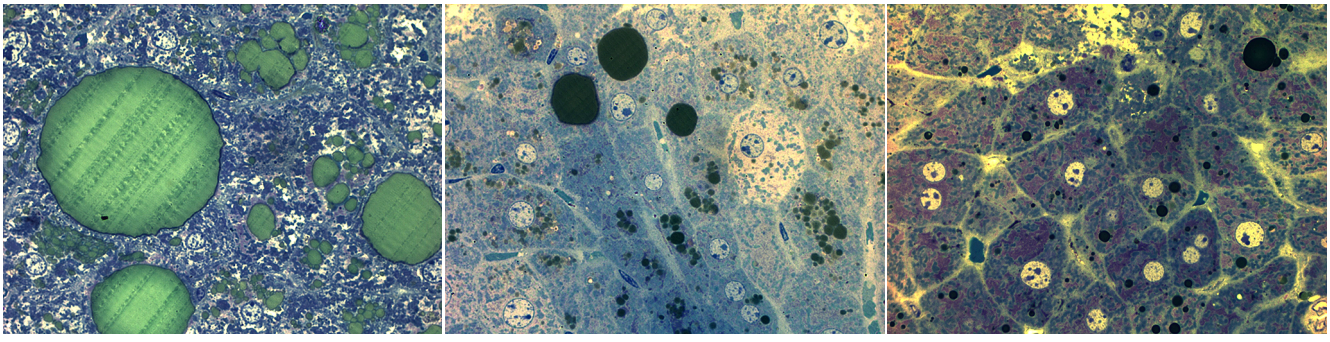
ОТНОСИТЕЛЬНОЕ КОЛИЧЕСТВО ГЕПАТОЦИТОВ С ЛИПИДНЫМИ ВКЛЮЧЕНИЯМИ И ДОЛЯ ГЕПАТОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЗМЕРА ЛИПИДНЫХ КАПЕЛЬ

TABLE 1

RELATIVE VALUE OF HEPATOCYTES WITH LIPID INCLUSIONS AND THE PROPORTION OF HEPATOCYTES DEPENDING ON THE SIZE OF LIPID DROPLETS

Группы	Доля гепатоцитов с липидными включениями (%), Me (Q1; Q3)	Доля гепатоцитов в зависимости от размера липидных капель (%), Me (Q1; Q3)		
		мелкие капли	средние капли	крупные капли
Контроль	77,78 (68,97; 86,36)	75,00 (64,71; 80,00)	22, 05 (16,00; 28,57)	0,01 (0,01; 5,80)
Плацебо	83,33 (69,70; 91,67)*	66,67 (59,26; 76,92)*	27,78 (20,69; 34,78)*	0,01 (0,01; 6,67)
Мелатонин	77,78 (53,85; 88,89)•	40,00 (25,00; 57,14)*; •	42,86 (31,82; 55,56)*; •	10,71(4,00; 20,83)*; •

Примечание. * – сравнение с контролем; • – сравнение с плацебо.



а ***б*** ***в***

РИС. 1.

*Фото гепатоцитов печени половозрелых самок db/db мышей: мелкокапельный характер стеатоза в группах «Контроль» (**а**) и «Плацебо» (**б**) с отдельными гигантскими липидными включениями; **в** – появление большего числа гепатоцитов со средними и большими липидными включениями (но не гигантскими ЛК) в группе «Мелатонин». Полутонкие препараты, окраска толуидиновым синим; окуляр 10, объектив 100, иммерсия*

FIG. 1.

*Photo of liver hepatocytes of mature female db/db mice: small-drop steatosis in the "Control" (**а**) and "Placebo" (**б**) groups with individual giant lipid inclusions; **в** – the appearance of a larger number of hepatocytes with medium and large lipid inclusions (but not with giant lipid droplets) in the "Melatonin" group. Semithin preparations, toluidine blue stain; magnification ×1000, immersion*

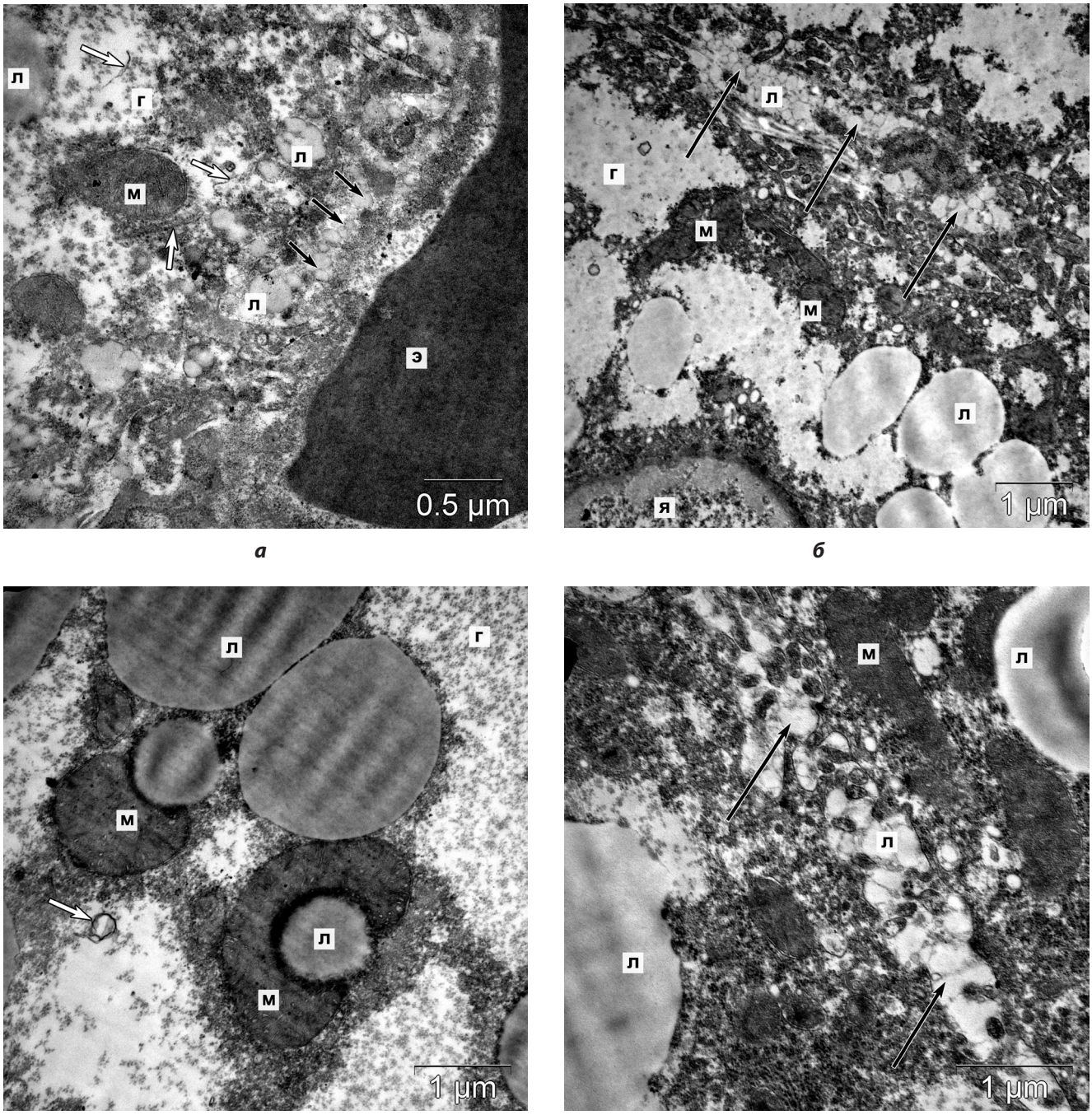
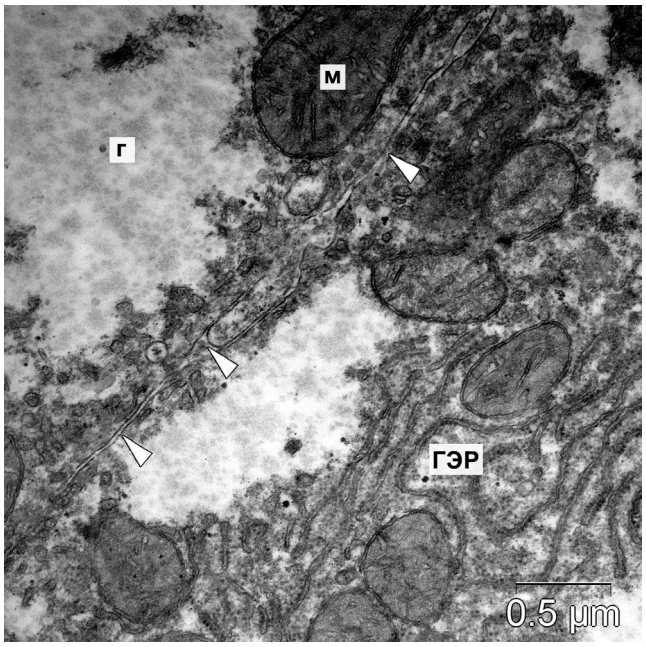


РИС. 2.

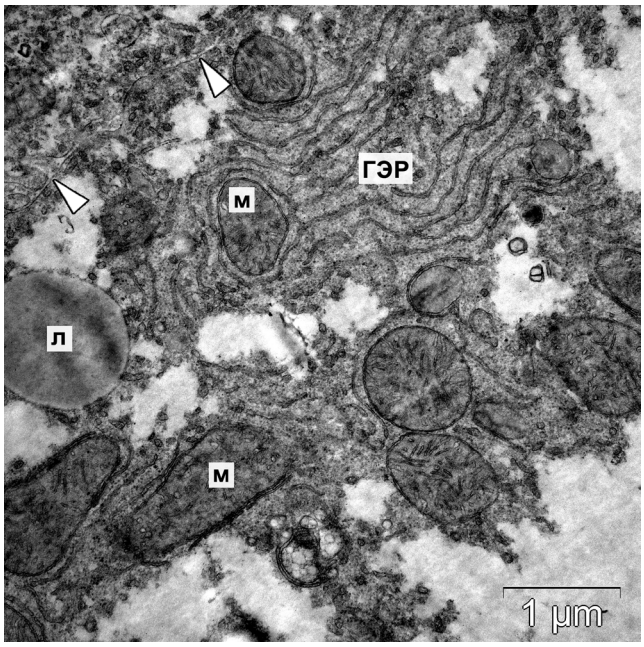
Ультраструктурные особенности печени db/db мышей с ожирением и СД2 групп «Контроль», «Плацебо» и «Мелатонин»: ***а, б*** *– группа «Контроль»: выраженный экзоцитоз мелких капель липидов из гепатоцитов в пространство Диссе (****а****) и межгепатоцитарные щели (****б****);* ***в, г*** *– группа «Плацебо»: комплексы липидов с митохондриями и экзоцитоз липидов в межгепатоцитарные щели.* г *– гликоген;* л *– липидная капля;* м *– митохондрия;* э *– эритроцит (в просвете синусоидного капилляра);* я *– ядро гепатоцита; черные короткие стрелки – экзоцитоз липидных капель в пространство Диссе; черные длинные стрелки – экзоцитоз ЛК в межгепатоцитарные щели; белые стрелки – остатки профилей ЭПР; белые «треугольные» стрелки – межгепатоцитарные щели без экзоцитоза ЛК*

FIG. 2.

Ultrastructural features of the liver in db/db mice with obesity and type 2 diabetes mellitus of "Control", "Placebo" and "Melatonin" groups: ***а, б*** *– the "Control" group: pronounced exocytosis of small lipid droplets (LDs) from hepatocytes into Disse's space (****а****) and into interhepatocytic slits (****б****);* ***в, г*** *– the "Placebo" group: lipid complexes of LDs with mitochondria and exocytosis of LDs into interhepatocytic slits.* г *– glycogen;* л *– lipid droplet;* м *– mitochondria;* э *– erythrocyte (in the lumen of the sinusoidal capillary);* я *– hepatocyte nucleus; short black arrows – exocytosis of LDs into the Disse space; long black arrows – exocytosis of LDs into the interstitial slits; white arrows – remnants of the endoplasmic reticulum profiles; white "triangular" arrows – interhepatocytic slits without exocytosis of LDs*



д



е

РИС. 2 (продолжение).
Ультраструктурные особенности печени db/db мышей с ожирением и СД2 групп «Контроль», «Плацебо» и «Мелатонин»: ***д, е*** *– группа «Мелатонин»: нормализация состояния профилей ЭПР, отсутствие экзоцитоза в межгепатоцитарные щели, комплексирование митохондрий с гранулярным ЭПР.* г *– гликоген ГЭР – гранулярный эндоплазматический ретикулум;* л *– липидная капля;* м *– митохондрия;* э *– эритроцит (в просвете синусоидного капилляра);* я *– ядро гепатоцита; черные короткие стрелки – экзоцитоз липидных капель в пространство Диссе; черные длинные стрелки – экзоцитоз ЛК в межгепатоцитарные щели; белые стрелки – остатки профилей ЭПР; белые «треугольные» стрелки – межгепатоцитарные щели без экзоцитоза ЛК*

FIG. 2 (continued).
Ultrastructural features of the liver in db/db mice with obesity and type 2 diabetes mellitus of the "Control", "Placebo" and "Melatonin" groups. ***д, е*** *– the "Melatonin" group: recovery of the state of endoplasmic reticulum profiles, absence of exocytosis into interhepatocytic slits, complexing mitochondria with granular endoplasmic reticulum.* г *– glycogen ГЭР – granular endoplasmic reticulum;* л *– lipid droplet LD;* м *– mitochondria;* э *– erythrocyte (in the lumen of the sinusoidal capillary);* я *– hepatocyte nucleus; short black arrows – exocytosis of LDs into the Disse space; long black arrows – exocytosis of lipid droplets into the interstitial slits; white arrows – remnants of the endoplasmic reticulum profiles; white "triangular" arrows – interhepatocytic slits without exocytosis of LDs*

Введение МТ *db/db* мышам в течение 2 месяцев способствовало статистически значимому снижению доли гепатоцитов с липидными включениями по сравнению с плацебо (табл. 1). Причём установлено уменьшение количества паренхиматозных клеток с мелкими липидными каплями и увеличение числа гепатоцитов со средними и крупными жировыми включениями по сравнению как с контролем, так и с плацебо (табл. 1; рис. 1в). При этом формирования гигантских ЛК не выявлялось, а плотность липидных включений на клетку была значительно менее выражена по сравнению с контрольными и плацебо-животными (табл. 1). Ультраструктурно гепатоциты характеризовались менее выраженными полями гликогена, большими компартментами с неразрушенными гранулярными профилями ЭПР, комплексирующими с митохондриями (рис. 2д, е); наблюдались тесные контакты мембран митохондрий и пероксисом с ЛК. Отсутствовал экзоцитоз мелких капель липидов в межгепатоцитарные щели (рис. 2д).

ОБСУЖДЕНИЕ

Липидные капли – это липидные включения внутри клеток, которые хранят нейтральные липиды. «Ядро» ЛК, состоящее в основном из триацилглицеринов и эфиров стеринов, окружено монослоем фосфолипидов, а также специализированными ЛК-ассоциированными поверхностными белками. ЛК участвуют в гидролизе нейтральных липидов, предотвращают липотоксичность и играют важную роль в поддержании липидного гомеостаза клеток. Липидные включения хранят эфиры холестерина и содержат стероидные гормоны и триглицериды, которые используются в качестве источника энергии и предшественника для синтеза мембранных фосфолипидов. В нормальных физиологических условиях ЛК в печени малы и их количество ограничено. Они образуются путём отпочковывания от мембраны ЭПР и переносятся в цитозоль. При развитии метаболической дисфункции происходит увеличение синтеза ЛК, что приводит к возрастанию отложения нейтральных липидов и вызывает

ряд нарушений, вовлечённых в патогенез стеатоза печени, включая воспаление, стресс ЭПР, митохондриальную дисфункцию, повышенное производство активных форм кислорода (АФК) и резистентность к инсулину из-за клеточной токсичности [12].

Липидные включения и связанные с ними специализированные поверхностные белки (перилипины (PLIN), белок-накопитель жира 27 (FSP27, fat-storage protein 27) и др.) играют важную роль в патогенезе накопления липидов в печени. Нарушение регуляции накопления ЛК рассматривается как один из основных факторов стеатоза печени при МАЖБП. Так, FSP27 участвует в процессе слияния ЛК, что приводит к образованию более крупных липидных включений и увеличению хранения и накопления триглицеридов [12, 14].

Дисфункциональные ЛК и клеточный транспорт липидов связаны с метаболическими нарушениями, воспалением и ожирением печени. Исследование ЛК разного размера с помощью иммунофлуоресценции, электронной микроскопии и вестерн-блоттинга обнаружило, что размер липидных включений регулирует липолиз и катаболизм липофагии в гепатоцитах. В частности, ингибирование липолиза, липофагии или того и другого приводило к сходному общему содержанию ЛК, но к резким различиям в их морфологии. Ингибирование фермента липолиза триглицеридлипазы приводило к образованию крупных цитоплазматических ЛК, тогда как лизосомальное ингибирование вызывало накопление многочисленных мелких липидных включений и везикул, подвергавшихся кислотной деградации, в цитоплазме. Эти данные являются новыми доказательствами, указывающими на синергическую взаимосвязь, при которой липолиз нацелен на ЛК большего размера с образованием как уменьшенных по размеру, так и зарождающихся синтезированных малых ЛК, которые пригодны для липофагической интернализации [15]. В нашем исследовании установлено, что в печени *db/db* мышей среди липидосодержащих паренхиматозных клеток преобладали гепатоциты с мелкими ЛК. Полученные нами результаты согласуются с научными данными других учёных. Так, у 22-недельных *db/db* мышей была установлена повышенная экспрессия печёночного мембранного канального белка аквaглицеропорина AQP9, что увеличивало поступление глицерина в печень и вызывало жировую дистрофию печени и гипергликемию. При этом сниженная экспрессия AQP7 в белой жировой ткани способствовала избыточному накоплению липидов в адипоцитах. В результате у этих животных с возрастом увеличились масса тела, белая жировая ткань, масса печени, уровни липидов печени, липидов плазмы, инсулина и лептина на фоне усиления экспрессии генов, связанных с синтезом жирных кислот и триглицеридов в печени и увеличения экспрессии генов и белковых ферментов, связанных с глюконеогенезом [16].

Имеются данные о том, что у *db/db* мышей уровень гликогена в печени постоянно повышен. На трансмиссионных электронных микрофотографиях гликоген печени выглядит как ростки цветной капусты, состоящие из крупных α-частиц (различных размеров), в состав которых входят более мелкие β-частицы, связанные между собой. Новые исследования распределения молекул гликогена печени по размерам обнаружили, что α-частицы у *db/db* мышей химически более хрупкие, чем у здоровых мышей, и могут легко распадаться на более мелкие β-частицы. Имеются доказательства того, что более мелкие частицы гликогена имеют более высокую связь с гликогенфосфорилазой, ключевым ферментом, участвующим в деградации гликогена, а также быстрее разлагаются *in vitro*. Предполагается, что неспособность образовывать стабильные крупные α-частицы гликогена приводит у *db/db* мышей к более быстрому и менее контролируемому распаду гликогена в глюкозу [17].

Нами установлено, что гепатоциты *db/db* мышей содержали большое количество мелкокапельных липидных включений: преимущественно в цитоплазме, редко – в ядрах. Отмечался экзоцитоз липидных включений в дилятированные пространства Диссе и межгепатоцитарные щели из гепатоцитов, что способствует застою лимфы и развитию гистотоксической гипоксии, являющейся индуктором клеточной гибели. Последние исследования подчёркивают, что, помимо роли хранения жирных кислот, ЛК являются резервуарами для липофильных токсинов, жирорастворимых витаминов, а также в них концентрируются развёрнутые и агрегированные белки во время стресса ЭПР [18].

В гепатоцитах *db/db* мышей нами описаны структурные комплексы липидных включений с митохондриями, контакты в которых известны как места передачи жирных кислот от ЛК в митохондрии для окисления. Исследования последних лет установили, что ЛК являются жизненно важными центрами, обеспечивающими правильную координацию переноса жирных кислот между различными органеллами. Показано, что ЛК имеют физические контакты с ЭПР, пероксисомами, лизосомами/вакуолями, эндосомами эндоцитарного пути и митохондриями с целью передачи информации о гомеостазе ЛК и об обмене метаболитами. В местах контакта липидных включений с митохондриями жирные кислоты передаются последним для β-окисления. Совсем недавно они также были идентифицированы как сигнальные платформы, участвующие в ответе на протеотоксический стресс или микробные инфекции [18]. Например, специализированные поверхностные белки семейства PLIN, входящие в структуру таких контактных зон, участвуют в привлечении митохондрий к поверхности липидных включений, регулируют окислительный гидролиз последних, предотвращают липолиз, блокируя воздействие липопротеинлипазы на ЛК [19]. Повышенные уровни перилипина 2 (PLIN2) отмечены у пациентов с саркопенией и стеатозом печени [12].

Приводятся доказательства того, что жировая ткань играет решающую роль в регуляции системного метаболизма глюкозы и липидов и секретирует биологически активные молекулы, обладающие эндокринными, паракринными и аутокринными функциями. Дисфункциональная жировая ткань тесно связана с ключевыми аспектами метаболических заболеваний, такими как резистентность к инсулину, липидная перегрузка, воспа-

ление и стресс органелл. Считается, что в нормальных условиях липогенез *de novo* в белом жире незначителен по сравнению с липогенезом в печени. Жировая ткань также экспрессирует регулируемый инсулином переносчик глюкозы типа 4 (insulin-regulated glucose transporter type 4) и участвует в периферической утилизации глюкозы. Кроме того, термогенная жировая ткань может служить стоком глюкозы в условиях, вызывающих адренергическую стимуляцию. Жировая ткань подвергается обширному ремоделированию при ожирении, которое включает не только увеличение размера и количества адипоцитов, но и инфильтрацию тканей иммунными клетками, тканевую гипоксию, накопление компонентов внеклеточного матрикса и дисфункцию на уровне органелл – ЭПР, митохондрий, липидных включений [20].

Нами выявлено, что введение МТ приводит к уменьшению численной плотности паренхиматозных клеток с мелкокапельным стеатозом и увеличению количества гепатоцитов с крупными и средними жировыми включениями. При этом формирования гигантских липидных капель не наблюдалось, а плотность липидных включений на клетку была значительно менее выражена по сравнению с контролем и плацебо. В настоящее время известно, что при клеточном окислительном стрессе, вызванном АФК, возрастает накопление ЛК. К тому же через путь JNK – p38 – ATF клеточный окислительный стресс усиливает экспрессию перилипина 5 (PLIN5), ключевого специализированного ЛК-ассоциированного поверхностного белка, связанного с контактными участками митохондрий и липидных включений. При этом установлено, что белок PLIN5 снижает уровни АФК и улучшает функцию митохондрий в клетках печени при МАЖБП [21].

Выявленное нами формирование средних и крупных (но не гигантских) ЛК и уменьшение численной плотности гепатоцитов с мелкими липидными включениями у *db/db* мышей, получавших МТ, по сравнению с прогрессированием микровезикулярного стеатоза печени у животных, не получавших гормон, другими исследователями рассматривается как благоприятный прогностический признак [22]. Кроме того, у *db/db* мышей после введения МТ не выявлялись картины экзоцитоза мелких липидных включений в межгепатоцитарные щели. Такие морфологические перестройки способствуют улучшению жидкостного гомеостаза, препятствует развитию тканевой гистотоксической гипоксии и митохондриальной дисфункции. Имеются данные о том, что восстановление гомеостатического интерстициального микроокружения смягчает тяжесть цитолипидемического нарушения в поражённых типах клеток, уменьшает ядерную липоинфильтрацию и липорастворение ДНК, что приводит к сохранению цитоструктурной целостности [3].

Улучшение состояния крист митохондрий, увеличение комплексов «мито-ГЭР» свидетельствует об активном функциональном состоянии этих структур. На животных моделях показано, что МТ блокирует перекисное окисление в митохондриях и стимулирует синтез митофусина-2 – белка, участвующего в восстановлении митохондрий у мышей с ожирением [7]. Усиление дренажа в органе, улучшение состояния митохондрий, уменьшение тканевой гипоксии – эти факты согласуются с полученными ранее данными об антиапоптотическом действии МТ [13].

Интенсивный липолиз приводит к выделению большого количества свободных жирных кислот, которые транспортируются преимущественно в печень и препятствуют связыванию инсулина с гепатоцитами, обусловливая развитие инсулинорезистентности. Инсулин, не связавшийся с гепатоцитами, в свою очередь, способствует развитию системной гиперинсулинемии [23]. Нами отмечено, что гепатоциты печени *db/db* мышей, получавших МТ, характеризовались менее выраженными полями гликогена по сравнению с контрольными и плацебо-животными.

Патогенез прогрессирования заболевания от стеатоза до фиброза и цирроза был изначально представлен в виде теории «двух ударов», который предполагает, что накопление липидов в печени является первым ударом, а восприимчивость гепатоцитов к повреждениям, таким как окислительный стресс, митохондриальная дисфункция и провоспалительные цитокины, – вторым [12]. Нами установлено, что введение МТ способствует большей сохранности микро- и ультраструктурной организации печени: приводит к снижению относительного числа гепатоцитов с ЛК, уменьшению доли клеток с мелкокапельными включениями и увеличению процента гепатоцитов со средними и крупными, но не гигантскими ЛК, улучшает морфологическую организацию митохондрий, приводит к появлению структурных комплексов липидных включений с митохондриями, уменьшению содержания гликогена, нормализации состояния профилей ЭПР, увеличению комплексов «мито-ГЭР» и отсутствию экзоцитоза липидных капель в межгепатоцитарные щели, что создаёт условия для уменьшения восприимчивости к повреждениям клеток органа и уменьшению морфологических проявлений МАЖБП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение МТ значительно нивелировало негативные изменения морфологических показателей липидного обмена в печени животных, что свидетельствует о возможности использования МТ как эффективного протектора жирового гепатоза.

Финансирование

Данное исследование было поддержано бюджетным проектом Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (FWNR-2022-0009).

Благодарности

Авторы выражают благодарность Центру коллективного пользования микроскопического анализа био-

логических объектов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» за предоставленное оборудование.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Mitra S, De A, Chowdhury A. Epidemiology of non-alcoholic and alcoholic fatty liver diseases. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2020; 5: 16. doi: 10.21037/tgh.2019.09.08

2. Alemany M. The metabolic syndrome, a human disease. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(4): 2251. doi: 10.3390/ijms25042251

3. Garris DR. Hypercytolipidemia-induced cellular lipoapoptosis: Cytostructural and endometabolic basis of progressive organoinvolution following expression of diabetes (*db/db*) and obese (*ob/ob*) mutation syndromes. *Prog Histochem Cytochem*. 2006; 40(4): 181-231. doi: 10.1016/j.proghi.2006.02.002

4. Райхельсон К.Л., Маевская М.В., Жаркова М.С., Гречишникова В.Р., Оковитый С.В., Деева Т.А., и др. Жировая болезнь печени: новая номенклатура и ее адаптация в Российской Федерации. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2024; 34(2): 35-44. [Raikhelson KL, Maevskaya MV, Zharkova MS, Grechishnikova VR, Okovityi SV, Deeva TA, et al. Steatotic liver disease: New nomenclature and its localization in the Russian Federation. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2024; 34(2): 35-44. (In Russ.)]. doi: 10.22416/1382-4376-2024-961

5. Habibullah M, Jemmieh K, Ouda A, Haider MZ, Malki MI, Elzouki AN. Metabolic-associated fatty liver disease: A selective review of pathogenesis, diagnostic approaches, and therapeutic strategies. *Front Med (Lausanne)*. 2024; 11: 1291501. doi: 10.3389/fmed.2024.1291501

6. Tursinawati Y, Kartikadewi A, Kartikadewi A, Yuniastuti A, Yuniastuti A, Susanti R. Melatonin, a promising therapeutic for diabetes mellitus and its complications: A narrative review. *J Biomed Transl Res.* 2021; 7(3): 138-145. doi: 10.14710/jbtr.v7i3.12257

7. Цветкова Е.С., Романцова Т.И., Полуэктов М.Г., Рунова Г.Е., Глинкина И.В., Фадеев В.В. Значение мелатонина в регуляции обмена веществ, пищевого поведения, сна и перспективы использования препаратов мелатонина для лечения ожирения. *Ожирение и обмен веществ.* 2021; 18(2): 112-124. [Tsvetkova ES, Romantsova TI, Poluektov MG, Runova GE, Glinkina IV, Fadeev VV. The importance of melatonin in the regulation of metabolism, eating behavior, sleep, and the prospects for the use of melatonin drugs for obesity treatment. *Obesity and Metabolism.* 2021; 18(2): 112-124. (In Russ.)]. doi: 10.14341/omet12279

8. Hosseinzadeh A, Changizi-Ashtiyani S, Koosha F, Amiri S, Karimi-Behnagh A, Reiter RJ, et al. Melatonin: Therapeutic potential for stroke and other neurodegenerative diseases. *Melatonin Res.* 2023; 6(1): 102-134. doi: 10.32794/mr112500144

9. Кролевец Т.С., Ливзан М.А. Неалкогольная жировая болезнь печени: дайджест 2021. *Доказательная гастроэнтерология.* 2021. 10(2): 27-35. [Krolevets TS, Livzan MA. Non-alcoholic fatty liver disease: digest 2021. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology.* 2021; 10(2): 27-35. (In Russ.)]. doi: 10.17116/dokgastro20211002127

10. Киселева Е.В., Демидова Т.Ю. Неалкогольная жировая болезнь печени и сахарный диабет 2 типа: проблема сопряженности и этапности развития. *Ожирение и метаболизм*. 2021; 18(3): 313-319. [Kiseleva EV, Demidova TY. Non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus: The problem of conjunction and phasing. *Obesity and Metabolism.* 2021; 18(3): 313-319. (In Russ.)]. doi: 10.14341/omet12758

11. Zakaria Z, Othman ZA, Nna VU, Mohamed M. The promising roles of medicinal plants and bioactive compounds on hepatic lipid metabolism in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease in animal models: Molecular targets. *Arch Physiol Biochem*. 2023; 129(6): 1262-1278. doi: 10.1080/13813455.2021.1939387

12. Chandrasekaran P, Weiskirchen S, Weiskirchen R. Perilipins: A family of five fat-droplet storing proteins that play a significant role in fat homeostasis. *J Cell Biochem*. 2024; 125(6): e30579. doi: 10.1002/jcb.30579

13. Michurina SV, Ischenko IY, Arkhipov SA, Klimontov VV, Cherepanova MA, Korolev MA, et al. Melatonin-aluminum oxide-polymethylsiloxane complex on apoptosis of liver cells in a model of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 164(2): 165-169. doi: 10.1007/s10517-017-3949-x

14. Wang S, Yang M, Li P, Sit J, Wong A, Rodrigues K, et al. High-fat diet-induced deSUMOylation of E4BP4 promotes lipid droplet biogenesis and liver steatosis in mice. *Diabetes*. 2023; 72(3): 348-361. doi: 10.2337/db22-0332

15. Schott MB, Weller SG, Schulze RJ, Krueger EW, Drizyte-Miller K, Casey CA, et al. Lipid droplet size directs lipolysis and lipophagy catabolism in hepatocytes. *J Cell Biol.* 2019; 218(10): 3320-3335. doi: 10.1083/jcb.201803153

16. Hirako S, Wakayama Y, Kim H, Iizuka Y, Wada N, Kaibara N, et al. Association of aquaporin 7 and 9 with obesity and fatty liver in *db/db* mice. *Zoolog Sci.* 2023; 40(6): 455-462. doi: 10.2108/zs230037

17. Sullivan MA, Harcourt BE, Xu P, Forbes JM, Gilbert RG. Impairment of liver glycogen storage in the *db/db* animal model of type 2 diabetes: A potential target for future therapeutics? *Curr Drug Targets.* 2015; 16(10): 1088-1093. doi: 10.2174/1389450116666150727123115

18. Enkler L, Spang A. Functional interplay of lipid droplets and mitochondria. *FEBS Lett*. 2024; 598(10): 1235-1251. doi: 10.1002/1873-3468.14809

19. Chahirou Y, Mesfioui A, Ouichou A, Hessni A. Адипокины: механизмы метаболических и поведенческих расстройств. *Ожирение и метаболизм.* 2018; 15(3): 14-20. [Chahirou Y, Mesfioui A, Ouichou A, Hessni A. Adipokines: mechanisms of metabolic and behavioral disorders. *Obesity and metabolism*. 2018; 15(3): 14-20. (In Russ.)]. doi: 10.14341/OMET9430

20. An SM, Cho SH, Yoon JC. Adipose tissue and metabolic health. *Diabetes Metab J.* 2023; 47(5): 595-611. doi: 10.4093/dmj.2023.0011

21. Tan Y, Jin Y, Wang Q, Huang J, Wu X, Ren Z. Perilipin 5 protects against cellular oxidative stress by enhancing mitochondrial function in HepG2 cells. *Cells.* 2019; 8(10): 1241. doi: 10.3390/cells8101241

22. Павлов Ч.С., Кузнецова Е.А., Шульпекова Ю.О., Семенистая М.Ч. *Неалкогольная жировая болезнь печени.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019. [Pavlov ChS, Kuznetsova EA, Shulpekova YuO, Semenistaya MCh. *Non-alcoholic fatty liver disease.* Moscow: GEOTAR-Media; 2020. (In Russ.)].

23. Иванов В.В., Шахристова Е.В., Степовая Е.А., Носарева О.Л., Федорова Т.С., Новицкий В.В. Молекулярные механизмы модуляции липолиза в жировой ткани и развитие инсулинорезистентности при сахарном диабете. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2014; 58(4): 111-119. [Ivanov VV, Shakhristova EV, Stepovaya EA, Nosareva OL, Fedorova TS, Novitsky VV. Molecular mechanisms of modulation of lipolysis in adipose tissue and development of insulinresistance in diabetes. *Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2014; 58(4):111-119. (In Russ.)].

Сведения об авторах

Мичурина Светлана Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая группой экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: michurinasv3000@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3630-4669

Колесников Сергей Иванович – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; профессор факультета политологии, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-2124-6328

Васендин Дмитрий Викторович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры техносферной безопасности, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет геосистем и технологий»; доцент кафедры радиотехнических устройств и техносферной безопасности, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный университет телекоммуникаций и информатики», e-mail: vasendindv@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-9503-6940

Ищенко Ирина Юрьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник группы экспериментальной фармакологии, Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», e-mail: irenisch@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6281-0402

Information about the authors

Svetlana V. Michurina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer, Head of the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: michurinasv3000@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3630-4669

Sergey I. Kolesnikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Member of the RAS, Leading Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Professor at the Faculty of Political Science, Lomonosov Moscow State University, e-mail: sikolesnikov2012@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-2124-6328

Dmitry V. Vasendin – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Technosphere Safety, Siberian State University of Geosystems and Technologies; Associate Professor at the Department of Radio Devices and Technosphere Safety, Siberian State University of Telecommunications and Informatics, e-mail: vasendindv@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-9503-6940

Irina Yu. Ishchenko – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Group of Experimental Pharmacology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: irenisch@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6281-0402

СТРУКТУРНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЭПИЦЕНТРЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ И В ОТДАЛЁННЫХ СЕГМЕНТАХ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ НА ФОНЕ РЕАБИЛИТАЦИОННОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ НАГРУЗКИ

Сабиров Д.Х. [1],
Агеева Т.В. [1],
Тимофеева А.В. [1],
Плотникова Е.А. [1],
Архипова С.С. [1],
Давлетшин Э.Ф. [1],
Мухамедшина Я.О. [1, 2]

[1] ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, Россия)
[2] ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сабиров Давран Худайшукурович,
e-mail: davraniwe@gmail.com

Статья поступила: 25.07.2024
Статья принята: 28.01.2025
Статья опубликована: 13.03.2025

РЕЗЮМЕ

Обоснование. *Травма спинного мозга (ТСМ) приводит к полной или частичной потере чувствительных и/или двигательных функций ниже уровня повреждения вследствие гибели нейронов и нейроглии, дегенерации аксонов и нарушению гемато-спинномозгового барьера (ГСМБ). Двигательная реабилитация является перспективной стратегией для восстановления после ТСМ, но её молекулярные и клеточные механизмы малоизучены, особенно вдали от эпицентра повреждения в области центрального генератора паттерна.*

Цель работы*. Оценить структурные и молекулярные изменения, происходящие в областях, приближенных (Th_9) и отдалённых (L_2) от эпицентра (Th_8) травмы спинного мозга крысы, на фоне реабилитационной двигательной нагрузки.*

Методы. *В исследовании моделировали ТСМ крысы на уровне Th_8. Животные были разделены на контрольную группу (ТСМ) и группу, подвергавшуюся реабилитационной двигательной нагрузке (ТСМ + ДРеаб). Оценка структурных и молекулярных изменений проводилась в грудном (Th_9) и поясничном (L_2) отделах. Количество сохранных миелиновых волокон оценивали с помощью гистологического окрашивания метиленовым синим, степень повреждения ГСМБ – по эпифлуоресценции красителя Эванса. Для анализа экспрессии матричной РНК (мРНК) генов, кодирующих синтез белков перисинаптических отростков астроцитов, использовали количественную полимеразную цепную реакцию.*

Результаты. *В поясничном отделе (L_2) при реабилитации наблюдалось большее количество миелиновых волокон в кортикоспинальном тракте по сравнению с контрольной группой. Выявлена сильная отрицательная корреляция ($r = –0,761$) между эпифлуоресценцией красителя Эванса и площадью сохранной ткани в области Th_7–Th_9 у реабилитированных животных, однако эта связь не является статистически значимой. Молекулярный анализ показал, что реабилитация не влияет на поляризацию астроцитов в нейротоксический фенотип и изменения перисинаптических отростков как в приближенных, так и в удалённых областях.*

Заключение. *Двигательная реабилитация способствует сохранению миелиновых волокон в поясничном отделе и уменьшению повреждения ГСМБ в области, приближенной к ТСМ. Однако проводимая реабилитация не влияет на поляризацию астроцитов и изменения экспрессии мРНК генов, кодирующих синтез белков перисинаптических отростков астроцитов.*

Ключевые слова: *травма спинного мозга, двигательный тренинг, сегменты Th_9 и L_2, гемато-спинномозговой барьер, миелиновые волокна, перисинаптические отростки астроцитов*

Для цитирования: Сабиров Д.Х., Агеева Т.В., Тимофеева А.В., Плотникова Е.А., Архипова С.С., Давлетшин Э.Ф., Мухамедшина Я.О. Структурные и молекулярные изменения в эпицентре повреждения и в отдалённых сегментах спинного мозга крысы на фоне реабилитационной двигательной нагрузки. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 248-259. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.26

STRUCTURAL AND MOLECULAR CHANGES IN THE EPICENTER OF INJURY AND DISTANT SEGMENTS OF THE RAT SPINAL CORD IN RESPONSE TO REHABILITATIVE MOTOR TRAINING

Sabirov D.Kh. [1],
Ageeva T.V. [1],
Timofeeva A.V. [1],
Plotnikova E.A. [1],
Arkhipova S.S. [1],
Davletshin E.F. [1],
Mukhamedshina Ya.O. [1, 2]

[1] Kazan (Volga Region) Federal University (Kremlevskaya str. 18, Kazan 420008, Russian Federation)
[2] Kazan State Medical University (Butlerova str. 1, Kazan 420012, Russian Federation)

Corresponding author:
Davran Kh. Sabirov,
e-mail: davraniwe@gmail.com

ABSTRACT

Background. *Spinal cord injury (SCI) leads to partial or complete loss of sensory and/or motor functions below the injury site due to neuron and glial cell death, axonal degeneration, and disruption of the blood-spinal cord barrier (BSCB). Motor rehabilitation presents a promising strategy for recovery after SCI, but its molecular and cellular mechanisms remain poorly understood, particularly in regions distant from the injury epicenter within the central pattern generator.*

The aim of the study. *To assess structural and molecular changes occurring in regions proximal (Th_9) and distal (L_2) to the epicenter of SCI in rats (Th_8) during rehabilitation motor load.*

Materials and methods. *SCI was induced in rats at the Th_8 level. Animals were divided into a control group (SCI) and a group subjected to motor rehabilitation (SCI + Rehab). Structural and molecular changes were evaluated in the thoracic (Th_9) and lumbar (L_2) regions. The number of preserved myelinated fibers was assessed using methylene blue staining, and BSCB disruption was evaluated through the epifluorescence of Evans blue dye. Quantitative PCR was used to analyze the mRNA expression of genes encoding proteins specific to perisynaptic astrocytic processes. Results. In the lumbar region (L_2), motor rehabilitation led to a greater number of myelinated fibers in the corticospinal tract compared to the control group. A strong negative correlation ($r = -0.761$) was observed between Evans blue fluorescence and the area of preserved tissue in the Th_7–Th_9 region in rehabilitated animals; however, this relationship is not statistically significant. Molecular analysis revealed that rehabilitation did not affect astrocyte polarization into a neurotoxic phenotype or the alteration of perisynaptic processes in both proximal and distal regions.*

Conclusion. *Motor rehabilitation promotes the preservation of myelinated fibers in the lumbar region and reduces BSCB damage in the area proximal to the SCI. However, rehabilitation does not affect astrocyte polarization or the expression of mRNA genes encoding proteins characteristic of perisynaptic astrocyte processes.*

Key words: *spinal cord injury, motor training, Th_9 and L_2 segments, blood-spinal cord barrier, myelinated fibers, perisynaptic astrocyte processes*

Received: 25.07.2024
Accepted: 28.01.2025
Published: 13.03.2025

For citation: Sabirov D.Kh., Ageeva T.V., Timofeeva A.V., Plotnikova E.A., Arkhipova S.S., Davletshin E.F., Mukhamedshina Ya.O. Structural and molecular changes in the epicenter of injury and distant segments of the rat spinal cord in response to rehabilitative motor training. *Acta biomedica scientifica*. 2025; 10(1): 248-259. doi: 10.29413/ABS.2025-10.1.26

ВВЕДЕНИЕ

Травма спинного мозга (ТСМ) приводит к серьёзному повреждению нервной ткани и, как следствие, к нарушению двигательной и чувствительной функции. ТСМ характеризуется двухфазным процессом, включающим первичное механическое повреждение с последующим каскадом вторичных событий. Нейроны и глиальные клетки в непосредственной близости от эпицентра травмы подвергаются быстрой гибели в течение нескольких минут и часов. Тем не менее, на значительном удалении от области повреждения также происходят отсроченные процессы дегенерации и апоптоза, опосредованные воспалительными реакциями, окислительным стрессом и эксайтотоксичностью. Указанное выше может приводить к прогрессирующему расширению зоны повреждения и усугублению функциональных дефицитов [1]. В дистальных областях наблюдается дегенерация аксонов, проходящих через зону первичного повреждения и простирающихся в удалённые области, что приводит к утрате синапсов и разрушению нейронных цепей. Такие реакции могут усугубляться нейротоксическими молекулами, проникающими в спинномозговую жидкость, а также инфильтрацией иммунных клеток вследствие нарушения гемато-спинномозгового барьера (ГСМБ). Исследование областей, отдалённых от эпицентра повреждения, может помочь раскрыть механизмы вторичных процессов дегенерации и указать на необходимые стратегии терапии для разработки более эффективных терапевтических подходов.

Несмотря на достижения в области фундаментальной и клинической медицины, восстановление после ТСМ остаётся сложной задачей, часто приводящей к стойкой инвалидизации. Реабилитационные стратегии, особенно дозированные двигательные нагрузки, на сегодняшний день играют основную роль в улучшении функциональных исходов после ТСМ и демонстрирует высокую эффективность у пациентов с лёгкой степенью повреждения, способствуя улучшению или восстановлению нервных функций благодаря активации нейропластичности спинного мозга [2]. Хотя в клинической реабилитационной практике достигнут значительный прогресс, точное понимание взаимосвязи между интенсивностью двигательной нагрузки, степенью тяжести ТСМ и вторичными деструктивными процессами, происходящими в отдалённых от эпицентра травмы областях, требует дальнейшего изучения с учётом понимания уже имеющихся данных [1].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка структурных и молекулярных изменений, происходящих в областях, отдалённых от эпицентра травмы, в том числе на фоне проведения реабилитационной двигательной нагрузки.

Мы проанализировали поясничный отдел спинного мозга (L_2) на модели ТСМ в грудном отделе (Th8), чтобы исследовать патологические сдвиги на удалении и сравнить с интенсивностью посттравматических процессов в области, приближенной к эпицентру повреждения (Th_9). Особое внимание мы решили уделить оценке сохранности миелиновых волокон, проницаемости ГСМБ, реактивности астроцитов и микроглии, а также молекулярным изменениям со стороны синаптического компартмента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моделирование травмы спинного мозга

Эксперименты проведены на крысах линии Wistar в возрасте 4 мес. (самки весом 200–250 г) из питомника ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животных содержали в условиях вивария с неограниченным доступом к пище и воде при 12-часовом световом режиме. Проведение экспериментального исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (протокол № 5 от 22.09.2023).

Крыс оперировали под общим наркозом с использованием золетила (Virbac) (20 мг/кг, внутримышечно) после предварительной премедикации гидрохлоридом ксилазина (10 мг/кг). Разрез кожи производили параллельно позвоночнику, выделяли позвоночный столб и проводили ламинэктомию на уровне Th_8. Экспериментальная модель дозированной контузионной травмы спинного мозга была осуществлена с помощью импактора Impact One Stereotaxic Impactor (Leica, Германия). Скорость воздействия составляла 1,5 м/с, что соответствует лёгкой степени повреждения. Далее рану послойно зашивали, и в течение 7 суток после операции всем экспериментальным животным внутримышечно вводили энрофлоксацин (10 мг/кг) 1 раз в сутки. В послеоперационном периоде в связи с развитием у животных нарушений мочеиспускания дважды в день проводили механическое опорожнение мочевого пузыря до восстановления его функции.

При развитии паралича задних конечностей животные были рандомно распределены на две экспериментальные группы (рис. 1). Опытная группа включала животных с проведённой дозированной контузионной ТСМ и последующей двигательной реабилитацией (ТСМ + ДРеаб; n = 15). Контрольной группе животных (ТСМ; n = 15) двигательную реабилитацию после ТСМ не проводили. Крысы интактной группы (без моделирования травмы спинного мозга; n = 15) были использованы в качества стандартного контроля.

Двигательный тренинг на беговой дорожке

Физическую нагрузку на беговой дорожке осуществляли на тредмиле Treadmill for Mice and Rats 800 Series (IITC Life Science, США). Реабилитацию начинали на 8-й день после ТСМ и проводили в течение 5 дней каждую неделю. Тренировки выполняли в течение 20 мин 2 раза в день с интервалом как минимум 2 ч. Уровень поддержки тела устанавливали в зависи-

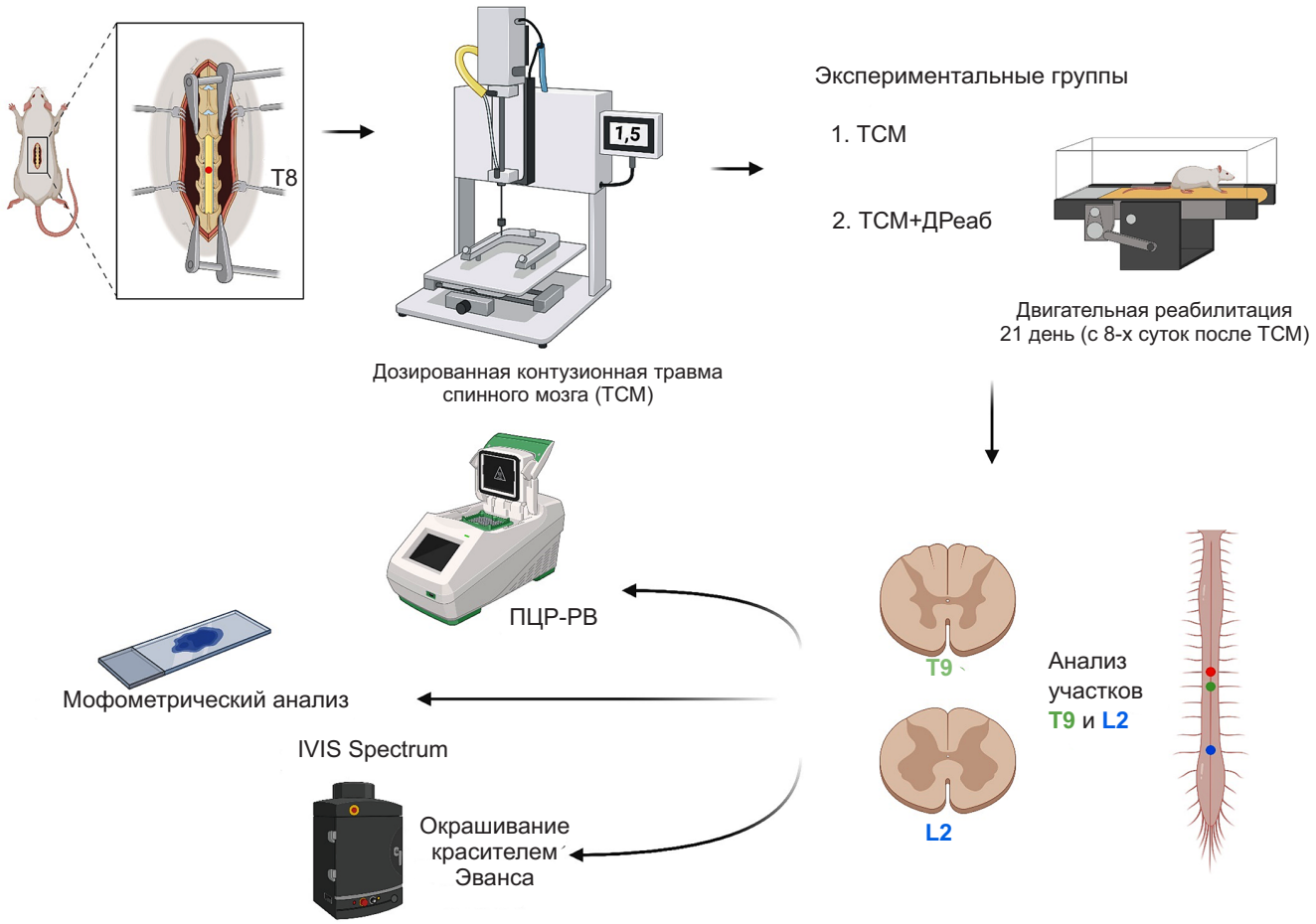


РИС. 1.
Схематическое изображение эксперимента на крысах (рисунок авторов)

FIG. 1.
Schematic representation of the experiment on rats (authors' figure)

мости от функционального восстановления по шкале оценки опорно-двигательной активности Basso, Beattie and Bresnahan (BBB) [3]. Крыс тренировали при скорости от 6 см/с (3,6 м/мин) до 21 см/с (12,6 м/мин) в зависимости от функционального состояния животных, постепенно увеличивая нагрузку. Реабилитация длилась 3 недели. При отсутствии плантарной постановки стопы проводили принудительную плантарную постановку задних лап во время тренировки на беговой дорожке по методу M. Hayashibe и соавт. [4].

Анализ сохранных миелиновых волокон

Через 28 суток после нанесения ТСМ часть животных из интактной и экспериментальных групп ($n = 4$ в каждой группе) были анестезированы и подвергнуты перфузии через левый желудочек сердца 4%-м раствором глутарового альдегида (neoFroxx GmbH, Германия) для последующей подготовки полутонких срезов. После перфузии спинной мозг извлекали, из сегментов Th_9 и L_2 вырезали блоки ткани толщиной 1 мм. Эти тканевые образцы фиксировали в 1%-м растворе глутарового альдегида в течение 12–18 ч, а затем постфиксировали в 1%-м растворе четырёхокиси осмия в течение 1,5 ч. Промывки образцов в буферном растворе (pH = 7,3–7,4) производили в течение 15–30 мин для удаления остатков глутарового альдегида и четырёхокиси осмия соответственно. Обезвоживание образцов проводили постадийно, начиная с растворов этилового спирта с концентрацией от 30 % до 100 % в течение 4–6 ч для полной замены воды в ткани на этиловый спирт, за которым последовала обработка 99,9%-й окисью пропилена в течение 40–60 мин. Пропитка образцов эпоновыми смолами в окиси пропилена проводилась поэтапно с повышением соотношения смола : окись пропилена (1 : 2, 1 : 1, 2 : 1) с непрерывным перемешиванием на протяжении 3 суток. Полимеризацию капсул с образцами в чистой смоле осуществляли в термостате при постепенном повышении температуры от 37 до 60° в течение 3 суток.

Полимерные блоки нарезали на микротоме Leica Ultracut UC7 (Leica, Германия) для получения срезов толщиной 500 нм, необходимых для микроскопического анализа. Полутонкие срезы спинного мозга, окрашенного метиленовым синим (БиоВитрум, Россия), анализировали для подсчёта количества миелиновых волокон. Фотографии были сделаны под микроскопом ZEISS Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия) при увеличении ×100 (объектив EC Plan-neofluar 100×/1.30 Oil M27) с использованием цифровой камеры Zeiss Axiocam 105 Color (Carl Zeiss, Германия). Для подсчёта количества миелиновых волокон были получены изображения трёх раз-

личных областей, а именно главного кортикоспинального тракта (CST, corticospinal tract), вентральных (VF, ventral funiculus) и латеральных (LF, lateral funiculus) канатиков спинного мозга на уровне сегментов Th_9 и L_2. От каждого животного было оцифровано и проанализировано по 5 срезов каждого сегмента. Все измерения повторяли 3 раза с последующим использованием среднего значения.

Оценка сохранности гемато-спинномозгового барьера

Для животных интактной и экспериментальной групп ($n = 5$ в каждой группе) проводили внутривенное болюсное введение 80 мг/кг красителя Эванса (Диаэм) (2 % мас./об. В изотоническом физиологическом растворе). Красителю давали циркулировать в течение 30 мин перед эвтаназией животных. Впоследствии крысам проводили транскардиальную перфузию 0,9%-м раствором NaCl, а затем 4%-м параформальдегидом. Спинной мозг изолировали и постфиксировали в 4%-м параформальдегиде в течение 24 ч.

Далее с помощью системы IVIS Spectrum (Caliper Life Science, США) были получены оптические изображения спинного мозга. Для всех изображений использовались одинаковые настройки съёмки (напряжение лампы, фильтры, апертура, поле зрения и биннинг). Эпифлуоресценцию (эмиссия 660 нм, возбуждение 605 нм для красителя Эванса голубой) измеряли в фотонах в секунду на квадратный сантиметр на стерадиан (γ/с/см^2/ср). Количественные данные в каждой интересующей области (ROI, region of interest) собирали и анализировали с помощью программного обеспечения Living Image 2.5 (Caliper Life Sciences, США). Тканевую аутофлуоресценцию (TAF, tissue autofluorescence) измеряли путём визуализации интактного спинного мозга. Исследуемые участки грудного отдела с эпицентром повреждения и поясничного отдела определялись от Th_7 до Th9 и от L_1 до L_3 соответственно.

Количественная оценка экспрессии матричной РНК генов с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Выделяли тотальную РНК из ткани интактного ($n = 6$) и травмированного ($n = 6$ в каждой группе) спинного мозга крыс. Затем выделенную РНК (100 нг) подвергали обратной транскрипции, а синтезированную комплементарную ДНК (кДНК) использовали в качестве матрицы для полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР с обратной транскрипцией проводили на термоциклере CT1000 Thermal Cycler (Bio-Rad, США) с использованием 100 ЕД обратной транскриптазы RevertAid (Thermo Fisher Scientific, США), dNTP (Евроген, Россия), 5× реакционного буфера (Евроген, Россия), 100 пмоль случайных гексамерных праймеров и 5 ЕД ингибитора РНКазы по протоколу производителя (25 °C – 10 мин; 42 °C – 60 мин; терминация транскрипции 70 °C – 10 мин). Количественный анализ матричной РНК (мРНК) генов *Olig2*, *CNPase*, *GFAP*, *C3*, *GLT1*, *Ezr*, *Grm3* и *Grm5* проводили с использованием системы ПЦР в реальном времени CFX384 Real-Time System (Bio-Rad, США). Условия амплификации были следующими: 95 °C – 3 мин; 39 циклов: 95 °C – 10 с, 55 °C – 30 с.

Использованные ген-специфичные праймеры представлены в таблице 1.

Каждую реакцию проводили в трёх повторностях. Реакционная смесь для каждой реакции составляла 10 мкл и включала 100 нг разведённой кДНК, 5× qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия) и 200 нМ каждого праймера. Экспрессию мРНК нормализовали относительно GAPDH.

Статистический анализ

Полученные данные анализировали с использованием программного обеспечения Origin 9.9 SR1 (OriginLab Corp., США). Для анализа полученных результатов использовали ANOVA с критерием Тьюки для множественных сравнений между всеми исследуемыми группами. Все анализы проводились вслепую по отношению к группе с двигательной реабилитацией. Опи-

ТАБЛИЦА 1

ГЕН-СПЕЦИФИЧНЫЕ ПРАЙМЕРЫ, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ ДЛЯ ПЦР В ИССЛЕДОВАНИИ

TABLE 1

GENE-SPECIFIC PRIMERS USED FOR PCR IN THE STUDY

Ген	Полное название гена	Прямой праймер (5′-3′)	Обратный праймер (5′-3′)
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	ATG ACT CTA CCC ACG GCA AG	TGG AAG ATG GTG ATG GGT TT
Olig2	Oligodendrocyte transcription factor 2	AGT GCG CGA TGC TAA GCT CT	TGG GCC ACG ACA CAG AAA GA
CNPase	2′,3′-Cyclic-nucleotide 3′-phosphodiesterase	AGA CAT AGT GCC CGC AAA G	GCT TGT CCT TAG CTC CTG AG
GFAP	Glial fibrillary acidic protein	CCA AAG CCT CAA GGA GGA GA	CGA TGT CCA GGG CTA GCT TA
C3	Complement	TAT CCT GCA CTC AGG TAG CG	CAT GAG GTC GAA AGG CAT GG
GLT1	Glutamate transporter	AAG CTG ATG GTG GAG TTC TTC	TGC CTA GCA ACC ACT TCT AAG
Ezr	Ezrin	GTC ACT CTT GGC TCT TTA GT	TAC TAT TGG AAG CAA CCA GG
Grm3	Glutamate metabotropic receptor 3	GGG TGA GTT TCT ACG TTG TAT	AGG TTT TAT TCC CAT TAT CTT GA
Grm5	Glutamate metabotropic receptor 5	CTC AGC CTA GTT TAT CCA GC	TCA GAG CTC CAA TAG GTA CA

сательная статистика для количественных переменных представлена как среднее (стандартное отклонение). Для анализа экспрессии мРНК (ПЦР) использовалась средняя стандартная ошибка. Различия между средними значениями экспериментальных групп считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки сохранности гемато-спинномозгового барьера статистический анализ выполняли с использованием языка программирования Python и его библиотек SciPy и NumPy для вычисления корреляции Пирсона и расчёта 95%-х доверительных интервалов. Коэффициенты корреляции Пирсона и соответствующие им p-значения были рассчитаны с помощью функции Pearson r из библиотеки SciPy.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе гистологического анализа были выявлены изменения в структуре миелиновых нервных волокон в грудном (Th_9) и поясничном (L_2) сегментах обеих экспериментальных групп (ТСМ и ТСМ + ДРеаб). В анализируемых областях наблюдалась деструкция части миелиновых волокон (расслоение и дезинтеграция миелина, образование крупных вакуолей в волокнах большого диаметра) и формирование на месте дегенерирующих волокон полостей различного диаметра, что отмечено в обеих экспериментальных группах преимущественно в сегменте Th_9. В части аксонов, кроме выраженной дегенерации миелиновой оболочки, наблюдались признаки деструкции: помутнение и уплотнение содержимого, появление вакуолей с компактным материалом. Чтобы установить, влияет ли двигательная реабилитация на сохранность/ремиелинизацию аксонов после травматического повреждения спинного мозга, мы провели подсчёт количества сохранных миелиновых аксонов у животных на 28-е сутки в экспериментальных группах. Статистически значимых различий по данному критерию не было обнаружено в исследуемых областях (CST, VF и LF) сегмента Th_9, наиболее приближенного к эпицентру травмы (Th_8) (рис. 2а). Анализ сегмента L_2 экспериментальных групп выявил наличие обширных областей, содержащих сохранные/ремиелинизированные волокна, однако деструкция части миелиновых волокон была также обнаружена. Количество сохранных миелиновых волокон в области CST спинного мозга на уровне сегмента L_2 группы ТСМ + ДРеаб (69,47 ± 6,3) было статистически значимо выше ($p < 0,0005$) при сравнении с группой ТСМ (55,14 ± 3,53) (рис. 2б, в).

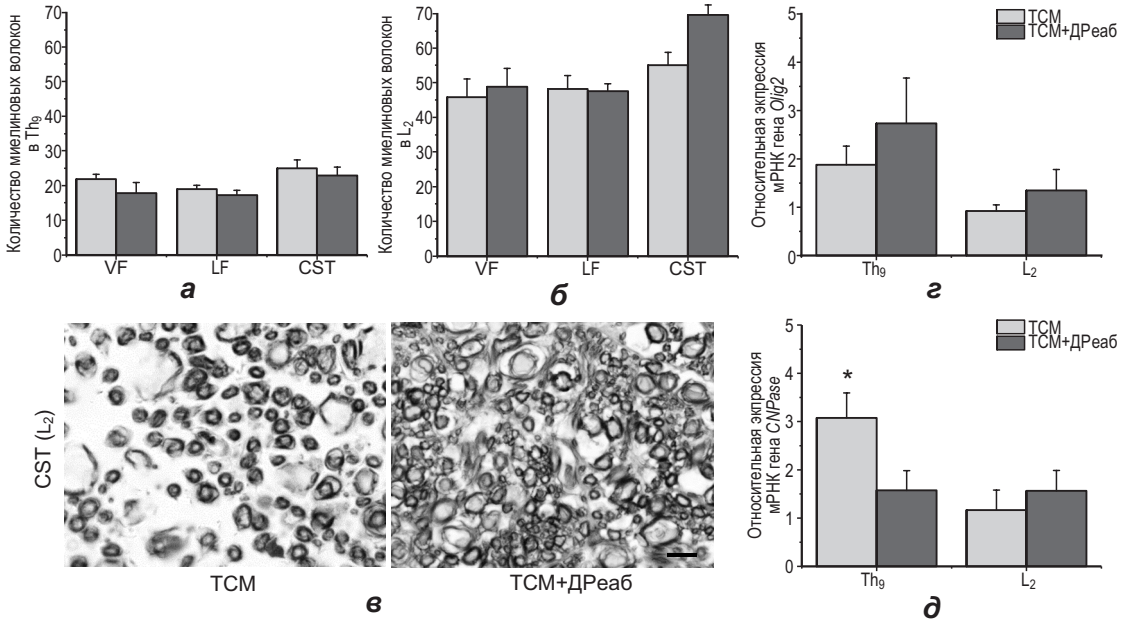


РИС. 2.

*Количество миелиновых волокон (ось ординат) в сегментах Th_9 (**а**) и L_2 (**б**) в зонах подсчёта (VF, LF, CST – оси абсцисс) к 28-м суткам после травмы спинного мозга в группах ТСМ (серые столбцы) и ТСМ + ДРеаб (чёрные столбцы); горизонтальной линией указано $p < 0,05$. **в** – поперечные срезы спинного мозга контрольной (ТСМ) и экспериментальной (ТСМ + ДРеаб) групп в области CST сегмента L_2 на 28-е сутки после повреждения; окрашивание метиленовым синим, масштаб 20 мкм. Относительная экспрессия мРНК генов Olig2 (**г**) и CNPase (**д**) в сегментах Th_9 и L_2 спинного мозга на 28-е сутки после травмы в группах ТСМ (серые столбцы) и ТСМ + ДРеаб (чёрные столбцы). Количество РНК было нормализовано по GAPDH; * – $p < 0,05$ при сравнении с аналогичной группой сегмента L_2*

FIG. 2.

*The number of myelinated fibers (y-axis) in Th_9 (**a**) and L_2 (**б**) segments in the counting zones (x-axis: VF – ventral funiculi, LF – lateral funiculi, CST – corticospinal tract) by day 28 after spinal cord injury in the SCI (grey bars) and SCI + Rehab (black bars) groups; horizontal line indicates $p < 0.05$. **в** – transverse sections of the spinal cord in the control (SCI) and experimental (SCI + Rehab) groups in the CST region of the L_2 segment on day 28 after the injury; stained with methylene blue; scale bar 20 μm. Relative mRNA expression of Olig2 (**г**) and CNPase (**д**) genes in Th_9 and L_2 segments of the spinal cord on day 28 after the injury in the SCI (grey bars) and SCI + Rehab (black bars) groups. RNA levels were normalized with GAPDH; * – $p < 0.05$ compared to the L_2 segment of the corresponding group*

Оценка относительной экспрессии мРНК генов *Olig2* и *CNPase*, кодирующих транскрипционный фактор и миелин-ассоциированный фермент олигодендроцитов соответственно, не показала статистически значимых межгрупповых различий ($p > 0,6$ и $p > 0,67$ соответственно) в исследуемых сегментах травмированного спинного мозга на 28-е сутки после повреждения (рис. 2г, д). Стоит отметить, что для молекулярного анализа брали гомогенаты травмированного спинного мозга исследуемых групп в сегментах Th_9 и L_2 без диссекции на зоны VF, LF и CST.

Оптическая визуализация ex vivo выявила усиленные сигналы красителя Эванса в спинном мозге крыс группы ТСМ на 28-е сутки после повреждения (рис. 3а). Статистически значимое увеличение показателя эпифлуоресценции красителя Эванса было обнаружено в эпицентре травмы (между Th_7 и Th_9 сегментами), где в группе ТСМ концентрация красителя была на 84 % выше ($p < 0,05$) по сравнению с группой ТСМ + ДРеаб (рис. 3б). В поясничном сегменте (L_1–L_3) значительных различий в уровне эпифлуоресценции красителя Эванса между группами обна-

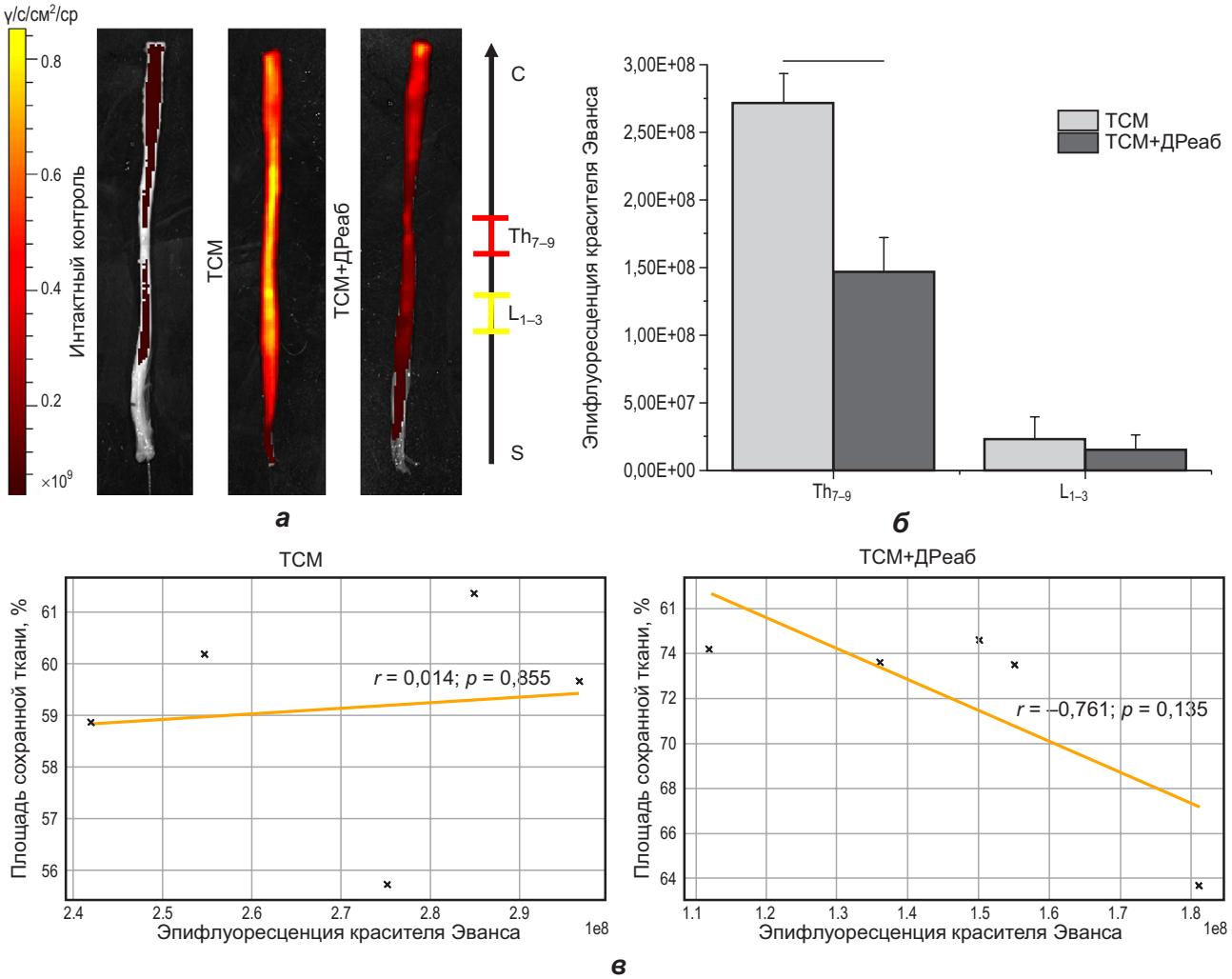


РИС. 3.

***а** – оптические изображения спинного мозга крыс контрольных и экспериментальной групп (интактный контроль, ТСМ и ТСМ + ДРеаб) с помощью системы IVIS Spectrum (Caliper Life Science, США) при анализе эпифлуоресценции красителя Эванса; **б** – средние значения показателя эпифлуоресценции красителя Эванса в сегментах Th_7–Th_9 и L_1–L_3 контрольной (ТСМ) и экспериментальной (ТСМ + ДРеаб) групп (горизонтальной линией указано $p < 0,05$); **в** – количественная оценка взаимосвязи (коэффициент корреляции Пирсона) между морфометрическими данными по сохранности ткани спинного мозга (ось ординат) и средним показателем эпифлуоресценции красителя Эванса (ось абсцисс) в области Th_7–Th_9 контрольной (ТСМ) и экспериментальной (ТСМ + ДРеаб) групп*

FIG. 3.

***а** – optical images of the rat spinal cord in control and experimental groups (intact control, SCI, and SCI + Rehab) using the IVIS Spectrum system (Caliper Life Science, USA) for analysis of Evans blue epifluorescence; **б** – mean values of Evans blue epifluorescence in Th_7–Th_9 and L_1–L_3 segments in the control (SCI) and experimental (SCI + Rehab) groups (horizontal line indicates $p < 0.05$); **в** – quantitative assessment of the correlation (Pearson correlation coefficient) between morphometric data on spinal cord tissue preservation (y-axis) and mean Evans blue epifluorescence (x-axis) in the Th_7–Th_9 region in the control (SCI) and experimental (SCI + Rehab) groups*

ружено не было, однако в группе ТСМ + ДРеаб наблюдалась тенденция к снижению данного показателя (рис. 3б).

Корреляция Пирсона была проведена для количественной оценки взаимосвязи между средним показателем эпифлуоресценции красителя Эванса и морфометрическими данными по сохранности ткани спинного мозга в области Th_7–Th_9 (опубликованные данные [5]). Для контрольной группы (ТСМ) коэффициент корреляции Пирсона составил $r = 0{,}014$ при $p = 0{,}855$, что указывает на очень слабую положительную линейную связь между указанными выше показателями, не достигающую статистической значимости (рис. 3в). Для группы ТСМ + ДРеаб коэффициент корреляции Пирсона был равен $r = -0{,}761$ при $p = 0{,}135$, что указывает на сильную отрицательную линейную связь между средним показателем эпифлуоресценции красителя Эванса и площадью сохранённой ткани в области Th_7–Th_9, однако эта связь также не является статистически значимой (рис. 3в). Полученные результаты свидетельствуют о том, что в опытной группе (ТСМ + ДРеаб) по мере снижения показателя эпифлуоресценции площадь сохранной ткани спинного мозга имеет тенденцию к увеличению, тогда как в контрольной группе (ТСМ) нет подобной линейной зависимости между двумя указанными переменными.

В ходе данного исследования мы также решили обратить внимание на реактивность астроцитов и возможные изменения со стороны их перисинаптических отростков как в области, приближенной к ТСМ (Th_9), так и на удалении (L_2) (табл. 2). Оценка относительной экспрессии мРНК гена *GFAP*, кодирующего синтез белка пан-маркера астроцитов, показала повышение данного показателя в области, приближенной к ТСМ (Th_9) обеих исследуемых групп (рис. 4а). На удалении в сегменте L_2 мы не обнаружили межгрупповых различий по экспрессии мРНК гена *GFAP,* однако в данной области исследуемый показатель был значительно ниже ($p < 0{,}016$) в группе ТСМ + ДРеаб при сравнении с той же группой, но в сегменте Th_9. Оценка экспрессии мРНК гена *C3,* характерного для астроцитов нейротоксического фенотипа, не установила возможность влияния двигательного тренинга на данный показатель (рис. 4б). Анализ экспрессии мРНК генов *GLT1*, *Ezr*, *Grm3* и *Grm5*, кодирующих экспрессию белков, характерных для перисинаптических отростков астроцитов, также не показал статистически значимых изменений между исследуемыми группами как в области, приближенной к эпицентру ТСМ (Th_9), так и на удалении (L_2) (рис. 4в–е).

ОБСУЖДЕНИЕ

В области, приближенной к эпицентру ТСМ (Th_9), мы отметили значительное разрушение миелиновых волокон в обеих экспериментальных группах. ТСМ приводит к быстрой потере олигодендроцитов и дегенерации аксонов, преимущественно каудальнее эпицентра повреждения. Исследования показывают, что при неполном поражении спинного мозга неврологической дисфункции частично обусловлена именно потерей олигодендроцитов [6]. Демиелинизированные аксоны более уязвимы к дегенерации, и своевременная ремиелинизация важна не только для восстанов-

ТАБЛИЦА 2

УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ ИССЛЕДУЕМЫХ ГЕНОВ В СЕГМЕНТАХ Th_9 И L_2 СПИННОГО МОЗГА У КРЫС ИЗ ГРУПП ТСМ И ТСМ + ДРеаб.

TABLE 2

GENE EXPRESSION LEVELS IN Th_9 AND L_2 SPINAL CORD SEGMENTS IN RATS FROM THE SCI AND SCI + Rehab GROUPS

Ген	Th_9		L_2	
	ТСМ	ТСМ + ДРеаб	ТСМ	ТСМ + ДРеаб
Olig2	1,88 (0,38)	2,74 (0,94)	0,92 (0,12)	1,35 (0,43)
CNPase	3,07 (0,52)	1,57 (0,41)	1,17 (0,41) *	1,56 (0,42)
GFAP	3,01 (0,86)	4,56 (0,7) *	0,97 (0,23)	1,52 (0,17)
C3	2,40 (0,46)	2,52 (0,35)	1,7 (0,46)	2,35 (0,4)
GLT1	0,82 (0,16)	0,62 (0,04)	0,67 (0,11)	0,99 (0,16)
Ezr	1,78 (0,56)	1,14 (0,29)	0,39 (0,05)	1,28 (0,32)
Grm3	0,8 (0,12)	1,68 (0,56)	1,46 (0,22)	2,27 (1,07)
Grm5	1,85 (0,42)	2,23 (0,68)	0,98 (0,25)	2,21 (0,94)

Примечание. * – $p < 0{,}05$ в сравнении с той же группой в другом сегменте.

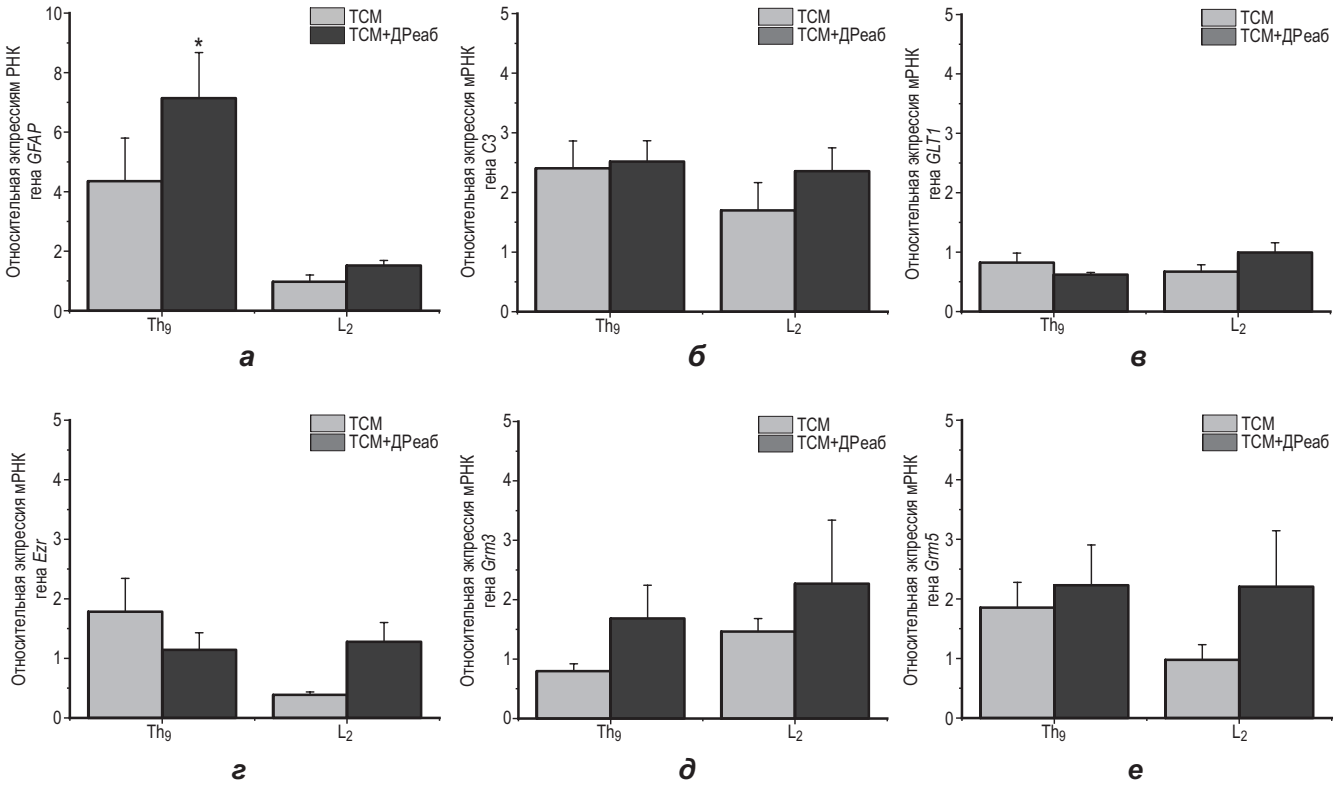


РИС. 4.

*Относительная экспрессия мРНК генов GFAP (**а**), C3 (**б**), GLT1 (**в**), Ezr (г), Grm3 (**д**) и Grm5 (**е**) в сегментах Th_9 и L_2 спинного мозга на 28-е сутки после травмы в группах ТСМ (серые столбцы) и ТСМ + ДРеаб (чёрные столбцы); количество РНК было нормализовано по GAPDH; * – $p < 0,05$ при сравнении с аналогичной группой сегмента L2*

FIG. 4.

*Relative mRNA expression of GFAP (**а**), C3 (**б**), GLT1 (**в**), Ezr (**г**), Grm3 (**д**), and Grm5 (**е**) genes in Th_9 and L_2 segments of the spinal cord on day 28 after the injury in the SCI (grey bars) and SCI + Rehab (black bars) groups; RNA levels were normalized with GAPDHl; * – $p < 0.05$ compared to the L_2 segment of the corresponding group*

ления проводимости, но и для предотвращения дальнейшей нейродегенерации [7, 8]. В этой связи одной из целей двигательной реабилитации являются сохранение и ремиелинизация уязвимых аксонов, что критично для функционального восстановления [9]. Отсутствие статистически значимых различий в количестве сохранных миелиновых волокон между группами ТСМ и ТСМ + ДРеаб в сегменте Th_9 свидетельствует о том, что двигательная реабилитация не оказывает заметного влияния на данный показатель в области, приближенной к эпицентру повреждения, вследствие значительных структурных изменений, опосредованных вторичным повреждением [10].

Деструкция части миелиновых волокон обнаружена нами и на значительном удалении от эпицентра повреждения в сегменте L_2, где в зоне CST выявлено большее количество сохранных миелиновых волокон в группе с двигательной реабилитацией (ТСМ + ДРеаб), в отличие от контрольной группы (ТСМ). Ранее было показано, что аксоны CST могут прорастать и образовывать новые контакты с сохранными супраспинальными или неповреждёнными проприоспинальными нейронами [11, 12]. В то же время пластичность и реорганизация как сохранённых, так и повреждённых проприоспинальных связей оказываются значимыми для восстановления функции нейронных сетей при ТСМ [13, 14].

Молекулярный анализ показал отсутствие значительных межгрупповых различий в экспрессии мРНК генов *Olig2* и *CNPase*. С одной стороны, это позволяет предположить, что двигательные тренировки могут не оказывать существенного влияния на экспрессию генов, связанных с олигодендроцитами, через 28 дней после ТСМ, а с другой стороны, эти результаты лишь показывают картину в целом без динамических и региональных (т. е. по трактам белого вещества спинного мозга) особенностей.

Дезинтеграция ГСМБ в эпицентре ТСМ способствует усиленной трансмиграции иммунных клеток и высвобождению цитотоксических молекул [15, 16]. Однако следует учитывать, что проницаемость барьера возрастает не только в эпицентре повреждения, но и практически по всей длине спинного мозга. Указанное обстоятельство может быть значимым и для поясничного отдела спинного мозга, где локализуются нейроны центрального генератора паттерна, критически важные для поддержания и восстановления двигательной функции [1]. Краситель Эванса используется как маркер для оценки проницаемости ГСМБ и целостности сосудов. Увеличение эпифлуоресценции красителя Эванса в эпицентре повреждения спинного мозга указывает на повышенную проницаемость барьера в этой области для крыс контрольной группы (ТСМ) на 28-е сутки после трав-

мы. Наши результаты подтвердили полученные ранее данные о том, что двигательная реабилитация играет роль в защите ГСМБ, предотвращая его дальнейшее повреждение [17], что объясняет снижение концентрации красителя в сегментах Th_7–Th_9 в группе ТСМ + ДРеаб. В то же время стоит отметить, что в поясничном отделе (L_1–L_3) статистически значимых различий в уровне эпифлуоресценции красителя Эванса между группами ТСМ и ТСМ + ДРеаб не было обнаружено, но проницаемость ГСМБ всё же была выше при сравнении с интактной группой.

Наблюдаемая отрицательная корреляция между эпифлуоресценцией красителя Эванса и площадью сохранной ткани в группе ТСМ + ДРеаб ($r = –0,761$; $p = 0,135$) указывает на тенденцию к положительному влиянию двигательной реабилитации на поддержание целостности ГСМБ и уменьшение воспаления, опосредующего вторичное повреждение. Однако данная корреляция не является статистически значимой ($p > 0,05$), что ограничивает возможность делать однозначные выводы. Раннее проведённые исследования показывают, что двигательная активность способствует ремиелинизации и нейропластичности [18, 19]. Тем не менее, в литературе отсутствуют исследования, определяющие корреляцию между проницаемостью ГСМБ и сохранностью нервной ткани. Это подчёркивает уникальность и значимость наших результатов, указывая на необходимость дальнейшего изучения этого аспекта. Измерение эпифлуоресценции может служить полезным индикатором проницаемости ГСМБ и уровня воспаления, что имеет прямое отношение к сохранности ткани после ТСМ. Тем не менее, будущие исследования должны быть направлены на выяснение молекулярных и клеточных механизмов, опосредующих указанный положительный эффект, а также на воплощение полученных результатов в эффективные реабилитационные стратегии для пациентов с ТСМ. Раннее начало реабилитационных программ, способствующих развитию двигательной активности, может помочь минимизировать вторичные повреждения, поддержать ремиелинизацию и улучшить функциональные результаты. Однако необходимы дальнейшие исследования для определения оптимальных сроков, интенсивности и продолжительности мероприятий по двигательной реабилитации для достижения максимального протективного эффекта для нервной ткани.

Повышение экспрессии мРНК гена *GFAP* в области, приближенной к эпицентру повреждения (Th_9), в обеих исследуемых группах указывает на возникшую реактивность астроцитов в ответ на ТСМ. Этот эффект известен и согласуется с результатами предшествующих исследований, в которых сообщалось о повышении экспрессии *GFAP* после ТСМ, что связано с астроглиозом и формированием глиального рубца [20, 21]. В отличие от увеличения реактивности астроцитов в целом, экспрессия мРНК гена *C3*, характерного для астроцитов с нейротоксическим фенотипом, не показала значительных различий между группами ТСМ и ТСМ + ДРеаб в сегментах Th_9 и L_2. Двигательная реабилитация, по всей видимости, не может оказывать существенного влияния на поляризацию астроцитов в сторону нейротоксического фенотипа. Этот вывод заслуживает внимания, поскольку реактивные астроциты вовлечены в усугубление нейровоспаления и вторичного повреждения после ТСМ [22].

Травма спинного мозга инициирует сложную последовательность патофизиологических процессов, которые можно разделить на острый, подострый и хронический этапы. В острой фазе происходит первичное механическое повреждение тканей и нарушение гемато-спинномозгового барьера, за которым следует подострая фаза с активным участием астроцитов в процессах воспаления и ремоделирования [23]. Астроциты играют ключевую роль в регуляции нейровоспаления и формировании глиального рубца, влияя на восстановление после травмы [24]. Наше исследование, проведённое через 28 дней после ТСМ, соответствует переходу от подострой к хронической фазе, когда влияние астроцитов на восстановительные процессы остаётся значимым.

Отсутствие значимых изменений в экспрессии мРНК генов *GLT1, Ezr, Grm3* и *Grm5* между исследуемыми группами позволяет предположить, что двигательная реабилитация может не оказывать существенного влияния на ремоделирование перисинаптических отростков астроцитов в травмированном спинном мозге как в области, приближенной (Th_9), так и в области, удалённой (L_2) от эпицентра повреждения. Перисинаптические отростки астроцитов играют важную роль в синаптической передаче, поглощении нейротрансмиттеров и модуляции синаптической пластичности [25, 26]. Однако стоит отметить, что внимание исследователей на перисинаптические отростки астроцитов в спинном мозге направлено в большей степени в случае нейропатической боли, в развитии которой они играют ключевую роль [27]. Ранее нами показано, что ТСМ крысы приводит к усилению экспрессии протоплазматическими астроцитами NG2 протеогликана, в том числе в области их перисинаптических отростков, к 7-м и 30-м суткам повреждения и на удалении от эпицентра повреждения [28]. В связи с активно разрабатываемой концепцией о роли глии в функционировании синапсов несомненный интерес представляет продолжение исследований перисинаптических отростков астроцитов и их роли в регулировании синаптической активности при ТСМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование показывает, что двигательная реабилитация может способствовать сохранности миелинизированных аксонов в области CST на значительном удалении от области повреждения. Несмотря на то, что наблюдалась тенденция к отрицательной корреляции между проницаемостью гемато-спинномозгового барьера и сохранностью ткани спинного мозга в группе ТСМ + ДРеаб, данная связь не была статистически значимой. Это подчёркивает необходимость проведения дальнейших исследований с большим размером выборки для подтверждения потенциального протек-

тивного эффекта двигательной реабилитации на гемато-спинномозговой барьер и его связь с сохранностью ткани. Хотя двигательная реабилитация может оказывать ограниченное влияние на экспрессию мРНК генов, связанных с реактивностью астроцитов и их перисинаптическими отростками, важно признать, что позитивные эффекты двигательной реабилитации могут быть опосредованы другими механизмами. Дальнейшие исследования потенциального синергетического эффекта при сочетании двигательной реабилитации с другими целевыми мероприятиями, направленными на модулирование функции глиальных клеток и синаптической пластичности, могут представить ценные сведения для оптимизации функционального восстановления после ТСМ.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-75-10041; https://rscf.ru/project/23-75-10041/).

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chelyshev Yu. More attention on segments remote from the primary spinal cord lesion site. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2022; 27(8): 235. doi: 10.31083/j.fbl2708235

2. Duan R, Qu M, Yuan Y, Lin M, Liu T, Huang W, et al. Clinical benefit of rehabilitation training in spinal cord injury. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2021; 46(6): E398-E410. doi: 10.1097/BRS.0000000000003789

3. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma*. 1995; 12(1): 1-21. doi: 10.1089/neu.1995.12.1

4. Hayashibe M, Homma T, Fujimoto K, Oi T, Yagi N, Kashihara M, et al. Locomotor improvement of spinal cord-injured rats through treadmill training by forced plantar placement of hind paws. *Spinal Cord*. 2016; 54(7): 521-529. doi: 10.1038/sc.2015.186

5. Ageeva T, Sabirov D, Sufianov A, Davletshin E, Plotnikova E, Shigapova R, et al. The impact of treadmill training on tissue integrity, axon growth, and astrocyte modulation. *Int J Mol Sci*. 2024; 25(7): 3772. doi: 10.3390/ijms25073772

6. Pukos N, Goodus MT, Sahinkaya FR, McTigue DM. Myelin status and oligodendrocyte lineage cells over time after spinal cord injury: What do we know and what still needs to be unwrapped? *Glia*. 2019; 67(11): 2178-2202. doi: 10.1002/glia.23702

7. Alizadeh A, Dyck SM, Karimi-Abdolrezaee S. Myelin damage and repair in pathologic CNS: Challenges and prospects. *Front Mol Neurosci*. 2015; 8: 35. doi: 10.3389/fnmol.2015.00035

8. Mei F, Lehmann-Horn K, Shen YAA, Rankin KA, Stebbins KJ, Lorrain DS, et al. Accelerated remyelination during inflammatory demyelination prevents axonal loss and improves functional recovery. *Elife*. 2016; 5: e18246. doi: 10.7554/eLife.18246

9. Zawadzka M, Yeghiazaryan M, Niedziółka S, Miazga K, Kwaśniewska A, Bekisz M, et al. Forced remyelination promotes axon regeneration in a rat model of spinal cord injury. *Int J Mol Sci*. 2022; 24(1): 495. doi: 10.3390/ijms24010495

10. Anwar MA, Al Shehabi TS, Eid AH. Inflammogenesis of secondary spinal cord injury. *Front Cell Neurosci*. 2016; 10. URL: http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fncel.2016.00098/abstract [date of access: 17.07.2024].

11. Martin J. Harnessing neural activity to promote repair of the damaged corticospinal system after spinal cord injury. *Neural Regen Res*. 2016; 11(9): 1389-1391. doi: 10.4103/1673-5374.191199

12. Jiang YQ, Zaaimi B, Martin JH. Competition with primary sensory afferents drives remodeling of corticospinal axons in mature spinal motor circuits. *J Neurosci*. 2016; 36(1): 193-203. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3441-15.2016

13. Flynn JR, Graham BA, Galea MP, Callister RJ. The role of propriospinal interneurons in recovery from spinal cord injury. *Neuropharmacology*. 2011; 60(5): 809-822. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.01.016

14. Bareyre FM, Kerschensteiner M, Raineteau O, Mettenleiter TC, Weinmann O, Schwab ME. The injured spinal cord spontaneously forms a new intraspinal circuit in adult rats. *Nat Neurosci*. 2004; 7(3): 269-277. doi: 10.1038/nn1195

15. Noble LJ, Donovan F, Igarashi T, Goussev S, Werb Z. Matrix metalloproteinases limit functional recovery after spinal cord injury by modulation of early vascular events. *J Neurosci*. 2002; 22(17): 7526-7535. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-17-07526.2002

16. Wells JEA, Rice TK, Nuttall RK, Edwards DR, Zekki H, Rivest S, et al. An adverse role for matrix metalloproteinase 12 after spinal cord injury in mice. *J Neurosci*. 2003; 23(31): 10107-10115. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-31-10107.2003

17. Ying X, Xie Q, Li S, Yu X, Zhou K, Yue J, et al. Water treadmill training attenuates blood-spinal cord barrier disruption in rats by promoting angiogenesis and inhibiting matrix metalloproteinase-2/9 expression following spinal cord injury. *Fluids Barriers CNS*. 2020; 17(1): 70. doi: 10.1186/s12987-020-00232-1

18. Faw TD, Lakhani B, Schmalbrock P, Knopp MV, Lohse KR, Kramer JLK, et al. Eccentric rehabilitation induces white matter plasticity and sensorimotor recovery in chronic spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2021; 346: 113853. doi: 10.1016/j.expneurol.2021.113853

19. Cheng J, Shen W, Jin L, Pan J, Zhou Y, Pan G, et al. Treadmill exercise promotes neurogenesis and myelin repair via upregulating Wnt/β-catenin signaling pathways in the juvenile brain following focal cerebral ischemia/reperfusion. *Int J Mol Med*. 2020; 45(5): 1447-1463. doi: 10.3892/ijmm.2020.4515

20. Mukhamedshina YO, Akhmetzyanova ER, Kostennikov AA, Zakirova EY, Galieva LR, Garanina EE, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell application combined with fibrin matrix promotes structural and functional recovery following spinal cord injury in rats. *Front Pharmacol*. 2018; 9: 343. doi: 10.3389/fphar.2018.00343

21. Kabdesh IM, Mukhamedshina YO, Arkhipova SS, Sabirov DK, Kuznecov MS, Vyshtakalyuk AB, et al. Cellular and molecular gradients in the ventral horns with increasing distance from the injury site after spinal cord contusion. *Front Cell Neurosci*. 2022; 16: 817752. doi: 10.3389/fncel.2022.817752

22. Yu G, Zhang Y, Ning B. Reactive astrocytes in central nervous system injury: Subgroup and potential therapy. *Front Cell Neurosci*. 2021; 15: 792764. doi: 10.3389/fncel.2021.792764

23. Hu X, Xu W, Ren Y, Wang Z, He X, Huang R, et al. Spinal cord injury: Molecular mechanisms and therapeutic interven-

tions. *Signal Transduct Target Ther*. 2023; 8(1): 245. doi: 10.1038/s41392-023-01477-6

24. Lima R, Monteiro A, Salgado AJ, Monteiro S, Silva NA. Pathophysiology and therapeutic approaches for spinal cord injury. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(22): 13833. doi: 10.3390/ijms232213833

25. Bernardinelli Ya, Muller D, Nikonenko I. Astrocyte-synapse structural plasticity. *Neural Plast*. 2014; 2014: 232105. doi: 10.1155/2014/232105

26. Schiweck J, Eickholt BJ, Murk K. Important shapeshifter: Mechanisms allowing astrocytes to respond to the changing nervous system during development, injury and disease. *Front Cell Neurosci*. 2018; 12: 261. doi: 10.3389/fncel.2018.00261

27. Ko HG, Chun H, Han S, Kaang BK. Role of spinal astrocytes through the perisynaptic astrocytic process in pathological pain. *Mol Brain*. 2023; 16(1): 81. doi: 10.1186/s13041-023-01069-z

28. Kabdesh IM, Arkhipova SS, Mukhamedshina YO, James V, Rizvanov AA, Chelyshev YA. The function of NG2/CSPG4-expressing cells in the rat spinal cord injury: An immunoelectron microscopy study. *Neuroscience*. 2021; 467: 142-149. doi: 10.1016/j.neuroscience.2021.05.031

Сведения об авторах

Сабиров Давран Худайшукурович – младший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: davraniwe@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-0770-7167

Агеева Татьяна Вячеславовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: t.povysheva@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3384-1450

Тимофеева Анна Викторовна – младший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: anua_tima@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3393-6775

Плотникова Елизавета Александровна – младший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: liza.plotnikova0@gmail.com, https://orcid.org/0009-0001-4041-2435

Архипова Светлана Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: svetlanaarkhipva@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4082-515X

Давлетшин Эльдар Фанилевич – младший научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», e-mail: eldar.davletschin@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-8784-3200

Мухамедшина Яна Олеговна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник НИЛ «Генные и клеточные технологии», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: yana.k-z-n@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9435-340X

Information about the authors

Davran Kh. Sabirov – Junior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: davraniwe@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-0770-7167

Tatyana V. Ageeva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: t.povysheva@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-3384-1450

Anna V. Timofeeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: anua_tima@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-3393-6775

Elizaveta A. Plotnikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: liza.plotnikova0@gmail.com, https://orcid.org/0009-0001-4041-2435

Svetlana S. Arkhipova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: svetlanaarkhipva@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-4082-515X

Eldar F. Davletshin – Junior Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, e-mail: eldar.davletschin@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-8784-3200

Yana O. Mukhamedshina – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Gene and Cell Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University; Associate Professor at the Department of Histology, Cytology, and Embryology, Kazan State Medical University, e-mail: yana.k-z-n@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9435-340X

Вклад авторов

Сабиров Д.Х. – моделирование травмы спинного мозга и сбор материала; статистическая обработка данных; анализ полученных данных; работа с иллюстрациями.

Агеева Т.В. – концепция и дизайн исследования; написание текста статьи.

Тимофеева А.В. – молекулярный анализ полученных образцов; статистическая обработка данных.

Плотникова Е.А. – проведение двигательного тренинга; сбор материала.

Архипова С.С. – морфометрический анализ.

Давлетшин Э.Ф. – оценка проницаемости гемато-спинномозгового барьера; анализ полученных данных.

Мухамедшина Я.О. – концепция и дизайн исследования; написание текста статьи.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Формат А4 (60х84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 04.03.2025.
Подписано в печать 10.03.2025, дата выхода в свет 13.03.2025.
Печ. л. 32,5. Усл. печ. л. 30,2. Уч. изд. л. 29,1. 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

