

Оригинальные исследования

Медико-биологические науки

Мечикова Г.Я., Флейшман М.Ю., Лебедько О.А.

Оценка *in vivo* антиоксидантной активности плодов черники пазушной (*Vaccinium axillare* Nakai) при окислительном стрессе..... 4

Храпова М.В., Храпов С.Е., Чечушков А.В., Кожин П.М., Ромах Л.П., Серых А.Е., Хольшин С.В., Кандалинцева Н.В., Меньщикова Е.Б.

Токсичность нового монофенольного синтетического индуктора редокс-чувствительной сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE *in vitro* и *in vivo* 11

Рачковская Л.Н., Смагин А.А., Нимаев В.В., Демура А.Ю., Рачковский Э.Э., Ястребова Е.С., Мальцев В.П., Королев М.А., Летягин А.Ю.

Влияние серебродержащего сорбента на эритроциты при гемосорбции: исследование *in vitro* 19

Даренская М.А., Рычкова Л.В., Астахова Т.А., Погодина А.В., Долгих О.Н., Климкина Ю.Н., Колесникова Л.И.

Взаимосвязь показателей фактического питания и параметров системы липопероксидации-антиоксидантной защиты крови у подростков 14–17 лет, проживающих в сельской местности 25

Байкалов Г.И., Леонов Н.П., Мадонов П.Г., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С.

Хронотропное действие иммобилизованных субтилизинов при перфузии изолированного сердца крысы 37

Криштон В.В., Румянцева Т.А., Никонорова В.Г., Фатеев И.В.

Влияние физических нагрузок на поведенческие реакции крыс при церебральной гипоперфузии 43

Пустынников В.Э., Царук С.С., Фомичев Е.А., Миросердова Е.А., Куркин Д.В., Бакулин Д.А., Андриашвили Т.М., Соколова А.А., Атапина Н.В., Брель А.К., Будаева Ю.Н., Тюренков И.Н.

Влияние нового производного салициловой кислоты – дикалиевой соли N-(3-гидроксibenzoил)таурина – на неврологический дефицит, гемостаз и функциональную активность сосудов головного мозга в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения 52

Клиническая медицина

Обухова О.О., Рябиченко Т.И., Карпович Г.С., Скосырева Г.А., Куимова И.В., Воевода М.И.

Особенности лабораторных показателей у детей с мультисистемным воспалительным синдромом, связанным с SARS-CoV-2 61

Шмаков А.Н., Бударова К.В., Елизарьева Н.Л., Кохно В.Н.

Оценка эффектов аппаратного мертвого пространства, создаваемого тепловлагосберегающим фильтром, при искусственной вентиляции легких у новорожденных 69

Ахвердян Ю.Р., Папичев Е.В., Заводовский Б.В., Полякова Ю.В., Сивордова Л.Е.

Факторы риска развития остеопороза у пациентов с ревматоидным артритом 74

Приходько А.Г., Перельман Ю.М.

Эффективность применения β_2 -агониста короткого действия для купирования острого холодового бронхоспазма у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей 81

Ильканич А.Я., Дарвин В.В., Рыжиков М.Г., Оганян А.В.

Подготовка верхних отделов пищеварительного тракта при кровотечениях 93

Юбилеи

Карпов Ростислав Сергеевич (к 85-летию со дня рождения) 99

Некрологи

Труфакин Валерий Алексеевич 101

Research articles

Biomedical sciences

Mechikova G.Ya., Fleishman M.Yu., Lebed'ko O.A.

Antioxidant activity of *Vaccinium axillare* Nakai fruits during oxidative stress *in vivo* 4

**Khrapova M.V., Khrapov S.E., Chechushkov A.V., Kozhin P.M., Romakh L.P., Serykh A.E.,
Kolshin S.V., Kandalintseva N.V., Menshchikova E.B.**

Toxicity of new monophenolic synthetic activator of Keap1/Nrf2/ARE redox-sensitive signaling system
in vitro and *in vivo* 11

**Rachkovskaya L.N., Smagin A.A., Nimaev V.V., Demura A.Yu., Rachkovsky E.E., Yastrebova E.S.,
Maltsev V.P., Korolev M.A., Letyagin A.Yu.**

The effect of silver-containing sorbent on red blood cells during hemosorption: an *in vitro* study 19

**Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Astakhova T.A., Pogodina A.V., Dolgikh O.N., Klimkina Yu.N.,
Kolesnikova L.I.**

Correlation between actual nutrition and lipid peroxidation and antioxidant defense parameters in aged
14–17 years adolescents living in rural areas 25

Baikalov G.I., Leonov N.P., Madonov P.G., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S.

Chronotropic action of immobilized subtilisins during the perfusion of an isolated rat heart 37

Chrishtop V.V., Rumyantseva T.A., Nikonorova V.G., Fateev I.V.

Influence of physical loading on behavioral reactions of rats in cerebral hypoperfusion 43

**Pustynnikov V.E., Tsaruk S.S., Fomichev E.A., Miloserdova E.A., Kurkin D.V., Bakulin D.A.,
Andriashvili T.M., Sokolova A.A., Atapina N.V., Brel A.K., Budaeva Yu.N., Tyurenkov I.N.**

Effect of benzoyl taurine dipotassium salt on coagulation hemostasis and vascular activity in the
microvasculature of the brain in violation of cerebral circulation 52

Clinical medicine

Obukhova O.O., Ryabichenko T.I., Karpovich G.S., Skosyreva G.A., Kuimova I.V., Voevoda M.I.

Features of laboratory parameters in children with multisystem inflammatory syndrome associated
with SARS-CoV-2 61

Shmakov A.N., Budarova K.V., Elizar'eva N.L., Kokhno V.N.

Evaluation of deadspace effects created by heat and moisture exchange filter during artificial lung
ventilation in newborns 69

Akhverdyan Yu.R., Papichev E.V., Zavodovsky B.V., Polyakova Yu.V., Seewordova L.E.

Risk factors for osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis 74

Prikhodko A.G., Perelman J.M.

Efficiency of using a short-acting β_2 -agonist for the relief of acute cold bronchospasm in asthma patients with
cold airway hyperresponsiveness 81

Ilkanich A.Ya., Darwin V.V., Ryzhikov M.G., Oganian A.V.

Preparing the upper gastrointestinal tract for an esophagogastroduodenoscopy to identify the source of
acute bleeding 93

Anniversary

Karpov Rostislav Sergeevich (on the occasion of his 85th birthday) 99

Obituaries

Trufakin Valery Alekseevich 101

Оценка *in vivo* антиоксидантной активности плодов черники пазушной (*Vaccinium axillare* Nakai) при окислительном стрессе

Г.Я. Мечикова, М.Ю. Флейшман, О.А. Лебедько

Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России
680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35

Резюме

Интенсивность процессов свободнорадикального окисления *in vivo* (модель индуцированного окислительного стресса) изучали после зондового введения экстракта плодов *Vaccinium axillare* Nakai. **Материал и методы.** Четыре группы ($n = 40$) белых мышей-самцов линии СВА массой 20–25 г были вовлечены в эксперимент: 1 – интактный контроль; 2 – введение 0,9%-го раствора натрия хлорида перорально в течение 10 дней, доза 10 мл/кг/сут; 3 – группа «цисплатин» (животные получали 0,9%-й раствор натрия хлорида аналогично группе 2, на пятый день эксперимента однократно путем внутрибрюшинной инъекции был введен цисплатин в дозе 7,5 мг/кг); 4 – группа «цисплатин + черника» (мыши в течение 10 дней получали перорально экстракт плодов черники пазушной в дозе 10 мл/кг/сут, на пятый день эксперимента однократно путем внутрибрюшинной инъекции был введен цисплатин в дозе 7,5 мг/кг). Антиоксидантную активность черники пазушной изучали методом хемилюминесценции. **Результаты и их обсуждение.** Анализ кинетических параметров хемилюминесценции гомогената почек мышей показал, что на фоне однократной внутрибрюшинной инъекции цисплатина у животных развивается окислительный стресс, его выраженность уменьшается под действием экстракта плодов черники пазушной. **Заключение.** Экстракт плодов черники пазушной (*Vaccinium axillare* Nakai) обладает выраженными антиоксидантными свойствами и может иметь значение в лечении и профилактике заболеваний, связанных с окислительным стрессом.

Ключевые слова: черника пазушная, окислительный стресс, свободнорадикальное окисление, антиоксиданты, хемилюминесценция.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Флейшман М.Ю., e-mail: marfl@yandex.ru

Для цитирования: Мечикова Г.Я., Флейшман М.Ю., Лебедько О.А. Оценка *in vivo* антиоксидантной активности плодов черники пазушной (*Vaccinium axillare* Nakai) при окислительном стрессе. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022;42(5):4–10. doi: 10.18699/SSMJ20220501

Antioxidant activity of *Vaccinium axillare* Nakai fruits during oxidative stress *in vivo*

G.Ya. Mechikova, M.Yu. Fleishman, O.A. Lebed'ko

Far-Eastern State Medical University of Minzdrav of Russia
680000, Khabarovsk, Muravyov-Amursky str., 35

Abstract

Intensity of free radical oxidation processes *in vivo* (model of induced oxidative stress) was studied after the probe introduction of *Vaccinium axillare* Nakai fruit extract. **Material and methods.** Four groups ($n = 40$) of white male CBA mice weighing 20–25 g were included in the experiment: 1 – intact control; 2–0.9 % sodium chloride solution was administered *per os* for 10 days in a dose of 10 ml/kg/day; 3 – group “cisplatin” (animals received 0.9 % sodium chloride solution similarly to group 2, on the fifth day of the experiment cisplatin was administered once by intraperitoneal injection

at a dose of 7.5 mg/kg); 4 – group “cisplatin + blueberries” (mice received *per os* extract of Blueberry axillary fruits at a dose of 10 ml/kg/day for 10 days, on the fifth day of the experiment cisplatin was administered once by intraperitoneal injection at a dose of 7.5 mg/kg). Antioxidant activity of Blueberry axillary was studied by chemiluminescence. **Results and discussion.** Analysis of kinetic parameters of mouse kidney homogenate chemiluminescence showed that oxidative stress develops in animals after a single intraperitoneal injection of cisplatin, the extract of Blueberry axillary fruit decreases its severity. **Conclusions.** Bilberry fruit extract (*Vaccinium axillare* Nakai) has pronounced antioxidant properties and may be important in the treatment and prevention of diseases associated with oxidative stress.

Key words: Blueberry axillary, oxidative stress, free-radical oxidation, antioxidants, chemiluminescence.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Fleishman M.Yu., e-mail: marfl@yandex.ru

Citation: Mechikova G.Ya., Fleishman M.Yu., Lebed'ko O.A. Antioxidant activity of *Vaccinium axillare* Nakai fruits during oxidative stress *in vivo*. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):4–10. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220501

Введение

Многолетние фундаментальные исследования показали, что нарушение антиоксидантной защиты живого организма является универсальным патогенетическим фактором возникновения и развития значительного ряда патологических состояний. Роль окислительного стресса в этиопатогенезе сердечно-сосудистых, онкологических, легочных, нейродегенеративных, эндокринных заболеваний, нарушений мозгового кровообращения и др. является общепризнанной во всем мире [1, 2]. Среди прочих механизмов окислительный стресс играет важную роль в скорости старения [3]. Имеются исследования о роли окислительного стресса в инфекции SARS-CoV-2 [4]. В связи с этим проблема поиска перспективных лекарственных средств, позволяющих предотвращать и тормозить реакции образования свободных радикалов, является актуальной.

Особый интерес для профилактики и терапии нарушений в организме естественного баланса скорости свободнорадикального окисления представляют природные антиоксиданты растительного происхождения [5, 6]. В растениях содержится широкий спектр биологически активных веществ первичного и вторичного синтеза, что обуславливает их эффективность как ферментативных антиоксидантов за счет синергических эффектов. Средства растительного происхождения можно рассматривать как естественные полифункциональные антиоксиданты, биологически активные вещества которых способны инактивировать свободные радикалы по разным механизмам. Природные антиоксиданты органично корректируют свободнорадикальные процессы в организме и практически не дают побочных эффектов, что позволяет использовать их длительно в профилактических и терапевтических целях для повышения антиоксидантного статуса организма [7].

Значительный резерв поиска растений с большим содержанием антиоксидантов представляет род *Vaccinium* L. [8]. Компонентный состав его видов представлен разнообразными группами фенольных соединений, которые, как известно, относятся к эффективным экзогенным факторам антиоксидантной защиты [9]. Широко известны антиоксидантные свойства черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) [8, 10, 11], с точки зрения систематики к ней близка черника пазушная (*Vaccinium axillare* Nakai) – оба вида относятся к секции *Myrtillus* Dumortier [12, 13].

Черника пазушная встречается на территории материковой и островной части российского Дальнего Востока и имеет достаточно обеспеченную сырьевую базу в Дальневосточном регионе [14]. За пределами Российской Федерации этот трансконтинентальный вид описан для Японии и Северной Америки. Черника пазушная (*Vaccinium axillare* Nakai) – ценный ягодник, имеющий пищевое и лекарственное значение в Дальневосточном регионе, сырье которого используется местным населением аналогично официальному виду – чернике обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.). Плоды черники пазушной применяют в народной медицине в качестве вяжущего средства при острых и хронических расстройствах желудочно-кишечного тракта, для уменьшения усталости глаз, при малокровии, воспалении, геморроидальных кровотечениях, почечнокаменной болезни, подагре, авитаминозе [12]. В условиях глюкозотолерантного теста для побегов черники пазушной установлено гипогликемическое и глюкозурическое действие; гипогликемический эффект побегов подтвержден также в эксперименте на модели аллоксанового диабета, при этом побеги черники пазушной обладают большей способностью активировать утилизацию глюкозы мозгом при сахарном диабете по сравнению с черникой обыкновенной [15]. Для плодов *Vaccinium axillare*

Nakai продемонстрирована антипролиферативная активность в отношении опухолевых клеточных линий и показано влияние на дифференцировку клеток HL-60 в зрелые моноциты [16, 17].

Литературный поиск показал отсутствие данных об антиоксидантных свойствах черники пазушной. В данной работе была поставлена цель – оценить влияние плодов *Vaccinium axillare* Nakai на процессы свободнорадикального окисления *in vivo* на модели индуцированного окислительного стресса.

Материал и методы

Объектом исследования служили плоды черники пазушной (*Vaccinium axillare* Nakai), собранные в местах естественного обитания вида на острове Сахалин и в Хабаровском крае. Для получения водного экстракта высушенные плоды черники пазушной измельчали до частиц размером 3 мм и экстрагировали водой при соотношении сырья к экстрагенту 1:10 на кипящей водяной бане в течение 15 минут, далее охлаждали до комнатной температуры и процеживали.

Исследования проводили на белых мышках-самцах линии СВА массой 20–25 г. Подопытных животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, стандартном температурном и световом режиме в соответствии с ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», Федеральным законом № 61 «Об обращении лекарственных средств» (ред. от 26.03.22 г.). При выведении животных из эксперимента руководствовались Федеральным законом № 498 «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» и Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. Протокол исследования утвержден на заседании этического комитета при ФГБОУ ВО Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России. Мыши были акклиматизированы к лабораторным условиям за две недели до начала эксперимента. Во время «привыкания» животным давали стандартный лабораторный рацион пищи и воду, ежедневно взвешивали; последнее взвешивание проводили за одни сутки до начала эксперимента.

Антиоксидантную активность плодов черники пазушной изучали на модели индуциро-

ванной нефротоксичности. Повреждение почек животных вызывали однократной инъекцией противоопухолевого препарата «цисплатин», обладающего, как известно, мощным токсическим действием на органы и ткани, главным образом в результате индукции окислительного стресса, основными мишенями которого являются митохондрии клеток. Так, в серии экспериментов на животных продемонстрировано увеличение активности процессов перекисного окисления липидов, что подтверждалось повышением уровня малонового диальдегида, а также снижение активности эндогенных антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатион-S-трансфераза в клеточных мембранах в результате индуцированной цисплатином нефротоксичности и гепатотоксичности [18].

Исследования проводили на 40 животных, из которых были сформированы случайным образом 4 группы по 10 особей в каждой: группа интактных животных, контрольная группа, группа «цисплатин» и группа «цисплатин + черника». В контрольной группе животные получали перорально с помощью зонда ежедневно в течение 10 дней 0,9%-й раствор натрия хлорида в дозе 10 мл/кг массы животного. Интактная группа животных использовалась в эксперименте как дополнительный контроль и в течение всего эксперимента содержалась в стандартных условиях вивария. В группе «цисплатин» животные получали 0,9%-й раствор натрия хлорида в технике и режиме контрольной группы, на пятый день эксперимента однократно путем внутрибрюшинной инъекции был введен цисплатин в дозе 7,5 мг/кг. Животные группы «цисплатин + черника» ежедневно в течение 10 дней получали перорально с помощью зонда экстракт плодов черники пазушной в дозе 10 мл/кг, на пятый день эксперимента однократно путем внутрибрюшинной инъекции был введен цисплатин в дозе 7,5 мг/кг. Используемая доза экстракта плодов черники пазушной была определена как наиболее адекватная к среднесуточной дозе для человека, в пересчете на используемых в исследованиях мышей.

На одиннадцатый день эксперимента животных выводили из эксперимента путем быстрой декапитации, предварительно используя эфирный наркоз, и извлекали левую почку, которую гомогенизировали для последующего анализа. Для оценки активности свободнорадикальных процессов в гомогенизированных тканях почек регистрировали хемиллюминесценцию (ХЛ) [19] на люминесцентном спектрометре LS 50B (PerkinElmer, США). Стандартизацию сигнала и мате-

матическую обработку кривых выполняли с помощью встроенной программы «Finlab».

Алгоритм ХЛ исследования включал определение одного параметра интенсивности спонтанного (собственного) свечения и четырех параметров активированного свечения биосустрата. Анализировали светосумму за 1 минуту спонтанной ХЛ (Ssp) (интенсивность генерации свободных радикалов), максимум амплитуды быстрой вспышки Fe²⁺-индуцированного свечения (h), светосумму за 2 минуты после быстрой вспышки Fe²⁺-индуцированной ХЛ (Sind-1), максимум (H) и светосумму за 2 минуты H₂O₂-индуцированной люминол-зависимой ХЛ (Sind-2). Показатель h свидетельствует о содержании гидроперекисей липидов, а Sind-1 отражает скорость образования перекисных радикалов преимущественно липидной природы. Величины H и Sind-2 обратно коррелируют с перекисной резистентностью субстрата и с активностью антирадикальной защиты соответственно. Интенсивность ХЛ, измеренную в милливольтгах, рассчитывали на 1 г влажной ткани, взятой во время забоя животных, и выражали в относительных единицах.

О достоверности различий выборок судили методом проверки гипотезы с использованием t-критерия Стьюдента. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали $p = 0,05$. Экспериментальные данные в таблице представлены в виде среднего арифметического M и стандартной ошибки среднего m .

Результаты и их обсуждение

Сравнение данных (таблица) показало отсутствие достоверных различий показателей свободнорадикального статуса (Ssp) в гомогенате тканей почек интактной и контрольной групп животных. Активность антиоксидантной защиты и перекисная резистентность в обеих группах жи-

вотных также находились на одном уровне, о чем свидетельствовали соответствующие величины Sind-2 и H. Содержание гидроперекисей липидов (h) и перекисных радикалов липидной природы (Sind-1) в гомогенате тканей интактной и контрольной групп животных также значимо не различались.

Введение животным однократной инъекции цисплатина в дозе 7,5 мг/кг вызвало выраженную интенсификацию процессов свободнорадикального окисления в почках мышей. Как следует из таблицы, наблюдается гиперпродукция свободных радикалов – величина Ssp больше, чем в контрольной и интактной группах, почти в 3 раза. В этой же группе животных зарегистрирована закономерная активация процессов перекисного окисления липидов в гомогенате тканей почек. Так, скорость накопления липоперекисных радикалов (Sind-1) возросла в 2 раза по сравнению с контрольной группой. Неизбежным следствием последнего явилось превышение контрольных значений содержания гидроперекисей липидов (h) в группе «цисплатин» в 2,4 раза. Данные изменения обусловлены угнетением системы антиоксидантной защиты, о чем свидетельствует возрастание величины Sind-2 по сравнению с интактной и контрольной группами в среднем в 2,5 раза. Угнетение защитных систем привело к снижению резистентности к перекисному окислению (H) в группе «цисплатин» по сравнению с контрольной группой и интактной группой почти в 3 раза.

Таким образом, выявленные достоверные изменения ХЛ показателей в группе животных «цисплатин» по отношению к контрольной и интактной группам свидетельствуют о декомпенсированной активации процессов свободнорадикального окисления, т.е. о формировании окислительного стресса, на фоне однократной

Хемилюминесцентные показатели в гомогенизированных тканях почек мышей

Chemiluminescence indices in homogenized mouse kidney tissues

| ХЛ показатель, усл. ед. | Исследуемая группа животных ($n = 10, M \pm m$) | | | |
|-------------------------|--|--------------------|--------------------|------------------------------|
| | Интактная группа | Контрольная группа | Группа «цисплатин» | Группа «цисплатин + черника» |
| Ssp | 1,49 ± 0,21 | 1,58 ± 0,44 | 4,23 ± 0,77*.# | 2,70 ± 0,45*.#.^ |
| Sind-1 | 4,01 ± 0,53 | 4,33 ± 0,10 | 8,81 ± 0,43*.# | 5,77 ± 0,91*.#.^ |
| h | 1,59 ± 0,17 | 1,67 ± 0,25 | 4,03 ± 0,48*.# | 2,45 ± 0,19*.#.^ |
| Sind-2 | 3,02 ± 0,40 | 3,29 ± 0,33 | 7,90 ± 0,62*.# | 5,82 ± 0,84*.#.^ |
| H | 2,31 ± 0,43 | 2,44 ± 0,41 | 6,78 ± 0,33*.# | 4,87 ± 0,67*.#.^ |

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей:

* – интактной группы, # – контрольной группы, ^ – группы «цисплатин».

внутрибрюшинной инъекции цисплатина в дозе 7,5 мг/кг.

В группе животных «цисплатин + черника» все исследуемые ХЛ показатели хотя и сохраняли статистически значимые отличия от контрольной и интактной групп, но были достоверно ниже аналогичных показателей в группе животных «цисплатин». Так, интенсивность генерации активированных кислородных метаболитов (Ssp) в группе животных, у которых индуцированный цисплатином окислительный стресс был реализован на фоне экстракта плодов черники пазушной, была значимо меньше (на 36 %) по сравнению с группой «цисплатин». Внутрижелудочное системное введение водного экстракта плодов черники пазушной позволило также снизить в гомогенате тканей почек мышей содержание гидроперекисей липидов (h) на 40 % и уменьшить интенсивность накопления перекисных радикалов липидной природы (Sind-1) в 1,5 раза по сравнению с группой «цисплатин». Также биологически активные вещества плодов черники пазушной способствовали повышению перекисной резистентности биологического объекта: максимум свечения (H), обратно коррелирующий со способностью субстрата к перекисному окислению, в группе животных «цисплатин + черника» достоверно уменьшился на 28 % по сравнению с группой животных «цисплатин». На фоне приема экстракта плодов черники пазушной зафиксировано меньшее угнетение цисплатином защитных систем – Sind-2, значение которой обратно активности антиоксидантной и антирадикальной систем защиты биологического объекта, уменьшилась в группе животных «цисплатин + черника» на 26 % по отношению к группе «цисплатин».

Известно, что показателем выраженности окислительного стресса может являться антиоксидантная активность биологического объекта как интегральный параметр, отражающий редокс-статус организма в целом или его отдельной системы. В связи с этим полученные результаты позволяют сделать вывод, что биологически активные вещества черники пазушной явились регуляторами процессов, протекающих с участием свободных радикалов. Результат этой регуляции, как свидетельствуют проведенные исследования, проявился в уменьшении последствий окислительного стресса.

Установленная антиоксидантная активность плодов черники пазушной (*Vaccinium axillare* Nakai) объясняется высоким содержанием в растении полифенольных соединений, которые способны непосредственно взаимодействовать с супероксидными и гидроксильными радикалами, образуя феноксильный радикал, который

далее стабилизируется путем делокализации неспаренных электронов вокруг ароматического кольца. Ингибированию свободнорадикальных процессов способствуют также и хелатирующие свойства этой группы веществ – фенолы образуют хелатные комплексы с металлами переменной валентности, исключая эти катализаторы из реакций свободнорадикального окисления [9, 20, 21]. Представленные механизмы останавливают радикальные цепные реакции и приводят к значительно меньшему истощению антиоксидантного внутриклеточного потенциала, что проявляется в повышении активности антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, глутатион-S-трансфераза, глутатионпероксидаза и др. [22].

Заключение

Таким образом, результаты исследования *in vivo* показали, что экстракт плодов черники пазушной (*Vaccinium axillare* Nakai) ингибирует свободнорадикальные процессы, что приводит к уменьшению последствий окислительного стресса. Полученные результаты свидетельствуют, что исследуемый экстракт обладает выраженными антиоксидантными свойствами и может иметь значение в лечении и профилактике заболеваний, связанных с окислительным стрессом.

Список литературы

1. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008. 284 с.
2. Олефир Ю.В., Романов Б.К., Кукес В.Г., Сычев Д.А., Прокофьев А.Б., Парфенова О.К., Сидоров Н.Г., Александрова Т.В. Роль окислительного стресса в патогенезе социально значимых заболеваний человека и пути его медикаментозной коррекции. *Мед. вестн. Сев. Кавказа*. 2021;16(4):450–455. doi: 10.14300/mnnc.2021.16109
3. Luo J., Mills K., le Cessie S., Noordam R., Heemst D. Ageing, age-related diseases and oxidative stress: what to do next? *Ageing Res. Rev.* 2020;57:100982. doi: 10.1016/j.arr.2019.100982
4. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. COVID-19: окислительный стресс и актуальность антиоксидантной терапии. *Вестн. РАМН*. 2020;75(4):318–325. doi: 10.15690/vramn1360
5. Kasote D.M., Katyare S.S., Hegde M.V., Bae H. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *Int. J. Biol. Sci.* 2015;11(8):982–991. doi: 10.7150/ijbs.12096

6. Krishnaiah D., Sarbatly R., Nithyanandam R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod. Process.* 2011;89(3):217–233. doi: 10.1016/j.fbp.2010.04.008
7. Loi M., Paciolla C. Plant antioxidants for food safety and quality: exploring new trends of research. *Antioxidants.* 2021;10(6):972. doi: 10.3390/antiox10060972
8. Tundis R., Tenuta M.C., Loizzo M.R., Bonesi M., Finetti F., Trabalzini L., Deguin B. *Vaccinium species* (Ericaceae): from chemical composition to bio-functional activities. *Appl. Sci.* 2021;11(12):5655. doi: 10.3390/app11125655
9. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Кандалинцева Н.В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине: строение, свойства, механизмы действия. Saarbrücken, Germany: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. 492 с.
10. Макарова Н.В., Еремеева Н.Б. Сравнительное изучение влияния ультразвуковых воздействий на экстракцию антиоксидантных соединений ягод черники (*Vaccinium myrtillus* L.). *Химия растит. сырья.* 2020;(1):167–177. doi: 10.14258/jcrpm2020014425
11. Urbonaviciene D., Bobinaite R., Viskelis P., Bobinas C., Petruskevicius A., Klavins L., Viskelis J. Geographic variability of biologically active compounds, antioxidant activity and physico-chemical properties in wild Bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.). *Antioxidants.* 2022;11(3):588. doi: 10.3390/antiox11030588
12. Копанина А.В. Биология, экология и хозяйственное значение черники овальнолистной (*Vaccinium ovalifolium* Smith) на Сахалине: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2005.
13. Song G.-Q., Hancock J.F. *Vaccinium*. In: *Wild crop relatives: genomic and breeding resources, temperate fruits*. Ed. C. Kole. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2011; 197–221. doi: 10.1007/978-3-642-16057-8_10
14. Копотева Т.А., Великов А.В. Фитоценологические условия произрастания и урожайность плодов *Vaccinium axillare* (Ericaceae) на нижнем Амуре. *Раст. ресурсы.* 2011;47(2):57–65.
15. Степанова Т.А., Мечикова Г.Я., Морозова В.Е., Макарова Л.М., Погорелый В.Е. Применение побегов черники пазушной в качестве средства, проявляющего активизацию утилизации глюкозы мозгом при лечении сахарного диабета. Пат. РФ № 2418602; опубл. 20.05.2011.
16. Yoshizawa Y., Kawaii S., Urashima M., Fukase T., Sato T., Murofushi N., Nishimura H. Differentiation-inducing effects of small fruit juices on HL-60 leukemic cells. *J. Agric. Food Chem.* 2000;48(8):3177–3182. doi: 10.1021/jf9908650
17. Yoshizawa Y., Kawaii S., Urashima M., Fukase T., Sato T., Tanaka R., Murofushi N., Nishimura H. Antiproliferative effects of small fruit juices on several cancer cell lines. *Anticancer Res.* 2000;20(6B):4285–4289.
18. Fang C.Y., Lou D.Y., Zhou L.Q., Wang J.C., Yang B., He Q.J., Wang J.J., Weng Q.J. Natural products: potential treatments for cisplatin-induced nephrotoxicity. *Acta Pharmacol. Sin.* 2021;42(12):1951–1969. doi: 10.1038/s41401-021-00620-9
19. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Измайлов Д.Ю. Кинетическая хемилюминесценция как метод изучения реакций свободных радикалов. *Биофизика.* 2011;56(6):1081–1090.
20. Mechikova G.Ya., Stepanova T.A., Kalinovskiy A.I., Ponomarenko L.P., Stonik V.A. Flavonoids from *Vaccinium axillare* leaves. *Chemistry of Natural Compounds.* 2008;44(1):100–101. doi: 10.1007/s10600-008-0029-5
21. Zeb A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J. Food Biochem.* 2020;44(9):e13394. doi: 10.1111/jfbs.13394
22. Popović D., Đukić D., Katić V., Jović Z., Jović M., Lalić J., Golubović I., Stojanović S., Ulrih N.P., Stanković M., Sokolović D. Antioxidant and proapoptotic effects of anthocyanins from bilberry extract in rats exposed to hepatotoxic effects of carbon tetrachloride. *Life Sci.* 2016;157:168–177. doi:10.1016/j.lfs.2016.06.007

References

1. Menshchikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z., Bondar' I.A., Trufakin V.A. Oxidative stress: Pathological conditions and diseases. Novosibirsk: ARTA, 2008. 284 p.
2. Olefir Yu.V., Romanov B.K., Kukes V.G., Sychev D.A., Prokofiev A.B., Parfenova O.K., Sidorov N.G., Aleksandrova T.V. The role of oxidative stress in the pathogenesis of socially significant human diseases and ways of its drug correction. *Meditssinskiy vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of the North Caucasus.* 2021;16(4):450–455. [In Russian]. doi: 10.14300/mnnc.2021.16109
3. Luo J., Mills K., le Cessie S., Noordam R., Heemst D. Ageing, age-related diseases and oxidative stress: what to do next? *Ageing Res. Rev.* 2020;57:100982. doi: 10.1016/j.arr.2019.10098
4. Darenskaya M.A., Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I. COVID-19: Oxidative stress and the relevance of antioxidant therapy. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2020;75(4):318–325. [In Russian]. doi: 10.15690/vramn1360
5. Kasote D.M., Katyare S.S., Hegde M.V., Bae H. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *Int. J. Biol. Sci.* 2015;11(8):982–991. doi: 10.7150/ijbs.12096
6. Krishnaiah D., Sarbatly R., Nithyanandam R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant

species. *Food Bioprod. Process.* 2011;89(3):217–233. doi: 10.1016/j.fbp.2010.04.008

7. Loi M., Paciolla C. Plant antioxidants for food safety and quality: exploring new trends of research. *Antioxidants.* 2021;10(6):972. doi: 10.3390/antiox10060972

8. Tundis R., Tenuta M.C., Loizzo M.R., Bonesi M., Finetti F., Trabalzirini L., Deguin B. *Vaccinium species* (Ericaceae): from chemical composition to bio-functional activities. *Appl. Sci.* 2021;11(12):5655. doi: 10.3390/app11125655

9. Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Kandalintseva N.V. Phenolic antioxidants in biology and medicine: structure, properties, mechanisms of action. Saarbrücken, Germany: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. 492 p. [In Russian].

10. Makarova N.V., Yeremeyeva N.B. Comparative study of the influence of ultrasonic influences on the extraction of antioxidant compounds of blackberry berries (*Vaccinium myrtillus* L.). *Khimiya rastitel'noy syr'ya = Chemistry of Plant Raw Material.* 2020;(1):167–177. [In Russian]. doi: 10.14258/jcprm2020014425

11. Urbonaviciene D., Bobinaite R., Viskelis P., Bobinas C., Petruskevicius A., Klavins L., Viskelis J. Geographic variability of biologically active compounds, antioxidant activity and physico-chemical properties in wild Bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.). *Antioxidants.* 2022;11(3):588. doi: 10.3390/antiox11030588

12. Kopanina A.V. Biology, ecology and economic importance of *Vaccinium ovalifolium* Smith on Sakhalin: abstract of thesis... cand. biol. sciences. Vladivostok, 2005. [In Russian].

13. Song G.Q., Hancock J.F. *Vaccinium*. In: *Wild crop relatives: genomic and breeding resources, temperate fruits*. Ed. C. Kole. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2011. P. 197–221. doi: 10.1007/978-3-642-16057-8_10

14. Kopoteva T.A., Velikov A.V. Phytocenotic growing conditions and fruit yield of *Vaccinium axillare* (Ericaceae) in the Lower Amur River. *Rastitel'nyye resursy = Plant Resources.* 2011;47(2):57–65. [In Russian].

15. Stepanova T.A., Mechikova G.Ya., Morozova V.E., Makarova L.M., Pogorelyj V.E. Application of *Vaccinium axillare* Nakai shoots as medication, demonstrating activation of glucose utilization by brain in treatment of diabetes mellitus. Patent RF N 2418602; published 20.05.2011. [In Russian].

16. Yoshizawa Y., Kawaii S., Urashima M., Fukase T., Sato T., Murofushi N., Nishimura H. Differentiation-inducing effects of small fruit juices on HL-60 leukemic cells. *J. Agric. Food Chem.* 2000;48(8):3177–3182. doi: 10.1021/jf9908650

17. Yoshizawa Y., Kawaii S., Urashima M., Fukase T., Sato T., Tanaka R., Murofushi N., Nishimura H. Antiproliferative effects of small fruit juices on several cancer cell lines. *Anticancer Res.* 2000;20(6B):4285–4289.

18. Fang C.Y., Lou D.Y., Zhou L.Q., Wang J.C., Yang B., He Q.J., Wang J.J., Weng Q.J. Natural products: potential treatments for cisplatin-induced nephrotoxicity. *Acta Pharmacol. Sin.* 2021;42(12):1951–1969. doi: 10.1038/s41401-021-00620-9

19. Vladimirov Yu.A., Proskurnina E.V., Izmaylov D.Yu. Kinetic chemiluminescence as a method for study of free radical reactions. *Biofizika = Biophysics.* 2011;56(6):1055–1062. [In Russian].

20. Mechikova G.Ya., Stepanova T.A., Kalinovskiy A.I., Ponomarenko L.P., Stonik V.A. Flavonoids from *Vaccinium axillare* leaves. *Chemistry of Natural Compounds.* 2008;44(1):100–101. doi: 10.1007/s10600-008-0029-5

21. Zeb A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J. Food Biochem.* 2020;44(9):e13394. doi: 10.1111/jfbs.13394

22. Popović D., Đukić D., Katić V., Jović Z., Jović M., Lalić J., Golubović I., Stojanović S., Ulrih N.P., Stanković M., Sokolović D. Antioxidant and proapoptotic effects of anthocyanins from bilberry extract in rats exposed to hepatotoxic effects of carbon tetrachloride. *Life Sci.* 2016;157:168–177. doi:10.1016/j.lfs.2016.06.007

Сведения об авторах:

Галина Ярославовна Мечикова, к.фарм.н., ORCID: 0000-0001-7136-0626, e-mail: galina.m.ya@mail.ru

Марина Юрьевна Флейшман, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9337-2801, e-mail: marfl@yandex.ru

Ольга Антоновна Лебедько, д.м.н., ORCID: 0000-0002-8855-7422, e-mail: leoaf@mail.ru

Information about the authors:

Galina Ya. Mechikova, candidate of pharmaceutical sciences, ORCID: 0000-0001-7136-0626, e-mail: galina.m.ya@mail.ru

Marina Yu. Fleishman, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9337-2801, e-mail: marfl@yandex.ru

Olga A. Lebed'ko, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8855-7422, e-mail: leoaf@mail.ru

Поступила в редакцию 18.08.2022

Принята к публикации 06.09.2022

Received 18.08.2022

Accepted 06.09.2022

Токсичность нового монофенольного синтетического индуктора редокс-чувствительной сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE *in vitro* и *in vivo*

М.В. Храпова¹, С.Е. Храпов¹, А.В. Чечушков¹, П.М. Кожин¹, Л.П. Ромах¹, А.Е. Серых¹, С.В. Хольшин², Н.В. Кандалинцева², Е.Б. Меньщикова¹

¹ ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский государственный педагогический университет

630126, г. Новосибирск, ул. Виллюйская, 28

Резюме

Одним из перспективных направлений современной фармакологии является разработка «непрямых антиоксидантов», способных активировать редокс-чувствительные сигнальные системы, прежде всего систему Keap1/Nrf2/ARE. К числу ее химических индукторов относится разрабатываемый нами гидрофильный монозамещенный монофенол (3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия (ТС-13). Целью настоящего исследования послужило изучение антипролиферативной активности ТС-13 в отношении опухолевых клеток линии ВТ-474 *in vitro* и острой пероральной токсичности для мышей *in vivo*. **Материал и методы.** Определяли зависимость между концентрацией ТС-13 и пролиферативной активностью клеток линии протоковой карциномы молочной железы человека ВТ-474 в МТТ-тесте с вычислением IC_{50} , сравнивали с полученными ранее значениями для линии MCF-7 и сопоставляли с функциональными свойствами клеток на основе уровня экспрессии генов (*in silico* анализ GSEA). Острую токсичность *in vivo* исследовали на 50 самках мышей линии С57В1/6у, которым *per os* с помощью внутрижелудочного зонда вводили раствор ТС-13 в дистиллированной воде в разных дозах. Сравнивали полученную экспериментально LD_{50} и предсказанную *in silico* с помощью веб-сервиса GUSAR. **Результаты и их обсуждение.** Величина IC_{50} ТС-13 для клеток линии ВТ-474, вычисленная из уравнения экспоненциальной аппроксимации, составила 59,5 мкМ – в 2,2 раза меньше, чем полученная ранее для клеток MCF-7. Возможно, это обусловлено функциональными различиями линий ВТ-474 и MCF-7, о чем свидетельствуют результаты анализа GSEA. Установленная в эксперименте *in vivo* величина LD_{50} составила 936 мг/кг массы тела мышей, полученное значение удовлетворительно соответствует предсказанной *in silico* (561 мг/кг), хотя в действительности соединение оказалось несколько менее токсичным, чем можно было ожидать исходя из его структуры. **Заключение.** Исследование острой токсичности нового водорастворимого монофенола ТС-13 позволяет отнести его к 4-му классу опасности по шкале Ходжа – Стернера (слаботоксичные соединения) или к 3-му классу опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 (вещества умеренно опасные).

Ключевые слова: острая токсичность, пролиферативная активность, LD_{50} , IC_{50} , ТС-13, мыши, линия ВТ-474, сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Современные оптические системы» и «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

Автор для переписки: Меньщикова Е.Б., e-mail: lemen@centercem.ru

Для цитирования: Храпова М.В., Храпов С.Е., Чечушков А.В., Кожин П.М., Ромах Л.П., Серых А.Е., Хольшин С.В., Кандалинцева Н.В., Меньщикова Е.Б. Токсичность нового монофенольного синтетического индуктора редокс-чувствительной сигнальной системы Keap1/Nrf2/ARE *in vitro* и *in vivo*. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022;42(5):11–18. doi: 10.18699/SSMJ20220502

Toxicity of new monophenolic synthetic activator of Keap1/Nrf2/ARE redox-sensitive signaling system *in vitro* and *in vivo*

M.V. Khrapova¹, S.E. Khrapov¹, A.V. Chechushkov¹, P.M. Kozhin¹, L.P. Romakh¹,
A.E. Serykh¹, S.V. Kholshin², N.V. Kandalintseva², E.B. Menshchikova¹

¹ Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

² Novosibirsk State Pedagogical University
630126, Novosibirsk, Vilyuiskaya str., 28

Abstract

One of the promising areas of modern pharmacology is the development of «indirect antioxidants» capable of activating redox-sensitive signaling systems, primarily the Keap1/Nrf2/ARE system. Among its chemical inductors is the hydrophilic monosubstituted monophenol (3'-*tert*-butyl-4'-hydroxyphenyl)sodium propylthiosulfonate (TS-13) in development. The aim of the study was to investigate TS-13 antiproliferative activity against tumor cell line BT-474 *in vitro* and acute oral toxicity in mice *in vivo*. **Material and methods.** The relationship between TS-13 concentration and proliferative activity of human breast ductal carcinoma cell line BT-474 was determined using the MTT test, the IC₅₀ was calculated and compared to the previously obtained for MCF-7 line; results were correlated with the functional properties of cells based on gene expression (in silico GSEA). *In vivo* acute toxicity was studied in 50 female C57Bl/6J mice, who received a TS-13 solution in distilled water at various doses by intragastric gavage. LD₅₀ obtained experimentally and predicted in silico using the GUSAR web service were compared. **Results and discussion.** TS-13 inhibited the proliferation of BT-474 cells in a concentration-dependent manner (exponential approximation, IC₅₀ = 59.5 μM) and was 2.2 times more toxic than for MCF-7 cells. This may be due to functional differences between the BT-474 and MCF-7 lines, as evidenced by the GSEA results. The LD₅₀ value established in the *in vivo* experiment was 936 mg/kg body weight, the obtained value satisfactorily corresponds to the predicted *in silico* (561 mg/kg), although in reality the compound turned out to be somewhat less toxic than could be expected based on its structure. **Conclusions.** A study of the acute toxicity of the new water-soluble monophenol TC-13 allows the classification of it as slightly toxic (toxicity rating level 4) according to the Hodge – Sterner scale) or as moderately hazardous (hazard class 3) according to GOST 12.1.007-76.

Key words: acute toxicity, proliferative activity, LD₅₀, IC₅₀, TS-13, mice, BT-474 line, Keap1/Nrf2/ARE signaling system.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The work was performed using the equipment of the Center for Collective Use «Modern Optical Systems» and «Proteomic Analysis», supported by funding from the Russian Ministry of Education and Science (agreement No. 075-15-2021-691).

Correspondence author: Menshchikova E.B., e-mail: lemen@centercem.ru

Citation: Khrapova M.V., Khrapov S.E., Chechushkov A.V., Kozhin P.M., Romakh L.P., Serykh A.E., Kholshin S.V., Kandalintseva N.V., Menshchikova E.B. Toxicity of new monophenolic synthetic activator of Keap1/Nrf2/ARE redox-sensitive signaling system *in vitro* and *in vivo*. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):11–18. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220502

Введение

Окислительный стресс выступает в качестве этиопатогенетического звена практически всех заболеваний и патологических состояний [1]. В то же время сложилась на первый взгляд парадоксальная ситуация: соединения с непосредственной антиоксидантной/антирадикальной активностью («прямые антиоксиданты») имеют достаточно ограниченную область применения в клинике [2]. Главным образом это обусловлено отсутствием специфичности их действия, а так-

же, в силу необходимости эффективной стратегии защиты, наличием многоуровневой антиоксидантной системы – эшелонированной обороны от возможного повреждающего действия постоянно образующихся в организме высокореакционных активных форм кислорода, азота и хлора (активированных кислородных метаболитов, АКМ).

Кроме того, для свободнорадикальных окислительных процессов чрезвычайно характерен феномен гормезиса – как недостаток, так и избыток и АКМ, и антиоксидантов может сопрово-

ждаться разнонаправленными биологическими проявлениями; как правило, оптимальной является некая условная «зона Златовласки» [3]. В особенности неоднозначный эффект можно получить при попытке назначения редокс-активных препаратов при опухолевых процессах. Так, если на начальной стадии антиоксиданты тормозят опухолевую трансформацию клеток, то на более поздней стадии могут провоцировать метастазирование и развитие химиорезистентности опухолевых клеток [4].

В этой связи одним из перспективных направлений современной фармакологии является разработка «непрямых антиоксидантов», для которых на первый план выступает не непосредственное влияние на редокс-баланс, а способность активировать или ингибировать редокс-чувствительные сигнальные системы [5–7]. В первую очередь это относится к системе антиоксидант-респонс(ив)ного элемента Keap1/Nrf2/ARE – главного регулятора, изменения состояния которого как прямо, так и косвенно влияют на сигнальные и метаболические пути организма [4, 8, 9]. Среди химических индукторов системы Keap1/Nrf2/ARE многочисленную группу составляют фенолы природного и синтетического происхождения, к их числу относится синтезированный нами гидрофильный монозамещенный монофенол (3'-*трет*-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия (ТС-13). Способность ТС-13 активировать систему Keap1/Nrf2/ARE показана в многочисленных исследованиях *in vitro* и *in vivo*, установлена его антипролиферативная активность в отношении ряда линий опухолевых клеток, показана перспективность применения при злокачественных новообразованиях [10–12]. В то же время нельзя забывать, что индукция сигнального пути Nrf2/Keap1/ARE может оказывать как анти-, так и проканцерогенный эффект, как повышать, так и ингибировать пролиферацию опухолевых клеток, что во многом обуславливает неопределенность и неоднозначность действия его экзогенных регуляторов.

Целью настоящего исследования послужило изучение антипролиферативной активности ТС-13 в отношении опухолевых клеток линии BT-474 *in vitro* и острой пероральной токсичности для мышей *in vivo*.

Материал и методы

Оригинальный монофенол ТС-13 синтезирован из 2,6-ди-*трет*-бутилфенола по последовательности превращений, описанной ранее [12, 13],

его строение подтверждали данными элементного анализа, ЯМР-, ИК- и УФ-спектроскопии.

В работе использовали линию клеток протоковой карциномы молочной железы человека BT-474, которые культивировали в среде RPMI-1640, содержащей 10 % FBS, 1 % пенициллина, 1 % стрептомицина, 1 % глутамина. ТС-13 вводили в среду культивирования в концентрациях от 0 до 150 мкМ, через 72 ч определяли жизнеспособность клеток по их способности восстанавливать бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ, Sigma-Aldrich, США) до гранул формазана супероксидным анион-радикалом, образующимся в дыхательной цепи митохондрий (МТТ-тест) [14].

С целью выявления функциональных свойств клеток на основе уровня экспрессии групп генов, относящихся к определенным функциональным категориям, и сравнения их метаболических и молекулярных характеристик выполнен анализ обогащения по функциональной принадлежности (gene set enrichment analysis, GSEA). Для этого из базы данных Expression Atlas [15] извлекали данные об уровне экспрессии генов клеток линий MCF-7 и BT-474, полученные сведения загружали в онлайн-программу PANTHER classification system версии 14.1 (<http://pantherdb.org/about.jsp>) и анализировали насыщенность генов определенных категорий. Проводили несколько подходов с разделением генов по категориям «GO molecular function complete» и «GO biological process complete», таким образом, гены группировались либо по принципам молекулярных взаимодействий, либо по функциональным принципам. При выполнении анализа GSEA из всего функционального диапазона выбраны функции, имеющие отношение к окислительному фосфорилированию, реакциям на окислительный стресс и гипоксию, метаболизм органических соединений. Результаты анализа GSEA представлены только для значений $p < 0,0001$.

Острую токсичность *in vivo* исследовали на 50 самках мышей линии C57Bl/6J в возрасте двух месяцев с массой тела 21–23 г, полученных из питомника лабораторных животных Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора. Мышей содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для научных целей (Страсбург, 1986), в условиях лабораторного вивария в клетках по 5 особей в каждой, при свободном доступе к воде и нормальном световом режиме. Раствор ТС-13 в дистиллированной воде вводили *per os* с помощью внутрижелудочного зонда в

трех дозах – 1600, 1000 и 800 мг/кг массы тела, по 0,2 мл на мышь.

Для прогноза острой токсичности *in silico* использовали программу Т.Е.С.Т., версия 5.1.1 (<https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-estimation-software-tool-test>), веб-сервисы ProTox-II (https://tox-new.charite.de/prottox_II/) [16] и GUSAR (<http://www.way2drug.com/gusar/acuttox-predict.html>) [17].

Результаты изучения влияния ТС-13 на жизнеспособность клеток ВТ-474 представлены в долях от единицы (за единицу принимали среднее значение оптической плотности ($OD_{540-620}$)) контрольных клеток; для полученных данных выполняли приближение с помощью кривых, из уравнения аппроксимации рассчитывали IC_{50} . Для определения достоверности различий между кривыми выживаемости мышей, построенными по методу Каплана – Майера, применяли логранговый тест, LD_{50} определяли с помощью аппарата программы GraphPadPrism. При выполнении сравнительного анализа острой токсичности некоторых известных простых фенольных соединений, сходных по структуре с ТС-13, их прогнозируемую LD_{50} определяли с помощью описанного выше веб-сервиса GUSAR, установленную экспериментально получали из информационной системы ChemIDplus (<https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/>).

Результаты и их обсуждение

Зависимость между концентрацией ТС-13 в культуральной среде и пролиферативной активностью клеток линии ВТ-474 представлена на рис. 1. Величина IC_{50} , вычисленная из уравнения аппроксимации

$$y = y_0 + A_1 \times e^{-x/t_1},$$

где $y = 0,5$; $y_0 = 0,07817$; $A_1 = 0,88705$; $x = IC_{50}$; $t_1 = 80,09847$, составила 59,5 мкМ. Таким образом, в отношении клеток ВТ-474 ТС-13 оказался в 2,2 раза токсичнее, чем для клеток другой линии протоковой карциномы молочной железы человека MCF-7 [12]. Возможно, это обусловлено функциональными различиями линий ВТ-474 и MCF-7 (рис. 2). В целом клетки MCF-7 характеризуются большей представленностью генов, вовлеченных в функции митохондрий, ответ на гипоксию, циклические органические соединения, окислительный стресс. В то же время некоторые функциональные свойства характерны только для клеток линии ВТ-474: получение энергии окислением органических соединений, катаболизм субстанций (в целом).

Для прогноза острой токсичности *in silico* использовали программу и веб-сервисы ProTox-II

и GUSAR. Программа Т.Е.С.Т. в нашем случае оказалась неприменимой – она не только не оперирует соединениями, содержащими натрий, но и при замене атома натрия на водород не позволяет сделать надежное консенсусное предсказание величины LD_{50} для крыс. При использовании веб-сервиса ProTox-II полученное значение составило 675 мг/кг, однако на него сложно ориентироваться, так как нет конкретизации, для мышей или для крыс оно рассчитано (в целом «для грызунов»). Оптимальным оказался веб-сервис GUSAR, установленная с его помощью величина LD_{50} для крыс при назначении *per os* составила 1112 мг/кг с пометкой «соединение попадает в область применимости моделей», при пересчете в эквивалент дозы для мышей согласно [18] – 561 мг/кг. В целом данный сервис позволяет достаточно точно предсказать величину показателя: коэффициент корреляции Спирмена между прогнозируемым и экспериментально полученным значением LD_{50} некоторых простых фенольных соединений для крыс составил 0,9429 ($p = 0,0048$) (рис. 3, а), для мышей – 0,8571 ($p = 0,0137$) (рис. 3, б) (прогнозируемое значение для мышей вычислено согласно [18]). Величина LD_{50} ТС-13, полученная при проведении настоящего исследования, удовлетворительно соответствует предсказанной, хотя в действительности соединение оказалось несколько менее токсичным, чем можно было ожидать исходя из его структуры.

Кривые выживаемости мышей при однократном введении *per os* ТС-13 и зависимость между временем выживания и концентрацией раствора

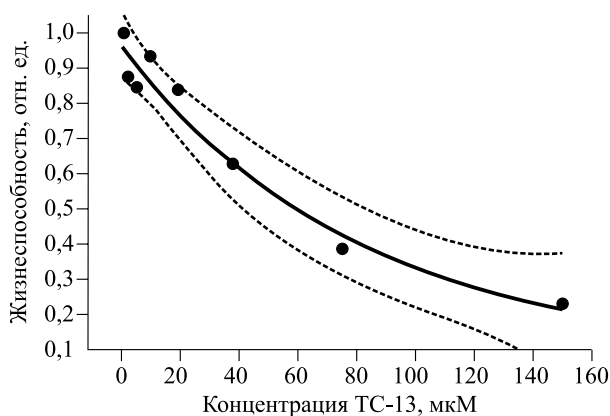


Рис. 1. Влияние ТС-13 на жизнеспособность клеток линии ВТ-474 (экспоненциальная аппроксимация, $R^2 = 0,96$, приближение достигнуто). Сплошная линия – аппроксимация, пунктирные линии – 95%-й доверительный интервал

Fig. 1. Effect of TS-13 on BT-474 cell viability (exponential approximation, $R^2 = 0.96$, fit status: succeeded). Solid lines – approximation, dotted lines – 95% confidence interval

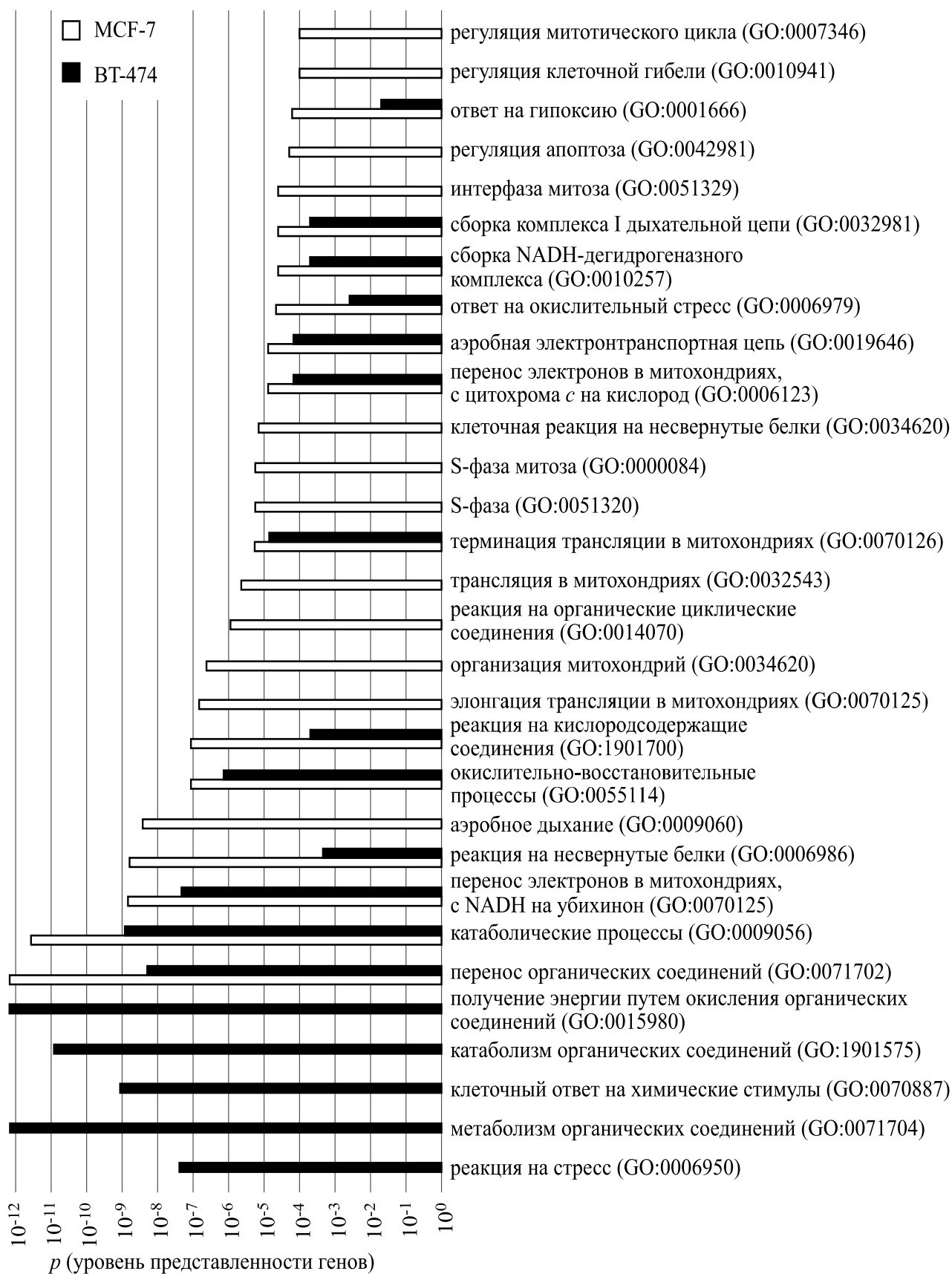


Рис. 2. Результаты анализа представленности функциональных групп генов в клетках MCF-7 и BT-474
Fig. 2. Results of analysis of gene functional group representation in MCF-7 and BT-474 cells

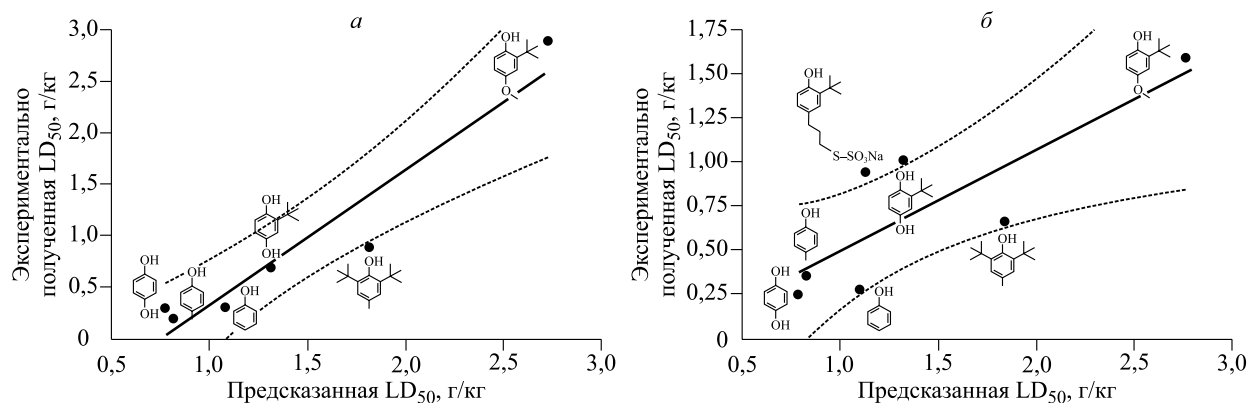


Рис. 3. Линейная зависимость между полученными экспериментально (*ChemIDplus*) и предсказанными *in silico* (*GUSAR*) величинами LD₅₀ простых фенольных соединений для крыс (а) и мышей (б). Сплошные линии – аппроксимация, пунктирные линии – 95%-й доверительный интервал

Fig. 3. Linear relationship between experimentally obtained (*ChemIDplus*) and predicted *in silico* (*GUSAR*) LD₅₀ values of simple phenolic compounds for rats (a) and mice (б). Solid lines – approximation, dotted lines – 95 % confidence interval

представлены на рис. 4. Вычисленная с помощью инструмента «Inhibitor vs. response» (GraphPad Prism 8.0.1) LD₅₀ составила 936 мг/кг массы тела, что позволяет отнести ТС-13 к 4-му классу опасности (слаботоксичные соединения) по классификации Организации экономического сотрудничества и развития (шкала Ходжа – Стернера) или к 3-му классу опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности». Установленная нами ра-

нее LD₅₀ при внутрибрюшинном введении ТС-13 мышам равняется 450 мг/кг массы тела, т.е. в 2,2 раза меньше полученной в настоящем исследовании. Действительно, известно, что, как правило, при парентеральном способе введения соединения более токсичны, чем при пероральном.

Клиническая картина острой интоксикации развивалась в течение 1–3 часов после введения больших доз ТС-13. У животных отмечались адинамия и нарушение походки, затрудненное и учащенное дыхание, снижение аппетита. В даль-

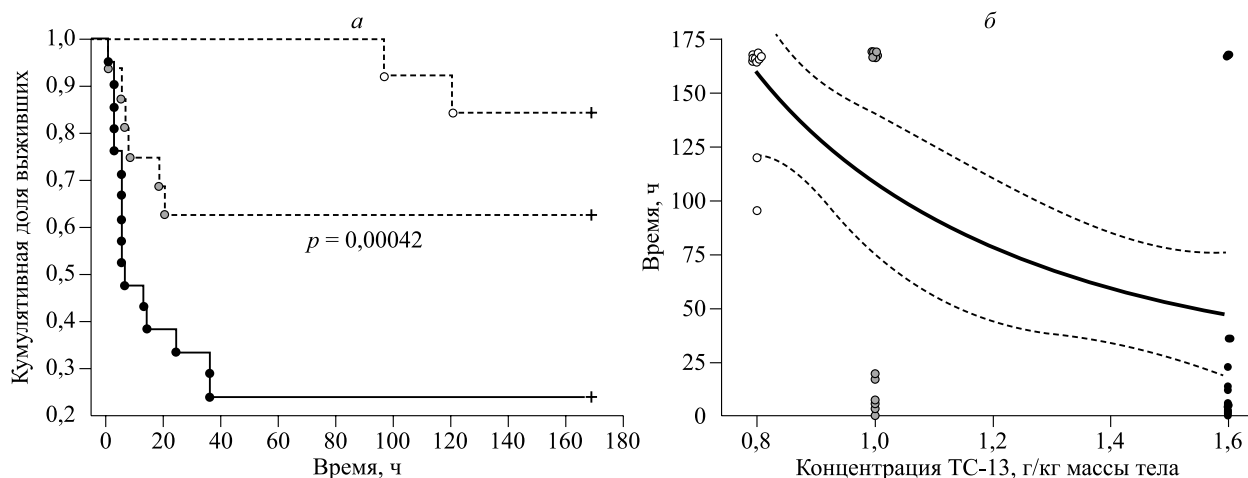


Рис. 4. Кривые выживаемости мышей *C57Bl/6J* после однократного внутрижелудочного введения раствора ТС-13 в концентрациях 1,6 (черные кружки), 1,0 (серые кружки) и 0,8 г/кг массы тела (белые кружки) (а) и зависимость между временем выживания и концентрацией раствора (б; сплошная линии – аппроксимация, пунктирные линии – 95%-й доверительный интервал; экспоненциальная аппроксимация, $R^2 = 0,34$, приближение достигнуто)

Fig. 4. Survival curves of *C57Bl/6J* mice after a single intragastric injection of TS-13 solution at concentrations of 1.6 (black circles), 1.0 (gray circles) and 0.8 g/kg body weight (white circles) (a) and the relationship between survival time and solution concentration (б; solid lines – approximation, dotted lines – 95 % confidence interval; exponential approximation, $R^2 = 0.34$, fit status: succeeded)

нейшем – полная неподвижность (лежа на боку), тремор, глаза полуприкрыты. На вскрытии: как правило, тонкий кишечник содержит свернувшуюся кровь или вздут, желудок вздут (обилие газов), кровоизлияние в легких, бронхи содержат кровь.

Заключение

Исследование острой токсичности нового водорастворимого монофенола ТС-13 при пероральном введении самкам мышей C57Bl/6J позволило установить, что его LD₅₀ составляет 936 мг/кг массы тела, что позволяет отнести ТС-13 к 4-му классу опасности по классификации Организации экономического сотрудничества или к 3-му классу опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 (вещества умеренно опасные). Полученное экспериментальное значение хорошо согласуется с прогнозируемым *in silico* на основании структуры соединения. Неблагоприятные последствия при воздействии ТС-13 в больших концентрациях на организм мышей носят общетоксический характер. При изучении цитотоксичности ТС-13 *in vitro* в отношении опухолевых клеток линии BT-474 величина IC₅₀ составила 59,5 мкМ. В то же время для адекватного вывода о противоопухолевой активности ТС-13 на основании экспериментов *in vitro* необходимо проведение дополнительных исследований по определению опухолевой специфичности соединения (соотношения 50%-й цитотоксической концентрации для нормальных и опухолевых клеток).

Список литературы / References

1. Najam Y.A., Rani R., Ganie S.Y., Sheikh T.A., Javaid D., Qadri S.S., Pramodh S., Alsulimani A., Alkhanani M.F., Harakeh S., Hussain A., Haque S., Reshi M.S. Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives. *Cells*. 2022;11(3):552. doi: 10.3390/cells11030552
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2012. 1216 с.
Mashkovsky M.D. Medicines. Moscow: Novaya volna, 2012. 1216 p.
3. Zhou G., Meng S., Li Y., Ghebre Y.T., Cooke J.P. Optimal ROS signaling is critical for nuclear reprogramming. *Cell Rep*. 2016;15(5):919–925. doi: 10.1016/j.celrep.2016.03.084
4. Cuadrado A., Rojo A.I., Wells G., Hayes J.D., Cousin S.P., Rumsey W.L., Attucks O.C., Franklin S., Levonen A.L., Kensler T.W., Dinkova-Kostova A.T. Therapeutic targeting of the NRF2 and KEAP1 partnership in chronic diseases. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2019;18(4):295–317. doi: 10.1038/s41573-018-0008-x
5. Blaner W.S., Shmarakov I.O., Traber M.G. Vitamin A and vitamin E: Will the real antioxidant please

stand up? *Annu. Rev. Nutr.* 2021;41:105–131. doi: 10.1146/annurev-nutr-082018-124228

6. Speisky H., Shahidi F., Costa de Camargo A., Fuentes J. Revisiting the oxidation of flavonoids: Loss, conservation or enhancement of their antioxidant properties. *Antioxidants*. 2022;11(1):133. doi: 10.3390/antiox11010133

7. Diaz M., Mesa-Herrera F., Marin R. DHA and its elaborated modulation of antioxidant defenses of the brain: Implications in aging and AD neurodegeneration. *Antioxidants*. 2021;10(6):907. doi: 10.3390/antiox10060907

8. Matsumaru D., Motohashi H. The KEAP1-NRF2 system in healthy aging and longevity. *Antioxidants*. 2021;10(12):1929. doi: 10.3390/antiox10121929

9. Zenkov N.K., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Martinovich G.G., Kandalintseva N.V., Menshchikova E.B. Mazes of Nrf2 regulation. *Biochemistry (Moscow)*. 2017;82(5):556–564. doi: 10.1134/s0006297917050030

10. Menshchikova E., Tkachev V., Lemza A., Sharkova T., Kandalintseva N., Vavilin V., Safronova O., Zenkov N. Water-soluble phenol TS-13 combats acute but not chronic inflammation. *Inflamm. Res*. 2014;63(9):729–740. doi: 10.1007/s00011-014-0746-0

11. Menshchikova E.B., Chechushkov A.V., Kozhin P.M., Kholshin S.V., Kandalintseva N.V., Martinovich G.G., Zenkov N.K. Activation of autophagy and Nrf2 signaling in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells by novel monophenolic antioxidants. *Cell Tissue Biol*. 2019;13(2):85–92. doi: 10.1134/S1990519X1902007X

12. Гайнутдинов П.И., Кожин П.М., Чечушков А.В., Мартинович Г.Г., Хольшин С.В., Кандалицева Н.В., Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Обратная зависимость между антиоксидантной активностью синтетических монофенолов структурно взаимосвязанного ряда и их токсичностью в отношении опухолевых клеток. *Сиб. науч. мед. журн.* 2018;38(1):22–31. doi: 10.15372/SSMJ20180104

- Gaynutdinov P.I., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Martinovich G.G., Kholshin S.V., Kandalintseva N.V., Zenkov N.K., Menshchikova E.B. Inverse relationship between the antioxidant activity of structurally related synthetic monophenols and their toxicity in tumor cells. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2018;38(1):22–31. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20180104

13. Oleynik A.S., Kuprina T.S., Pevneva N.Y., Markov A.F., Kandalintseva N.V., Prosenko A.E., Grigoriev I.A. Synthesis and antioxidant properties of sodium S-[3-(hydroxyaryl)propyl] thiosulfates and [3-(hydroxyaryl)propane]-1-sulfonates. *Russian Chemical Bulletin*. 2007;58(6):1135–1143. doi: 10.1007/s11172-007-0172-3

14. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and

cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*. 1983;65(1-2):55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4

15. Fonseca N.A., Marioni J., Brazma A. RNA-Seq gene profiling – a systematic empirical comparison. *PLoS One*. 2014;9(9):e107026. doi: 10.1371/journal.pone.0107026

16. Banerjee P., Eckert A.O., Schrey A.K., Preissner R. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(W1):W257–W263. doi: 10.1093/nar/gky318

17. Сухачев В.С., Иванов С.М., Филимонов Д.А., Порошков В.В. Альтернативные методы исследования. Компьютерная оценка острой

токсичности для грызунов. *Лаб. живот. для науч. исслед.* 2019;(4):4. doi: 10.29296/2618723X-2019-04-04

Sukhachev V.S., Ivanov S.M., Filimonov D.A., Poroikov V.V. Alternative methods of studies. Computer-aided estimation of rodents acute toxicity. *Laboratornyye zhivotnyye dlya nauchnykh issledovaniy = Laboratory Animals for Science*. 2019;(4):4. doi: 10.29296/2618723X-2019-04-04

18. Nair A.B., Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J. Basic. Clin. Pharm.* 2016;7(2):27–31. doi: 10.4103/0976-0105.177703

Сведения об авторах:

Марина Валерьевна Храпова, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3397-8067, e-mail: khrapova@centercem.ru

Семён Евгеньевич Храпов, e-mail: semen.hrapov@gmail.com

Антон Владимирович Чечушков, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com

Пётр Михайлович Кожин, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com

Лидия Петровна Ромах, e-mail: lpromakh@centercem.ru

Анастасия Евгеньевна Серых, ORCID: 0000-0002-5817-6055, e-mail: rasiel1996@yandex.ru

Сергей Викторович Хольшин, ORCID: 0000-0001-6343-0460, e-mail: s.kholshin@gmail.com

Наталья Валерьевна Кандалинцева, д.х.н., ORCID: 0000-0001-6022-934X, e-mail: aquaphenol@ngs.ru

Елена Брониславовна Меньщикова, д.м.н., ORCID: 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen@centercem.ru

Information about the authors:

Marina V. Khrapova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3397-8067, e-mail: khrapova@centercem.ru

Semen E. Khrapov, e-mail: semen.hrapov@gmail.com

Anton V. Chechushkov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com

Peter M. Kozhin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com

Lidia P. Romakh, e-mail: lpromakh@centercem.ru

Anastasia E. Serykh, ORCID: 0000-0002-5817-6055, e-mail: rasiel1996@yandex.ru

Sergey V. Kholshin, ORCID: 0000-0001-6343-0460, e-mail: s.kholshin@gmail.com

Natalya V. Kandalintseva, doctor of chemical sciences, ORCID: 0000-0001-6022-934X, e-mail: aquaphenol@ngs.ru

Elena B. Menshchikova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen@centercem.ru

Поступила в редакцию 03.08.2022

Принята к публикации 15.09.2022

Received 03.08.2022

Accepted 15.09.2022

Влияние серебросодержащего сорбента на эритроциты при гемосорбции: исследование *in vitro*

Л.Н. Рачковская¹, А.А. Смагин¹, В.В. Нимаев¹, А.Ю. Демура¹, Э.Э. Рачковский¹,
Е.С. Ястребова², В.П. Мальцев², М.А. Королев¹, А.Ю. Летагин¹

¹НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

²Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН
630090, г. Новосибирск, ул. Институтская, 3

Резюме

Цель исследования – изучить влияние оригинального пористого серебросодержащего сорбента на морфофункциональные параметры эритроцитов при гемоперфузии *in vitro*. **Материал и методы.** Через стеклянные колонки, заполненные сорбентом на основе пористого оксида алюминия, полидиметилсилоксана и нанокластерного серебра и сорбентом без серебра, перфузировали донорскую кровь. Методом сканирующей проточной цитометрии определяли влияние серебросодержащего сорбента на изменение морфофункциональных параметров эритроцитов после перфузии через сорбенты. **Результаты и их обсуждение.** Ввиду равномерности распределения серебра (0,1 %) по гранулам сорбента параметры пористой структуры – величина удельной поверхности и объем пор – практически не изменяются по сравнению с сорбентом без серебра. Морфологические показатели эритроцитов в исходной донорской крови и после гемоперфузии находятся в пределах нормы. Функциональные параметры также находятся в норме, хотя введение в состав сорбента серебра несколько увеличивает количество активных белков полосы 3 (B3) на мембранах эритроцитов, как по сравнению с исходной донорской кровью, так и по сравнению с сорбентом без серебра. Также возрастает предельная растяжимость мембраны эритроцитов по сравнению с исходной кровью (в 2,2 раза) и сорбентом без серебра (в 1,4 раза). **Заключение.** Сорбент, модифицированный серебром, и сорбент без серебра не оказывают повреждающего токсического воздействия на морфофункциональные параметры эритроцитов в условиях перфузии. Механизмы действия, влияющие на показатели предельной растяжимости мембраны эритроцитов после перфузии крови через серебросодержащий сорбент, требуют дальнейших исследований.

Ключевые слова: сорбент, серебро, оксид алюминия, полидиметилсилоксан, эритроциты, безопасность, проточная цитометрия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Исследование проведено в рамках выполнения Государственного задания по теме FWNR-2022-0009.

Автор для переписки: Рачковская Л.Н., e-mail: noolit@niikel.ru

Для цитирования: Рачковская Л.Н., Смагин А.А., Нимаев В.В., Демура А.Ю., Рачковский Э.Э., Ястребова Е.С., Мальцев В.П., Королев М.А., Летагин А.Ю. Влияние серебросодержащего сорбента на эритроциты при гемосорбции: исследование *in vitro*. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(5):19–24. doi: 10.18699/SSMJ20220503

The effect of silver-containing sorbent on red blood cells during hemosorption: an *in vitro* study

L.N. Rachkovskaya¹, A.A. Smagin¹, V.V. Nimaev¹, A.Yu. Demura¹, E.E. Rachkovsky¹,
E.S. Yastrebova², V.P. Maltsev², M.A. Korolev¹, A.Yu. Letyagin¹

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2

² Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion of SB RAS
630090, Novosibirsk, Institutskaya str., 3

Abstract

The aim of the study was to investigate the influence of the original porous silver-containing sorbent on the morphofunctional parameters of red blood cells during *in vitro* hemoperfusion. **Material and methods.** Donor blood was perfused through glass columns filled with a sorbent based on porous aluminum oxide, polydimethylsiloxane and silver nanoclusters and a sorbent without silver. The effect of a silver-containing sorbent on the change in morphofunctional parameters of red blood cells after perfusion through sorbents was determined by scanning flow cytometry. **Results and their discussion.** Due to the uniformity of the distribution of silver (0.1 %) over the sorbent granules, the parameters of the porous structure – the specific surface area and pore volume – practically do not change compared to the sorbent without silver. Morphological parameters of original donor blood and after hemoperfusion are within the norm. The functional parameters are also normal, although the introduction of silver in to the sorbent slightly increases the number of active band 3 (B3) proteins on erythrocyte membranes, both in comparison with the donor red cell mass as a control and in comparison with the sorbent without silver. There is also an increase in the ultimate extensibility of the erythrocyte membrane compared to the original blood (2.2 times) and the sorbent without silver (1.4 times). **Conclusions.** A sorbent modified with silver and a sorbent without silver does not have a damaging toxic effect on the morphofunctional parameters of blood under perfusion conditions. The mechanisms affecting the indicators of the ultimate extensibility of the erythrocyte membrane after blood perfusion through a silver-containing sorbent require further research.

Key words: sorbent, silver, aluminum oxide, polydimethylsiloxane, erythrocytes, safety.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Funding: The study was conducted as part of the implementation of the State task on the topic FWNR-2022-0009.

Correspondence author: Rachkovskaya L.N., e-mail: noolit@niikel.ru

Citation: Rachkovskaya L.N., Smagin A.A., Nimaev V.V., Demura A.Yu., Rachkovsky E.E., Yastrebova E.S., Maltsev V.P., Korolev M.A., Letyagin A.Yu. The effect of silver-containing sorbent on red blood cells during hemosorption: an *in vitro* study. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):19–24. [InRussian]. doi: 10.18699/SSMJ20220503

Введение

Течение ряда заболеваний терапевтического и хирургического профиля сопровождается развернутой картиной токсикоза. Наличие токсических продуктов метаболизма, эндотоксинов, микробных тел в кровеносном русле и лимфатической системе определяет необходимость проведения детоксикационных мероприятий, являющихся по своей направленности патогенетическими.

Кроме того, в настоящее время существует реальная и достаточно высокая вероятность появления новых инфекций, представляющих повышенную опасность для человека. В частности, как показала пандемия, вызванная коронавирусом SARS-Cov-2, последствия такого появления новых возбудителей для человеческой популяции могут быть совершенно непредсказуемыми и тяжелыми [1]. В связи с большой распространенностью антибиотикорезистентных штаммов бактерий, а также вирусных инфекций проблема лечения вызванных ими заболеваний остается чрезвычайно актуальной.

Данные обстоятельства активизируют поиск дополнительных методик и технологий элиминации бактерий, вирусов и их токсинов. По этой причине оправдан возрастающий интерес к препаратам серебра [2, 3], проявляющим комплексную антибактериальную и противовирусную активность.

Экспериментальные и клинические данные подтвердили перспективность создания антибактериальных серебросодержащих композиций на основе оксида алюминия и нанокластерного серебра для энтерального и аппликационного использования [4]. В этом отношении следует подчеркнуть высокую эффективность санации организма с помощью экстракорпоральной перфузии биологических жидкостей (крови, лимфы, плазмы) через колонку с сорбентами. По сравнению с широко применяющейся энтеросорбцией, гемосорбция признана наиболее быстрым способом детоксикации [5]. Логично полагать, что саногенную активность гемосорбентов можно усилить путем модификации их поверхности биологически активными компонентами (например, антибиотиками, серебром и др.) при условии отсутствия

негативного влияния сорбента на форменные элементы крови, в частности на эритроциты, их транспортные функции, что важно и в случае использования донорской крови эритроцитной массы [6]. В связи с вышесказанным представляет интерес модифицированный серебром сорбент, обладающий сорбционными и антибактериальными свойствами. Цель работы – исследование влияния оригинального сорбента с серебром $Al_2O_3@ПДМС/Ag$ на морфофункциональные параметры эритроцитов при гемоперфузии *in vitro*.

Материал и методы

Исследовали сорбент на основе пористого оксида алюминия, полидиметилсилоксана и серебра ($Al_2O_3@ПДМС/Ag$) и сорбент на основе оксида алюминия, полидиметилсилоксана ($Al_2O_3@ПДМС$). Серебросодержащий сорбент $Al_2O_3@ПДМС/Ag$ получали на основе пористого оксида алюминия ($\gamma-Al_2O_3$) с размером частиц 0,2–0,8 мкм, с размером пор 10–100 нм (АО «Катализатор», г. Новосибирск, Россия) и кремнийсодержащего полимера полидиметилсилоксана с молекулярной массой 18000–19000 в виде водной эмульсии (ООО «Пента», г. Новосибирск, Россия). В качестве активного компонента, прочно иммобилизованного на поверхности сорбента, использовали нанокластерное серебро (Арговит, ООО НПЦ «Вектор-Вита», г. Новосибирск). Сорбенты получали при температуре 150 °С в атмосфере воздуха. Стандартными методами определяли их пористую структуру: величину удельной поверхности (S), объем и размер пор [7]. Адсорбционную активность образцов оценивали по отношению к красителю метиленовому голубому ($\lambda = 664$ нм), используя спектрофотометр PD-303 UV (Arel, Япония).

Исследовали влияние сорбентов на эритроциты донорской крови до и после ее перфузии через колонку [8]. Использовали 10 образцов эритроцитной массы, полученной из ГБУЗ НСО «Новосибирский клинический центр крови» в стандартных гемаконах производства Masopharma (Франция) с консервантом CPD-SAGM, кровь хранили при температуре 2–4 °С, использовали эритроцитную массу 4–7 дней хранения.

Донорскую эритроцитную массу в объеме 3 мл с помощью шприца, помещенного в инфузионный одношприцевый насос (ИНСТИЛАР-1418, ООО «ДИКСИОН», г. Москва), пропускали через стеклянные колонки с образцом сорбента со скоростью 4 мл/мин. Предварительно были подготовлены и стерилизованы стандартным сухожаровым способом стеклянные колонки объемом 3 см³ (с фильтром из пористого стекла), со-

держащие 2 г сорбента, пористое пространство которого было заполнено физиологическим раствором.

Морфофункциональные параметры эритроцитов оценивали методом сканирующей проточной цитометрии, разработанным в Институте химической кинетики и горения СО РАН (производитель – ООО «Цитонova», г. Новосибирск) [8] и позволяющим с помощью светорассеяния клеток восстанавливать их структурные и морфологические параметры. Характеризация одиночных эритроцитов по сигналам светорассеяния сводится к задаче оптимизации, т.е. к подгонке теоретического сигнала к экспериментальному с помощью метода наименьших квадратов, а именно был выбран метод баз данных. В рамках данного подхода предварительно однократно насчитывается набор теоретических индикатрис эритроцитов (картины светорассеяния) в широком диапазоне физиологических параметров для последующего сравнения экспериментального сигнала с набором сигналов базы данных. В настоящей работе была насчитана регулярная база данных размером 1,1 млн индикатрис. Каждая зависимость интенсивности от угла рассеяния – индикатриса – характеризуется пятью параметрами: диаметр клетки, минимальная и максимальная толщины эритроцита, показатель преломления эритроцита (который напрямую связан с концентрацией гемоглобина) и угол ориентации частицы в потоке. Эти пять параметров однозначно задают площадь поверхности, объем, индекс сферичности, содержание и концентрацию гемоглобина одиночного эритроцита. Теоретические индикатрисы эритроцитов для базы данных были насчитаны методом дискретных диполей с помощью программного обеспечения ADDA, разработанного в Институте химической кинетики и горения СО РАН и находящегося в открытом доступе.

Для того чтобы оценить функциональные показатели эритроцитов, проводятся измерения морфологических изменений во время гемолиза, инициированного хлоридом аммония. Анализ сферизации и разрушения клеток во время гемолиза с помощью алгоритма, описанного ранее [9], позволяет получить два функциональных показателя эритроцитов – скорость анионного обмена и предельное растяжение мембраны [10]. Анионная проницаемость связана с количеством активно работающих молекул белка полосы 3 и может быть определена по продолжительности стадии сферизации в ходе лизиса эритроцитов. Предельная растяжимость мембраны пропорциональна времени, которое необходимо эритроцитам для перехода из сферического состояния в состояние с разрушенной мембраной, ее большая величина

соответствует повышенному значению устойчивости к индуцированному гемолизу.

Характеристики параметров для популяций из 6000 эритроцитов в каждом образце выражены как среднее значение \pm стандартная ошибка. Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Манна – Уитни и *t*-критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В результате равномерного распределения при иммобилизации 0,1 % нанокластерного серебра и полимера в поровом пространстве носителя – оксида алюминия – пористая структура сорбентов остается практически неизменной: величина удельной поверхности и объем пор для серебросодержащего сорбента составляют 168 м²/г и 0,32 см³/г соответственно, для сорбента без серебра – 169,3 м²/г и 0,32 см³/г соответственно. Условия иммобилизации обеспечивают прочное закрепление серебра на поверхности сорбента, высвобождения последнего в жидкую фазу не обнаружено. Сорбция красителя метилевого голубого сохранилась, хотя и снизилась с

8,4 мг/г (сорбент без серебра) до 3,5 мг/г (сорбент с серебром). Использование метода сканирующей проточной цитометрии позволило определить морфологические параметры эритроцитов исходной эритроцитной массы и после перфузии: их диаметр, толщину, поверхность, объем, площадь поверхности, индекс сферичности клетки, величину спонтанной кривизны мембраны, концентрацию и содержание гемоглобина (табл. 1). Как видно из табл. 1, наблюдается статистически незначимое увеличение площади и объема клеток под влиянием сорбентов относительно исходных показателей, однако все морфологические параметры остаются в пределах нормы [11, 12], т.е. сорбенты не оказывают повреждающего токсического воздействия.

В табл. 2 приведены данные по функциональным параметрам эритроцитов до и после контакта с сорбентами в условиях перфузии, в том числе данные по количеству белков полосы 3 (В3) на мембране эритроцита. Белок В3 является анионным обменником и осуществляет выведение углекислого газа из эритроцитов (в форме аниона HCO₃⁻) [14]. Этот процесс лимитирует весь кислородный обмен в организме. Из данных

Таблица 1. Изменение морфологических параметров эритроцитов донорской крови после контакта с сорбентами в условиях перфузии ($n = 6000$ эритроцитов)

Table 1. Changes in the morphological parameters of donor red blood cells after contact with sorbents under perfusion conditions ($n = 6000$ red blood cells)

| Параметр | Интервал показателей нормы [11] | Исходная кровь | После контакта с сорбентами | |
|---------------------------|---|-------------------|---|--------------------------------------|
| | | | Al ₂ O ₃ @ПДМС/Ag | Al ₂ O ₃ @ПДМС |
| d , мкм | 6,13–7,89 (0,92–1,75) | 7,62 \pm 0,03 | 7,71 \pm 0,02 | 7,65 \pm 0,04 |
| h_{\min} , мкм | 0,99–2,38 (1,00–1,72) | 1,73 \pm 0,16 | 1,77 \pm 0,143 | 1,78 \pm 0,16 |
| h_{\max} , мкм | 2,61–3,74 (0,34–1,23) | 3,50 \pm 0,02 | 3,52 \pm 0,03 | 3,61 \pm 0,03 |
| V , мкм ³ | 67–126 82–98 [12] 76–100 [13] | 123,6 \pm 0,5 | 128,6 \pm 0,5 | 128,2 \pm 0,5 |
| S , мкм ² | 94–146 (22–50) | 145,4 \pm 0,6 | 148,0 \pm 0,6 | 147,2 \pm 0,6 |
| SI | 0,671–0,851 (0,100–0,171) | 0,762 \pm 0,003 | 0,764 \pm 0,003 | 0,775 \pm 0,003 |
| C_0 , мкм ⁻¹ | -0,65 – 0,04 (0,34 – 1,38) | -0,45 (0,016) | -0,42 (0,016) | -0,45 (0,016) |
| Hbconc, г/дл | 24,5–38,0 (4,5–11,3) | 27,6 \pm 8,7 | 26,4 \pm 8,4 | 27,0 \pm 8,1 |
| Hbcont, пг | 19,6–35,7 27–32 [12] 24–31 [13] (5,3–14,0) | 31,6 \pm 11,8 | 31,0 \pm 11,5 | 32,0 \pm 10,6 |

Примечание. d – диаметр; h_{\min} и h_{\max} – минимальная и максимальная толщина соответственно; V – объем; S – площадь поверхности; SI – индекс сферичности, C_0 – спонтанная кривизна мембраны; Hbconc – концентрация гемоглобина; Hbcont – содержание гемоглобина; в столбце 2 в скобках референсные интервалы по стандартному отклонению.

Таблица 2. Изменение функциональных параметров эритроцитов донорской крови после контакта с сорбентами в условиях перфузии

Table 2. Changes in the functional parameters of donor red blood cells after contact with sorbents under perfusion conditions

| Параметр | Интервал показателей нормы [13,14] | Исходная кровь | После контакта с сорбентами | |
|---|------------------------------------|----------------|---|--------------------------------------|
| | | | Al ₂ O ₃ @ПДМС/Ag | Al ₂ O ₃ @ПДМС |
| Среднее число активных белков полосы 3, 10 ⁶ (на мембране эритроцита) | 0,11–2,88 | 0,37 ± 0,13 | 0,40 ± 0,12 | 0,33 ± 0,14 |
| Среднее число активных белков полосы 3/ S, 10 ³ мкм ² (на единицу поверхности мембраны) | 1,1–20,8 | 2,5 ± 0,4 | 2,7 ± 0,5 | 2,3±0,4 |
| Концентрация белков полосы 3 в организме, мкм | 0,9–21,5 | 4,2 ± 0,6 | 4,4 ± 0,6 | 3,6±0,6 |
| Отношение σ/К, 10 ⁻² (предельная растяжимость мембраны эритроцита) | 1,0–12,7 | 2,5 ± 0,6 | 5,6 ± 0,6 | 3,5 ± 0,3 |

табл. 2 следует, что серебросодержащий сорбент несколько увеличивает величину всех параметров по сравнению с сорбентом без серебра (в 1,2–1,4 раза), в том числе предельную растяжимость мембраны эритроцита, отражающую его устойчивость к изотоническому гемолизу, хотя все показатели укладываются в показатели нормы.

Заключение

Оба исследованных сорбента (Al₂O₃@ПДМС/Ag и Al₂O₃@ПДМС) не оказывают травмирующего воздействия на морфофункциональные показатели эритроцитов донорской крови в условиях перфузии – величины всех параметров не имеют статистически значимых отличий от исходных и находятся в пределах нормы. Можно отметить, что введение в состав сорбента путем прочной иммобилизации серебра в количестве 0,1 % несколько увеличивает количество активных белков полосы 3 на мембранах эритроцитов как по сравнению с исходной кровью, так и по сравнению с сорбентом без серебра. Также происходит и увеличение предельной растяжимости мембраны эритроцитов по сравнению с исходной кровью (в 2,2 раза) и сорбентом без серебра (в 1,4 раза); механизмы этого эффекта требуют дальнейших исследований.

Список литературы / References

1. Бурмистров В.А., Богданчикова Н.Е., Гусан А.О., Ураскулова Б.Б., Альманса-Рейес О., Альваро-Вера М., Пласенсия-Лопес И., Пестряков А.Н., Рачковская Л.Н., Летыгин А.Ю. Перспективы использования препаратов наноструктурированного серебра для борьбы с инфекционными заболеваниями, включая COVID-19. *Сиб. науч. мед. ж.* 2021;41(5):4–15. doi: 10.18699/SSMJ20210501

Burmistrov V.A., Bogdanchikova N.E., Gusan A.O., Uraskulova B.B., Almanza-Reyes O., Alvarado-Vera M., Placencia-Lopez I., Pestryakov A.N., Rachkovskaya L.N., Letyagin A.Yu. Prospects for the use of nanostructured silver preparations for the control of infectious diseases, including COVID-19. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2021; 41(5):4–15. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20210501

2. Nakamura K., Nakamura K. Antimicrobial coating compositions containing zeolite and silicates. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*. JP09, 100, 205 (Cl.A01N59/16), 1997.

3. Блажитко Е.М., Бурмистров В.А., Колесников А.П., Михайлов Ю.И., Родионов П.П. Серебро в медицине. Новосибирск: Наука-центр, 2004. 250 с.

Blagitko E.M., Burmistrov V.A., Kolesnikov A.P., Mikhailov Yu.I., Rodionov P.P. Silver in medicine. Novosibirsk: Nauka-tsentr, 2004. 250 с. [In Russian].

4. Попова Т.В., Карабинцева Н.О., Рачковская Л.Н., Толстикова Т.Г., Котлярова А.А., Летыгин А.Ю. Возможности создания полифункционального серебросодержащего препарата с детоксикационным эффектом. *Фармация и фармакол.* 2017;5(3):242–253. doi: 10/19163/2307-9266-2017-5-3-243-253

5. Popova T.V., Karabintseva N.O., Rachkovskaya L.N., Tolstikova T.G., Kotlyarova A.A., Letyagin A.Yu. The possibility of creating multifunctional silver-containing drugs with detoxifying effect. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy and Pharmacology*. 2017;5(3):242–253. [In Russian]. doi:10/19163/2307-9266-2017-5-3-243-253

5. Хорошилов С.Е., Никулин А.В. Детоксикация при критических состояниях: понимание научной проблемы в XXI веке (обзор). *Общ. реаниматол.* 2017;13(5):85–108. doi: 10.15360/1813-9779-217-5-85-108

Khoroshilov S.E., Nikulin A.V. Detoxication in critical conditions: an insight into the scientific problem in the XXI century (review). *Obshchaya reanimatologi-*

ya = *General Reanimatology*. 2017;13(5):85–108. [In Russian]. doi: 10.15360/1813-9779-217-5-85-108

6. Khodas M.Ya., Belkin A.L., Mosolova L.A., Povzhitkova M.S., Leonova S.F., Penkrak K.A., Grischenko M.N., Pyatnitskaya G.K. Hemoperfusion effect on oxygen carrying function of preserved donor blood and erythrocytic mass. *Z. Exp. Chir. Transplant. Kunstliche Organe*. 1989;22(2):92–96.

7. Грег С. Адсорбция, удельная поверхность, пористость. М.: Мир, 1984. 310 с.

Greg S. Adsorption, specific surface area, porosity. Moscow: Mir, 1984. 310 p. [In Russian].

8. Нимаев В.В., Пивкина А.В., Шурлыгина А.В., Рачковская Л.Н., Смагин А.А., Ястребова Е.С., Рачковский Э.Э., Королев М.А., Мальцев В.П., Летягин А.Ю. Новый углеродминеральный сорбент на основе оксида алюминия, полидиметилсилоксана и одностенных углеродных нанотрубок: оценка влияния на эритроциты крови *in vitro*. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2021;172(10):495–500. doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-10-495-500

Nimaev V.V., Pivkina A.V., Shurlygina A.V., Rachkovskaya L.N., Smagin A.A., Yastrebova E.S., Rachkovsky E.E., Korolev M.A., Maltsev V.P., Letyagin A.Yu. New carbon-mineral sorbent based on aluminum oxide, polydimethylsiloxane and single-wall carbon nanotubes: assessment of the effect on erythrocytes *in vitro*. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2022;172(10):478–482. doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-10-495-500

9. Chernyshev A.V., Tarasov P.A., Semianov K.A., Nekrasov V.M., Hoekstra A.G., Maltsev V.P. Erythro-

cyte lysis in isotonic solution of ammonium chloride: Theoretical modeling and experimental verification. *J. Theor. Biol.* 2008;251(1):93–107. doi: 10.1016/j.jtbi.2007.10.016

10. Lin C.M., Wu D.T., Tsao H.K., Sheng Y.J. Membrane properties of swollen vesicles: growth, rupture, and fusion. *Soft Matter*. 2012;8(22):6139–6150. doi: 10.1039/C2SM25518A

11. Yastrebova E.S., Nekrasov V.M., Gilev K.V., Gisich A.V., Abubakirova O.A., Strokotov D.I., Chernyshev A.V., Karpenko A.A., Maltsev V.P. Erythrocyte lysis and angle-resolved light scattering measured by scanning flow cytometry result to 48 indices quantifying a gas exchange function of the human organism. *Cytometry A*. 2022. doi: 10.1002/cyto.a.24554

12. Pekelharing J.M., Hauss O., de Jonge R., Lokhoff J., Sodikromo J., Spaans M., Brouwer R., de Lathouder S., Hinzmann R. Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Sysmex Journal International*. 2010;20(1):1–9.

13. Harris N., Kunicka J., Kratz A. The ADVIA 2120 Hematology System: Flow cytometry-based analysis of blood and body fluids in the routine hematology laboratory. *Lab. Hematol.* 2005;11(1):47–61. doi: 10.1532/LH96.04075

14. Chernyshova E.S., Zaikina Y.S., Tsvetovskaya G.A., Strokotov D.I., Yurkin M.A., Serebrennikova E.S., Volkov L., Maltsev V.P., Chernyshev A.V. Influence of magnesium sulfate on HCO₃/Cl transmembrane exchange rate in human erythrocytes. *J. Theor. Biol.* 2016;393:194–202. doi: 10.1016/j.jtbi.2015.12.023

Сведения об авторах:

Любовь Никифоровна Рачковская, к.х.н., ORCID: 0000-0001-9622-5391, e-mail: noolit@niikel.ru

Александр Анатольевич Смагин, д.м.н., ORCID: 0000-0001-8319-0038, e-mail: asa57@ngs.ru

Вадим Валерьевич Нимаев, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9889-3729, e-mail: nimaev@gmail.com

Александр Юрьевич Демура, ORCID: 0000-0001-8470-5400, e-mail: dx_@bk.ru

Эдмунд Эдмундович Рачковский, к.х.н., ORCID: 0000-0003-3756-487, e-mail: reed@academ.org

Екатерина Сергеевна Ястребова, ORCID: 0000-0002-1027-0747, e-mail: kat30cer@gmail.com

Валерий Павлович Мальцев, д.ф.-м.н., проф., ORCID: 0000-0003-3478-5515, e-mail: vpm@kinetics.nsc.ru

Максим Александрович Королев, д.м.н., ORCID: 0000-0002-0471-652X, e-mail: kormax@bk.ru

Андрей Юрьевич Летягин, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-9293-4083, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Information about the authors:

Lubov N. Rachkovskaya, candidate of chemical sciences, ORCID: 0000-0001-9622-5391, e-mail: noolit@niikel.ru

Alexander A. Smagin, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-8319-0038, e-mail: asa57@ngs.ru

Vadim V. Nimaev, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9889-3729, e-mail: nimaev@gmail.com

Alexander Yu. Demura, ORCID: 0000-0001-8470-5400, e-mail: dx_@bk

Edmund E. Rachkovsky, candidate of chemical sciences, ORCID: 0000-0003-3756-4873, e-mail: reed@academ.org

Ekaterina S. Yastrebova, ORCID: 0000-0002-1027-0747, e-mail: kat30cer@gmail.com

Valery P. Maltsev, doctor of physical and mathematical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-3478-5515, e-mail: vpm@kinetics.nsc.ru

Maksim A. Korolev, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-4890-0847, e-mail: kormax@bk.ru

Andrey Yu. Letyagin, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-9293-4083, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.05.2022

После доработки 11.07.2022

Принята к публикации 02.08.2022

Received 20.05.2022

Revision received 11.07.2022

Accepted 02.08.2022

Взаимосвязь показателей фактического питания и параметров системы липопероксидации и антиоксидантной защиты крови у подростков 14–17 лет, проживающих в сельской местности

М.А. Даренская, Л.В. Рычкова, Т.А. Астахова, А.В. Погодина, О.Н. Долгих,
Ю.Н. Климкина, Л.И. Колесникова

*Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека Минобрнауки России
664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16*

Резюме

Цель исследования – выявить взаимосвязь параметров фактического питания и системы липопероксидации и антиоксидантной защиты крови у подростков 14–17 лет сельской местности. **Материал и методы.** Методом поперечного исследования обследовано 76 подростков 14–17 лет Иркутской области. Фактическое питание изучали посредством 24-часового воспроизведения питания. Спектрофотометрическими и флуориметрическими методами анализировали содержание в крови субстратов с ненасыщенными двойными связями (ДС), диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ), продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП), α -токоферола, ретинола, восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона, общую антиокислительную активность (АОА) крови, активность супероксиддисмутазы (СОД). **Результаты.** Рацион подростков не соответствовал принципам сбалансированного питания – снижение потребления белка, дисбаланс ненасыщенных жирных кислот, дефицит витаминов А, С, D, витаминов группы В. Избыточным элементом в питании был натрий. В исследуемой группе подростков значимо возросло содержание субстратов с ДС, КД и СТ, ТБК-РП, концентрация ДК снижалась. Параметры антиоксидантной защиты изменялись в сторону как снижения (общая АОА, содержание ретинола), так и увеличения значений (концентрация α -токоферола, GSH). Анализ взаимосвязей показал наличие зависимостей между содержанием ДС и витаминов В1, В2 в пище; концентрацией ДК и калорийностью, уровнем углеводов и витамина В1; содержанием КД и СТ и жиров; общей АОА и концентрацией витамина А, β -каротина; уровнем α -токоферола в крови и витамина Е в пище; GSH и витамина К; активностью СОД и содержанием витамина Н. Множественные корреляции отрицательного характера обнаруживала окисленная форма глутатиона: с концентрацией жиров, витаминов В1, В9, С, К. **Заключение.** Расчетные показатели потребления витаминов позволяют выявить алиментарные отклонения в питании подростков и связать их с реальной обеспеченностью организма данными метаболитами.

Ключевые слова: фактическое питание, липопероксидация, антиоксидантная защита, сельские подростки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Даренская М.А., e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Для цитирования: Даренская М.А., Рычкова Л.В., Астахова Т.А., Погодина А.В., Долгих О.Н., Климкина Ю.Н., Колесникова Л.И. Взаимосвязь показателей фактического питания и параметров системы липопероксидации и антиоксидантной защиты крови у подростков 14–17 лет, проживающих в сельской местности. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022;42(5):25–36. doi: 10.18699/SSMJ20220504

Correlation between actual nutrition and lipid peroxidation and antioxidant defense parameters in aged 14–17 years adolescents living in rural areas

M.A. Darenskaya, L.V. Rychkova, T.A. Astakhova, A.V. Pogodina, O.N. Dolgikh,
Yu.N. Klimkina, L.I. Kolesnikova

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction
664003, Irkutsk, Timiryazev str., 16

Abstract

The aim of the study was to reveal the relationship between the parameters of actual nutrition and the lipid peroxidation and antioxidant defense system in adolescents aged 14–17 in a rural area. **Material and methods.** 76 adolescents aged 14–17 of the Irkutsk region were examined by the cross-sectional study method. Actual nutrition was studied by the 24-hour nutrition reproduction method. The content of substrates with unsaturated double bonds (DB), diene conjugates (DC), ketodienes and conjugated trienes (KD and CT), thiobarbituric acid reacting species (TBARS), α -tocopherol, retinol, reduced (GSH) and oxidized glutathione (GSSG), total blood antioxidant activity (TAA), superoxide dismutase (SOD) activity in blood by spectrophotometry and fluorometry methods were analyzed. **Results.** The adolescents' diet did not meet the principles of a balanced diet – there was reduced protein intake, an imbalance of unsaturated fatty acids, A, C, D, B vitamins deficiency. An excessive element in the diet was sodium. The content of substrates with DB, KD and CT and TBARS increased significantly in the studied group of adolescents, the concentration of DC decreased. Parameters of antioxidant defense both decreased (TAA, retinol content) and increased (α -tocopherol, GSH concentration). Correlation analysis showed relationships between DB and vitamin B1, B2 content; DC level and calories, carbohydrate and vitamin B1 content; concentration of KD and CT and fats, TAA and vitamin A and β -carotene level; level of α -tocopherol in blood and vitamin E in food; GSH and vitamin K; SOD activity and vitamin H content. Multiple negative correlations were between GSSG and fat, vitamins B1, B9, C, K food concentration were found. **Conclusions.** The calculated vitamin consumption indicators allow to reveal nutritional deviations in adolescents and to connect them with the real provision of the body with these metabolites.

Key words: dietary intake, lipid peroxidation, antioxidant defense, rural schoolchildren.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Darenskaya M.A., e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Citation: Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Astakhova T.A., Pogodina A.V., Dolgikh O.N., Klimkina Yu.N., Koleznikova L.I. Correlation between actual nutrition and lipid peroxidation and antioxidant defense parameters in aged 14–17 years adolescents living in rural areas. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):25–36. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220504

Введение

Укрепление здоровья детского населения Российской Федерации является одной из приоритетных задач здравоохранения по причине сохранения будущего производственного потенциала общества [1]. Питание считается важным фактором, определяющим состояние здоровья подростка [2]. Сбалансированное рациональное питание обеспечивает оптимальный рост и развитие организма, умственные и физические характеристики, функционирование всех органов и систем, в том числе особенности иммунного ответа [3]. Фактическое питание детей и подростков отражает влияние социоэкономических условий в стране, а также непосредственной, локальной среды обитания ребенка, формируя при этом резерв адаптационных возможностей и состояние здоровья в целом [4]. Агрессивный маркетинг, повсеместная реклама фастфуда наряду с употреблением промышленно переработанных рафинированных продуктов, пищевых красителей, добавок, генетически модифицированных продуктов во многом обуславливают отсутствие значимых положительных результатов в данном контексте [3, 4]. Так, по итогам Всероссийской

диспансеризации, первую группу здоровья имеют не больше 30 % детей и подростков, а по данным специальных научных исследований – значительно меньше [5, 6].

Отмечено, что дисбаланс в питании наряду с другими факторами обуславливает неблагоприятный профиль факторов риска развития неинфекционных заболеваний среди детского населения [3]. При этом подчеркивается, что для их нивелирования необходимо привлечение широкого круга специалистов.

Методы количественной оценки питания включают две категории понятий: фактическое питание (фактическое потребление пищи и пищевых веществ) и состояние питания (пищевой статус как результат воздействия пищевых факторов, проявляющийся в объективных параметрах тела, его биологических сред и компонентов) [7]. Комплексная оценка фактического питания по сути свидетельствует об определенных тенденциях положительного или негативного характера, об истинной же недостаточности каких-либо пищевых факторов можно говорить, анализируя биохимический статус крови пациента [8].

Система «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ – АОЗ) считается важнейшим компонентом адаптивных реакций организма и позволяет оценить устойчивость организма к внешним и внутренним проявлениям [9, 10]. При этом неконтролируемое усиление процессов липопероксидации может явиться важным звеном патогенеза ряда заболеваний, в том числе имеющих место в подростковом периоде [11–13]. Компоненты АОЗ работают в противовес свободнорадикальным процессам, благодаря их функционированию сохраняется и поддерживается гомеостаз. Данные факторы многочисленны, действуют как синергисты, но не обладают взаимозаменяемостью [14, 15].

Правильно организованное с точки зрения поддержания антиоксидантного статуса питание, безусловно, может выступать условием адекватных адаптационных реакций и резистентности организма подростка к отрицательным воздействиям. Особого внимания в настоящее время требует сельское население, которое до сих пор остается недоисследованным.

Целью настоящего исследования послужило выявление взаимосвязи параметров фактического питания и системы «ПОЛ – АОЗ» крови у подростков 14–17 лет, проживающих в сельской местности.

Материал и методы

Методом поперечного исследования обследовано 76 подростков в возрасте 14–17 лет – 38 юношей (средний возраст $15,34 \pm 1,16$ года) и 38 девушек (средний возраст $14,94 \pm 0,86$ года), проживающих на территории Иркутской области. Участников набирали из числа всех подростков (сплошная выборка), прошедших плановый ежегодный медицинский осмотр. Подростки старше 15 лет дали письменное добровольное согласие на исследование, дети, не достигшие этого возраста, получили согласие от родителей или законных представителей.

Критерии включения: возраст 14–17 лет; отсутствие предшествующей медикаментозной терапии; отсутствие антибактериальной терапии в течение предшествующих 6 месяцев; отсутствие на момент включения в исследование и, по меньшей мере, за один месяц до него острых или обострения хронических заболеваний; наличие информированного добровольного согласия родителей или законных представителей подростков, а также самих подростков старше 15 лет на участие в исследовании. Критерии исключения: задержка физического развития (SDS роста менее 2 для данного возраста и пола по референсным

таблицам ВОЗ); дефицит веса (SDS индекса массы тела < 5-го перцентиля).

Проводилось клиническое обследование пациентов – сбор данных анамнеза, объективное обследование, анализ антропометрических данных (измерение массы тела, роста, окружности талии и бедер, определение индекса массы тела согласно стандартной формуле), измерение артериального давления, оценка нутритивного статуса, применялись клинико-биохимические лабораторные методы. Фактическое потребление пищи изучали методом 24-часового воспроизведения питания, в соответствии с методическими рекомендациями [16]. Опросы респондентов были проведены специально обученными интервьюерами. Величину потребляемой порции пищи оценивали с помощью «Альбома порций продуктов и блюд», в котором представлены фотографии порций различной величины [17]. Для обработки полученных данных, а именно энергетической ценности, количественного состава макро- и микронутриентов каждого продукта и блюда использовали данные о химическом составе российских пищевых продуктов в информационном приложении «Мой здоровый рацион» [18]. Значения параметров фактического питания сравнивали с нормами физиологических потребностей подростков в энергии и пищевых веществах [16]. В работе с группами детей и подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2013 ред.). Проведение исследования одобрено Этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (выписка из протокола заседания № 2 от 18.02.2020).

Обследованные не принимали витаминов на момент забора крови. Кровь забирали в соответствии с существующими требованиями утром натощак из локтевой вены. Производился анализ содержания соединений с сопряженными двойными связями (ДС), а также продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) (первичные), кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ) (вторичные), продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-РП) (конечные) [19, 20]. Об активности системы АОЗ судили по величине общей антиокислительной активности (АОА) [21], концентрации α -токоферола и ретинола [22], восстановленного (GSH) и окисленного глутатиона (GSSG) [23], активности супероксиддисмутазы (СОД) [24]. Измерения проводили на спектрофлуориметре RF-1501 (Shimadzu, Япония). Полученные величины параметров системы «ПОЛ – АОЗ» сравнивали со значениями, уста-

Таблица 1. Калорийность и состав рациона питания подростков

Table 1. Caloric content and composition of adolescent diets

| Показатель | Норма физиологических потребностей | Me | 95 % ДИ |
|--------------------|---|--------|---------------|
| Калорийность, ккал | 2700 | 2404,4 | 2290,2–2625,3 |
| Белки, г | 81 | 69,9 | 68,1–77,4 |
| Жиры, г | 90 | 81,2 | 76,8–88,5 |
| Углеводы, г | 392 | 313,6 | 298,6–352,2 |
| Вода, г | 1,5 л | 1592,0 | 1540,4–1688,5 |
| Холестерин, мг | <300 | 194,5 | 207,4–297,7 |
| Омега-3-ПНЖК, г | 1–2 % от калорийности суточного рациона (0,8–1,6 г) | 0,2 | 0,02–3,50 |
| Омега-6-ПНЖК, г | 5–8 % от калорийности суточного рациона (8–10 г) | 2,0 | 2,5–5,2 |

новленными для практически здоровых подростков в более ранних исследованиях [15, 25].

Для сравнения суточного потребления энергии и нутриентов между сформированными группами и общей популяцией вычисляли медиану (Me) и 95%-й доверительный интервал (95 % ДИ). О статистически значимых различиях говорили, если вычисленный 95 % ДИ не включал в себя популяционное среднее [26]. Результаты исследования биохимических показателей представлены в виде средних значений (M) и среднеквадратичного отклонения (σ) ($M \pm \sigma$). Оценка статистической значимости различий количественных величин проведена с использованием критерия Манна – Уитни. Для проведения корреляционного анализа использовался метод Спирмена. Уровень значимости считали достоверным при $p < 0,05$.

Результаты

В табл. 1 представлены данные, полученные при оценке энергетической ценности и состава рациона питания подростков в сравнении с нор-

мами физиологических потребностей [16]. Согласно полученным результатам, 95 % ДИ содержания белков у подростков был меньше нормы. Кроме того, отмечался относительный дисбаланс в потреблении полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в виде низких значений омега-6-ПНЖК. Расчетное соотношение белков, жиров и углеводов в группе обследованных составило 1:1,2:4,6 при норме 1:1:4, что свидетельствовало о смещении рациона в сторону превалирования углеводного компонента.

Важным для подросткового контингента является также сбалансированность витаминно-минерального состава рациона питания. Анализ полученных данных показал, что содержание витаминов в рационе питания обследованных недостаточно (табл. 2). Так, отмечено относительное снижение потребления с пищей витамина А, β -каротина, витаминов группы В (В1, В2, В9) относительно нормативов, существенное (более чем в 2 раза) уменьшение потребления витаминов С, D, Н, К. Оценка содержания минеральных веществ в суточном рационе подростков показала сниженное потребление калия, кальция, магния,

Таблица 2. Содержание витаминов в суточном рационе подростков

Table 2. Vitamin content in the daily diet of adolescents

| Содержание витамина | Норма физиологических потребностей | Me | 95 % ДИ |
|-------------------------------------|------------------------------------|-------|-------------|
| Витамин А, ретинол-эквивалент, мкг | 900,0 | 408,1 | 416,2–569,2 |
| β -Каротин, мг | 5,0 | 1,6 | 0,6–2,1 |
| Витамин В1, мг | 1,4 | 0,7 | 0,7–0,9 |
| Витамин В2, мг | 1,7 | 0,9 | 0,9–1,1 |
| Витамин В5, мг | 4,5 | 2,1 | 1,3–4,6 |
| Витамин В9, мкг | 400,0 | 78,6 | 79,9–118,4 |
| Витамин С, мг | 80,0 | 29,1 | 28,3–42,1 |
| Витамин D ₃ , мкг | 10,0 | 0,3 | 0,2–4,6 |
| Витамин Е, токоферол-эквивалент, мг | 15,0 | 10,7 | 10,8–14,1 |
| Витамин Н, мкг | 50,0 | 11,3 | 3,6–39,8 |
| Витамин К, мкг | 110,0 | 9,6 | 6,3–55,4 |
| Витамин РР, ниацин-эквивалент, мг | 19,0 | 23,4 | 22,8–29,4 |

Таблица 3. Содержание минеральных веществ в суточном рационе подростков

Table 3. Mineral content in the daily diet of adolescents

| Содержание минеральных веществ | Норма физиологических потребностей | Ме | 95 % ДИ |
|--------------------------------|------------------------------------|--------|---------------|
| Калий, мг | 3200,0 | 2128,9 | 1989,1–2314,6 |
| Кальций, мг | 1200,0 | 532,8 | 499,5–616,3 |
| Магний, мг | 400,0 | 254,5 | 248,8–364,7 |
| Натрий, мг | 1300,0 | 2258,1 | 2069,9–2439,2 |
| Фосфор, мг | 900,0 | 966,8 | 906,1–1034,3 |
| Железо, мг | 18,0 | 16,6 | 9,8–18,9 |
| Йод, мкг | 140,0 | 30,4 | 31,4–51,5 |
| Медь, мкг | 1000 | 769,5 | 722,2–847,5 |
| Селен, мкг | 50,0 | 20,3 | 22,3–37,8 |
| Цинк, мг | 12,0 | 6,1 | 5,8–8,9 |

йода, меди, селена и цинка (табл. 3). Избыточным элементом в питании был натрий, количество которого значительно превышало возрастную норму.

Далее проводился анализ содержания в крови компонентов системы «ПОЛ – АОЗ» в сравнении с физиологической нормой [15, 25] (табл. 4). Отмечены статистически значимые различия в отношении практически всех показателей, за исключением концентрации GSSG и активности СОД. Так, в исследуемой группе подростков значимо возрастало содержание субстратов с ДС (в 1,37 раза; $p < 0,0001$), вторичных (КД и СТ) (в 1,38 раза; $p = 0,0028$) и конечных (ТБК-РП) (в 1,52 раза; $p = 0,0001$) продуктов ПОЛ. Концентрация первичных продуктов (ДК) снижалась в 1,53 раза ($p < 0,0001$). Параметры АОЗ в исследуемой группе статистически значимо изменялись в сторону как снижения (общая АОА, в 1,52 раза, $p < 0,0001$; содержание ретинола, в 2,54 раза, $p < 0,0001$), так и роста значений (уровень α -токоферола, в 1,42

раза, $p < 0,0001$; GSH, в 1,24 раза, $p < 0,0001$) (см. табл. 4).

На следующем этапе был проведен корреляционный анализ исследуемых параметров, в результате чего были отмечены значимые взаимосвязи положительной и отрицательной направленности (табл. 5).

Обсуждение

Подростковый возраст является критическим этапом онтогенеза и характеризуется повышенной чувствительностью организма к негативным факторам различного свойства [1–3]. Рациональное питание, обеспечивающее сохранение здоровья и способностей к обучению, является неотъемлемым компонентом здорового образа жизни ребенка [4, 27]. Многочисленные исследования указывают на наличие изменений в характере питания подростков в большинстве регионов Российской Федерации [27–29]. Данные измене-

Таблица 4. Содержание компонентов системы «ПОЛ – АОЗ» в крови подростков

Table 4. Lipid peroxidation and antioxidant defense system component content in the blood of adolescents

| Показатель | Физиологическая норма ($n = 46$) | Содержание в крови ($n = 76$) |
|---|------------------------------------|---------------------------------|
| Содержание ДС, усл. ед. | $1,97 \pm 1,18$ | $2,70 \pm 0,5^*$ |
| Содержание ДК, мкмоль/л | $1,62 \pm 0,88$ | $1,06 \pm 0,31^*$ |
| Содержание КД и СТ, усл. ед. | $0,24 \pm 0,17$ | $0,33 \pm 0,15^*$ |
| Содержание ТБК-РП, мкмоль/л | $0,86 \pm 0,52$ | $1,31 \pm 0,62^*$ |
| Общая АОА, усл. ед. | $15,23 \pm 4,5$ | $11,23 \pm 3,71^*$ |
| Содержание α -токоферола, мкмоль/л | $8,1 \pm 3,69$ | $11,5 \pm 4,5^*$ |
| Содержание ретинола, мкмоль/л | $1,27 \pm 0,9$ | $0,5 \pm 0,12^*$ |
| Содержание GSH, ммоль/л | $2,06 \pm 0,46$ | $2,56 \pm 0,43^*$ |
| Содержание GSSG, ммоль/л | $2,17 \pm 0,52$ | $2,07 \pm 0,37$ |
| Активность СОД, усл. ед. | $1,68 \pm 0,25$ | $1,67 \pm 0,12$ |

Примечание: * – отличие от физиологической нормы [15, 23] статистически значимо при $p < 0,05$.

Таблица 5. Статистически значимые корреляционные взаимосвязи показателей суточного рациона и системы «ПОЛ – АОЗ» крови у подростков**Table 5.** Statistically significant correlations between the parameters of the daily diet and lipid peroxidation and antioxidant defense system in the blood of adolescents

| Корреляционные взаимосвязи | | <i>r</i> | <i>p</i> |
|----------------------------|---------------------------------|----------|----------|
| Содержание ДС | Витамин В1 | 0,29 | 0,010 |
| | Витамин В2 | 0,32 | 0,004 |
| Содержание ДК | Калорийность | 0,27 | 0,018 |
| | Углеводы | 0,31 | 0,006 |
| | Витамин В1 | 0,23 | 0,044 |
| Содержание КД и СТ | Жиры | -0,26 | 0,023 |
| Общая АОА | Витамин А | 0,27 | 0,032 |
| | β-каротин | 0,37 | 0,001 |
| Содержание α-токоферола | Витамин Е, токоферол-эквивалент | 0,27 | 0,019 |
| Содержание GSH | Витамин К | -0,23 | 0,042 |
| Содержание GSSG | Жиры | -0,32 | 0,006 |
| | Витамин В1 | -0,23 | 0,045 |
| | Витамин В9 | -0,28 | 0,013 |
| | Витамин С | -0,23 | 0,046 |
| | Витамин К | -0,24 | 0,036 |
| Активность СОД | Витамин Н | 0,24 | 0,037 |

ния касаются таких факторов, как калорийность, уровень потребления витаминов, микро- и макроэлементов и т.д. [30–32]. Результаты нашего исследования также свидетельствуют о наличии нарушений в питании обследуемых подростков. Так, выявлено недостаточное присутствие белкового компонента в рационе, что обусловлено по большей части редким употреблением мясных, рыбных и молочных продуктов. Подобные нарушения были зарегистрированы в республиках Бурятия, Саха, Томской, Саратовской областях, Алтайском крае и др. [27, 31, 33, 34]. Обнаруженное нами недостаточное потребление ПНЖК, в частности омега-6-ПНЖК, также может негативно сказываться на состоянии здоровья подростков. Современные источники указывают на особую роль длинноцепочечных ПНЖК как основных компонентов фосфолипидов клеток головного мозга, фоторецепторов сетчатки, от них зависит развитие мембранных структур [26]. Среди главных эффектов ПНЖК выделяют иммуностимулирующий, нейро- и кардиоогенный, защитный, антиканцерогенный [35]. К действию же омега-6-ПНЖК относят усиление эффектов омега-3-ПНЖК, антиаллергический эффект, улучшение ферментативных реакций желудочно-кишечного тракта и т.д. [36]. Расчетный показатель соотношения белков, жиров и углеводов в исследуемой группе указывал на преобладание углеводного компонента в питании подростков, что также подтверждается другими исследованиями [27, 29, 30].

Важным вопросом питания современных школьников является достаточное поступление с пищей витаминов и биоэлементов [26]. Многогранное действие витаминов обусловлено их высокой биологической ценностью, участием в многочисленных биохимических реакциях, что обеспечивает физическую и умственную работоспособность, способствует устойчивости к различным заболеваниям [37]. Нами отмечен выраженный дефицит данных жизненно важных компонентов в питании обследуемых подростков: более чем в половину от физиологической нормы снижено поступление витаминов С, Д, А, В9, К и β-каротина, менее выраженные изменения касались витаминов В1, В2 и Н.

В настоящее время отмечается значительный дефицит витаминов разных классов среди детского населения во всех регионах страны [4, 27, 31–33, 38]. Недостаточное поступление витаминов может способствовать снижению показателей иммунитета, когнитивных способностей ребенка, усилению нервно-эмоционального напряжения, развитию обменных нарушений и хронических заболеваний [26, 37]. Так, витамин С повышает устойчивость организма к инфекциям, снижает выраженность воспалительных реакций, регулирует функционирование нервной системы, стимулирует деятельность эндокринных желез, улучшает функцию печени, обеспечивает нормальный рост организма и т.д. [37]. Многочисленные исследования указывают на значимость дефицита витамина D₃ в развитии рахита, деминерализации

костной ткани, сердечно-сосудистых и инфекционных заболеваний, дисрегуляции иммунитета и т.д. [39]. Основной причиной дефицита данного витамина, а также ПНЖК, как правило, является отсутствие в рационе жирных сортов рыбы и морепродуктов.

Витамин А участвует в формировании скелета, обуславливает нормальный рост организма и функционирование клеток эпителия кожи, слизистых оболочек глаз, дыхательных, мочевыводящих путей, пищеварительного тракта [30]. Витамин В9 (фолиевая кислота) играет важную роль в образовании нуклеиновых кислот, холина, обмене белков, в кроветворении [14]. Витамин К крайне необходим в реакциях синтеза протромбина в печени и других компонентов свертывающей системы, а его дефицит провоцирует склонность к кровотечениям [38]. Таким образом, установленный в исследовании фактического питания подростков дефицит витаминов, несомненно, может служить фактором риска возникновения различных нарушений обмена веществ, а также развития алиментарно-зависимых заболеваний в последующем.

Биологическая роль химических элементов (биоэлементов) в организме человека крайне разнообразна. Они входят в состав многих ферментов, гормонов, витаминов, пигментов, являются синергистами и антагонистами, влияющими практически на все физиологические процессы в организме [39]. Среди резко дефицитных биоэлементов в исследуемой группе можно выделить кальций и йод, также отмечено снижение поступления с продуктами питания калия, магния, меди, цинка и селена. Значительно превышающим физиологические нормативы являлся натрий. Низкий уровень кальция у подростков можно связать с недостаточностью потребления молока и молочных продуктов сельскими школьниками, что также подтверждается данными других исследователей [27]. Кальций принимает участие в регуляции важнейших физиологических процессов, в том числе в формировании костной ткани, в процессах свертывания крови, в работе центральной нервной системы, передаче нервных импульсов, регулирует секрецию ряда гормонов, ферментов [30, 40]. Адекватное потребление кальция в детстве и подростковом возрасте – наиболее важный фактор для достижения оптимальной массы костей и их размера [41].

Недостаточность йода в рационе можно связать с проживанием подростков в йоддефицитном регионе, к которому относится Иркутская область. Данный фактор может способствовать нарушению синтеза тиреоидных гормонов и являться причиной связанных с этим заболеваний

[31, 42]. Обращает на себя внимание избыточность потребления сельскими подростками соли. Данный факт имеет повсеместный характер среди подросткового населения и обусловлен широким ее использованием в качестве пищевой добавки и консерванта. Снижение поступления натрия с пищей в подростковом возрасте может оказывать положительное влияние на величину артериального давления, в том числе в возрастном аспекте, а следовательно, способствовать снижению смертности от сердечно-сосудистой патологии во взрослом возрасте [27, 29].

Лабораторные методы анализа различных биомаркеров позволяют выявить доклинические формы нарушения питания и пищевого статуса – недостаточность или избыточность потребления пищевых веществ и энергии [7, 43]. При биохимическом анализе крови подростков исследуемой группы наблюдалась повышенная активность липопероксидации, что выражалось ростом показателей продуктов ПОЛ на этапе вторичных и конечных метаболитов. При этом сниженный уровень ДК с одновременным увеличением содержания КД и СТ и ТБК-РП может свидетельствовать о быстром переходе от первичных к конечным стадиям процессов ПОЛ. В данном случае можно говорить об окислительной модификации липидов, продукты которой оказывают негативное влияние на клетки, вызывая повреждение структуры и функционирования биомембран [9]. Особенно это актуально в условиях недостаточности отдельных факторов АОЗ – интегрального параметра (общей АОА) и содержания ретинола, при относительном увеличении концентрации α -токоферола и GSH, что может иметь компенсаторное значение. Общая АОА отражает потенциальную возможность действия различных компонентов системы АОЗ, в том числе ферментативного и неферментативного характера [10, 13], ее снижение может свидетельствовать об ухудшении состоянии системы АОЗ в целом. Уменьшение уровня ретинола, являющегося антиоксидантом прямого и опосредованного (через гормональную регуляцию системного метаболизма) действия [9], может иметь определенные негативные последствия для организма.

В ходе проведения корреляционного анализа установлены многочисленные взаимосвязи показателей суточного рациона подростков с активностью реакций липопероксидации крови. В основном данные зависимости касались поступления с пищей витаминов (12 взаимосвязей) и жиров. Так, отсутствие резких изменений в показателях калорийности питания и содержании витаминов группы В способствовало относительной стабильности первичных этапов процесса ПОЛ.

В то же время присутствие жиров в пище может повышать уровень вторичных метаболитов ПОЛ – КД. Многочисленные зависимости между параметрами АОЗ крови и содержанием витаминов в рационе питания могут указывать на высокую значимость перорального поступления данных жизненно необходимых компонентов с целью их восполнения в подростковом возрасте. При этом уменьшение потребления витамина А и β-каротина с пищей снижало общую АОА, что свидетельствует о вкладе данных компонентов в АОЗ.

Большое количество отрицательных зависимостей с уровнем жиров и витаминов обнаруживала окисленная форма глутатиона. Известно, что основные свои функции глутатион выполняет в восстановленной форме, в том числе защищает клеточные структуры от повреждений, усиливает инактивацию гидроперекисей и других токсичных продуктов окисления, выполняет цистеин-резервирующую и синергетическую функции, включается в редокс-регуляцию экспрессии генов, воспаления и иммунных реакций и т.д. [44]. Накопление GSSG может способствовать выраженным дисфункциональным нарушениям и свидетельствовать о сбое в работе тиолзависимых ферментов. Отрицательные зависимости между содержанием GSSG и витаминов могут указывать на нарушения взаимодействия различных звеньев системы АОЗ, опосредованных низким поступлением указанных компонентов с пищей.

Заключение

Для подростков, проживающих на территории сельского поселения, характерен нерациональный тип питания с недостаточностью потребления белковой пищи, преобладанием углеводного компонента, витаминным, макро- и микроэлементным дисбалансом. Дефицит витаминов различных классов в рационе питания подростков коррелировал с биомаркерами АОЗ в крови, в частности, интегральным показателем АОЗ, содержанием α-токоферола, тиол-дисульфидных компонентов. Расчетные данные потребления витаминов позволяют выявить алиментарные отклонения в питании подростков и связать их с реальной обеспеченностью организма данными метаболитами. В связи с этим актуальным становится адекватный контроль состояния питания подросткового населения сельской местности, а также организация массовой профилактической антиоксидантной коррекции путем назначения витаминно-минеральных добавок.

Список литературы

1. Карпова О.Б., Щепин В.О., Загоруйченко А.А. Региональные особенности здоровья подростков в Российской Федерации в 2012–2018 гг. *Рос. вестн. перинатол. и педиатрии*. 2021;66(4):89–94. doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-4-89-94
2. Попова А.Ю., Шевкун И.Г., Яновская Г.В., Новикова И.И. Гигиеническая оценка организации питания школьников в общеобразовательных организациях Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания*. 2022;30(2):7–12. doi: 10.35627/2219-5238/2022-30-2-7-12
3. Хабриев Р.У., Ягудина Р.И., Рашид М.А., Аринина Е.Е. Факторы риска для здоровья подростков: результаты массового опроса. *Рос. вестн. перинатол. и педиатрии*. 2020;65(3):91–99. doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-3-91-99
4. Лебедева У.М., Батгахов П.П., Степанов К.М., Лебедева А.М., Занковский С.С., Булгакова Л.И., Винокурова Д.М. Организация питания детей и подростков на региональном уровне. *Вопр. питания*. 2018;87(6):48–56. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10066
5. Баранов А.А., Альбицкий В.Ю. Состояние здоровья детей России, приоритеты его сохранения и укрепления. *Казан. мед. ж.* 2018;99(4):698–705. doi: 10.17816/KMJ2018-698
6. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Терлецкая Р.Н., Байбарина Е.Н., Чумакова О.В., Устинова Н.В., Антонова Е.В., Вишнева Е.А. Результаты профилактических медицинских осмотров несовершеннолетних в Российской Федерации. *Рос. педиатр. ж.* 2016;19(5):287–293. doi: 10.18821/1560-9561-2016-19(5)-287-293
7. Сорвачева Т.Н., Мартинчик А.Н., Пырьева Е.А. Комплексная оценка фактического питания и пищевого статуса детей и подростков: учебное пособие. М.: ГБОУ ДПО РМАПО, 2014. 73 с.
8. Рахманов Р.С., Блинова Т.В., Тарасов А.В., Шумских Д.С. Антиоксидантная система как перспективное направление в оценке состояния и прогнозировании здоровья населения. *Гигиена и сан.* 2014;93(6):91–94.
9. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога. *Бюл. сиб. мед.* 2017;16(4):16–29. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29
10. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В., Шенин В.А., Дутова С.В., Гребенкина Л.А., Долгих М.И. Про- и антиоксидантный статус у подростков – тофов и европеоидов. *Изв. Самар. науч. центра РАН*. 2010;12(1–7):1687–1691.
11. Поварова О.В., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Метаболические маркеры и окислительный стресс в патогенезе ожирения у детей. *Рос. вестн. перинатол. и педиатрии*.

- 2020;65(1):22–29. doi: 10.21508/1027–4065–2020–65–1–22–29
12. Даренская М.А., Рычкова Л.В., Колесников С.И., Кравцова О.В., Семенова Н.В., Бричагина А.С., Колесникова Л.И. Изменения в системе липопероксидации при базовой терапии экзогенно-конституционального ожирения у подростков разного пола. *Вопр. дет. диетол.* 2021;20(1):5–11. doi: 10.20953/1727-5784-2022-1-5-11
13. Колесникова Л.И., Сутурина Л.В., Лябыгина А.В., Осипова Е.В., Лещенко О.Я., Загарских Е.Ю., Шолохов Л.Ф., Петрова В.А., Надеяева Я.Г., Аталян А.В., ... Даренская М.А. Состояние репродуктивного здоровья, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у подростков, проживающих в крупном промышленном центре Ангарск. *Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН.* 2005;(5):42–47.
14. Magdalena A., Pop P.A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *Eur. J. Med. Chem.* 2015;97(5):55–74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040
15. Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Rychkova L.V., Kravtsova O.V., Grebenkina L.A., Osipova E.V., Kolesnikov S.I., Kolesnikova L.I. The assessment of oxidative stress intensity in adolescents with obesity by the integral index. *International Journal of Biomedicine.* 2018;8(1):37–41. doi: 10.21103/Article8(1)_OA5
16. Мартинчик А.Н., Батулин А.К., Феоктистова А.И., Свяховская И.В. Методические рекомендации по оценке количества потребляемой пищи методом 24-часового (суточного) воспроизведения питания. Утв. Зам. Главного государственного санитарного врача РФ 26 февраля 1995 г., № С1-19/14-17. М., 1996.
17. Мартинчик А.Н., Батулин А.К., Баева В.С. Альбом порций продуктов и блюд. М.: НИИ питания РАМН, 1995. 64 с.
18. Таблицы калорийности продуктов. Режим доступа: https://health-diet.ru/table_calorie/
19. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопр. мед. химии.* 1989;35(1):127–131.
20. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой. *Вопр. мед. химии.* 1987;33(1):118–122.
21. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Комаров О.С., Владимиров Ю.А. Оценка АОА плазмы крови с применением желточных липопротеидов. *Лаб. дело.* 1988;(5):59–62.
22. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови. *Лаб. дело.* 1984;(6):362–365.
23. Hisin P.J., Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 1976;74(1):214–226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2
24. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 1972;247(10):3170–3175.
25. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Осипова Е.В., Долгих М.И., Натяганова Л.В. Состояние антиоксидантного статуса у детей разного возраста. *Вопр. питания.* 2013;82(4):27–33.
26. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ STATISTICA. М.: Медиа сфера, 2006. 312 с.
27. Рычкова Л.В., Долгих О.А., Погодина А.В., Астахова Т.А., Аюрова Ж.Г. Питание подростков – жителей сельских районов Республики Бурятия. *Acta Biomed. Sci.* 2021;6(4):160–172. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.14
28. Назарова Л.Ш., Даукаев Р.А., Каримов Д.О., Мусабилов Д.Э., Смолянкин Д.А., Зиатдинова М.М., Бакиров А.Б. Мониторинг состояния питания подростков и их родителей в г. Уфе и Уфимском районе Республики Башкортостан. *Мед. труда и экол. человека.* 2022;(1):206–219. doi: 10.24411/2411-3794-2022-10114
29. Клещина Ю.В. Мониторинг состояния здоровья и фактического питания современных подростков. *Рос. педиатр. ж.* 2011;(2):38–41.
30. Елисеева Ю.В., Истомина А.В., Елисеев Ю.Ю. Региональные особенности питания подростков. *Вопр. питания.* 2016;85(S2):159.
31. Ефимова Н.В., Мильникова И.В., Туров В.М. Питание школьников, проживающих на городских и сельских территориях Иркутской области. *Экол. человека.* 2020;(3):23–30. doi: 10.33396/1728-0869-2020-3-23-30
32. Организация питания детей дошкольного и школьного возраста в организованных коллективах. Методические рекомендации МР 2.4.5.0107–15. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016. 14 с.
33. Евсеева С.А., Егорова А.Г., Саввина М.С., Бурцева Т.Е., Слободчикова М.П. Особенности питания детей школьного возраста в сельской местности РС (Я). *Якут. мед. ж.* 2019;(4):78–81. doi: 10.25789/УМЖ.2019.68.22
34. Салдан И.П., Филиппова С.П., Турчанинов Д.В., Околелова О.В., Вильмс Е.А. Гигиеническая оценка эффективности региональной программы модернизации школьного питания в Алтайском крае. *Гигиена и сан.* 2014;93(4): 95–100.
35. Fauser J.K., Prisciandaro L.D., Cummins A.G., Howarth G.S. Fatty acids as potential adjunctive col-

orectal chemotherapeutic agents. *Cancer Biol. Ther.* 2011;11(8):724–731. doi: 10.4161/cbt.11.8.15281

36. Глазырина А.А., Щербакова М.Ю., Денисова С.Н., Колтунов И.Е., Овсянников Д.Ю. *Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.* 2014;59(2):48–53.

37. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Ма-зо В.К. Витамины и окислительный стресс. *Вопр. питания.* 2013;82(3):11–18.

38. Коденцова В.М. Применение мульти-витаминов в питании детей с современных позиций. *Педиатрия. Consil. Med.* 2017;(3):21–25.

39. Торшин И.Ю., Лиманова О.А., Сарда-рян И.С., Громова О.А., Малявская С.И., Гришина Т.Р., Галустян А.Н., Волков А.Ю., Калачева А.Н., Громов А.Н., Рудаков К.В. Обеспеченность витамином D детей и подростков 7–14 лет и взаимосвязь дефицита витамина D с нарушениями здоровья детей: анализ круп-номасштабной выборки пациентов посредством интеллектуального анализа данных. *Педиатрия. Ж. им. Г.Н. Сперанского.* 2015;94(2):175–184.

40. Бурцева Т.И. О поступлении биоэлементов с рационами питания у подростков в г. Оренбурге. *Микроэлементы в мед.* 2005;6(4):31–36.

41. Талашова С.В. Витаминно-минеральная коррекция в пубертатный период. *Вопр. соврем. педиатрии.* 2009;8(3):120–22.

42. Суворова А.В., Якубова И.Ш., Черныкина Т.С. Динамика состояния здоровья детей и подростков Санкт-Петербурга за 20-летний период. *Гигиена и сан.* 2017;96(4):332–338. doi: 10.18821/0016-9900-2017-96-4-332-338

43. Гизингер О.А., Дадали В.А. Свобод-норадикальное, перекисное окисление и природные антиоксиданты. *Терапевт.* 2021;(9):36–44. doi: 10.33920/MED-12-2109-04

44. Бикбулатова Л.Н., Корчин В.И., Корчи-на Т.Я. Корреляционные связи между показателями окислительного метаболизма и микронутриентами с антиоксидантным спектром действия у взрослых некоренных жителей Ямало-Ненецкого автономного округа. *Человек. Спорт. Медицина.* 2021;21(4):14–21. doi: 10.14529/hsm210402

References

1. Karpova O.B., Shchepin V.O., Zagoruychenko A.A. Regional characteristics of adolescent health in the Russian Federation in 2012–2018. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian bulletin of perinatology and pediatrics.* 2021;66(4):89–94. [In Russian]. doi: 10.21508/1027–4065–2021–66–4–89–94

2. Popova A.Yu., Shevkun I.G., Yanovskaya G.V., Novikova I.I. Hygienic assessment of organizing school nutrition in the Russian Federation. *Zdorov'ye naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment.* 2022;30(2):7–12. [In Russian]. doi: 10.35627/2219-5238/2022-30-2-7-12

3. Khabriev R.U., Yagudina R.I., Rashid M.A., Arinina E.E. Risk factors of adolescent health: mass poll results. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian bulletin of perinatology and pediatrics.* 2020;65(3):91–99. [In Russian]. doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-3-91-99

4. Lebedeva U.M., Battakhov P.P., Stepanov K.M., Lebedeva A.M., Zankovsky S.S., Bulgakova L.I., Vinokurova D.M. Organization of nutrition of children and adolescents at the regional level. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition.* 2018;87(6):48–56. [In Russian]. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10066

5. Baranov A.A., Albitskiy V.Yu. State of health of children in Russia, priorities of its preservation and improving. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal.* 2018;99 (4):698–705. [In Russian]. doi: 10.17816/KMJ2018-698

6. Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Terletskaia R.N., Baybarina E.N., Chumakova O.V., Ustinova N.V., Antonova E.V., Vishneva E.A. Results of preventive medical examinations of minors in the Russian Federation. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal = Russian Pediatric Journal.* 2016;19(5):287–293. [In Russian]. doi: 10.18821/1560-9561-2016-19(5)-287-293

7. Sorvacheva T.N., Martinchik A.N., Pyr'eva E.A. Comprehensive assessment of the actual nutrition and nutritional status of children and adolescents: A study guide. Moscow: GBOU DPO RMAPO, 2014. 73 p. [In Russian].

8. Rakhmanov R.S., Blinova T.V., Tarasov A.V., Shumskikh D.S. Antioxidant system as a perspective direction in the assessment of the state and prognosis of population health. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation.* 2014;93(6):91–94. [In Russian].

9. Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Kolesnikov S.I. Free radical oxidation: a pathophysiological view. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine.* 2017;16(4):16–29. [In Russian]. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16–29

10. Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Dolgikh V.V., Shenin V.A., Dutova S.V., Grebenkina L.A., Dolgikh M.I. Pro- and antioxidative status at teenagers – tofs and europoid. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk = Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* 2010;12(1–7):1687–1691. [In Russian].

11. Povarova O.V., Gorodetskaya E.A., Kalenikova E.I., Medvedev O.S. Metabolic markers and oxidative stress in children's obesity pathogenesis. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics.* 2020;65(1):22–29. [In Russian]. doi: 10.21508/1027–4065–2020–65–1–22–29

12. Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Kolesnikov S.I., Kravtsova O.V., Semenova N.V., Brichagina A.S., Kolesnikova L.I. Changes in lipid peroxidation system during standard therapy for exogenous consti-

- tutional obesity in adolescents of different sex. *Voprosy detskoy dietologii = Pediatric Nutrition*. 2022;20(1):5–11. [In Russian]. doi: 10.20953/1727-5784-2022-1-5-11
13. Kolesnikova L.I., Suturina L.V., Labygina A.V., Osipova E.V., Leshenko O.Ya., Zagarskich E.Yu., Fedorov B.A., Dolgih M.I., Sholohov L.F., Petrova V.A., ... Darenskaia M.A. Reproductive status, lipid peroxidation and antioxidation system in teenagers, living in large industrial center Angarsk. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Bulletin of East Siberian Scientific Center of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences*. 2005;(5):42–47 [In Russian].
14. Magdalena A., Pop P.A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *Eur. J. Med. Chem.* 2015;97(5):55–74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040
15. Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Rychkova L.V., Kravtsova O.V., Grebenkina L.A., Osipova E.V., Kolesnikov S.I., Kolesnikova L.I. The assessment of oxidative stress intensity in adolescents with obesity by the integral index. *International Journal of Biomedicine*. 2018;8(1):37–41. doi: 10.21103/Article8(1)_OA5
16. Martinchik A.N., Baturin A.K., Feoktistova A.I., Svyakhovskaya I.V. Methodical recommendations for estimating the amount of food consumed by the method of 24-hour (diurnal) reproduction of nutrition. Approved. Deputy. Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation 26 February 1995, N. 1-19/14-17. Moscow, 1996. [In Russian].
17. Martinchik A.N., Baturin A.K., Baeva V.S. Food portion album. Moscow, 1995. 64 p. [In Russian].
18. Caloric content of products. Available at: https://health-diet.ru/table_calorie/ [In Russian].
19. Volchegorskii I.A., Nalimov A.G., Yarovinskii B.G., Lifshits R.I. Comparison of different approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol blood extracts. *Voprosy meditsinskoy khimii = Problems of Medical Chemistry*. 1989;35(1):127–131. [In Russian].
20. Gavrilov V.B., Gavrilova A.R., Mazhul' L.M. Analysis of methods for determining products of lipid peroxidation in blood serum according to the test with thiobarbituric acid. *Voprosy meditsinskoy khimii = Problems of Medical Chemistry*. 1987;33(1):118–122. [In Russian].
21. Klebanov G.I., Babenkova I.V., Teselkin Yu.O., Komarov O.S., Vladimirov Yu.A. Estimation of blood plasma AOA using yolk lipoproteins. *Laboratornoe delo = Laboratory Business*. 1988;(5):59–62. [In Russian].
22. Chernyauskene R.Ch., Varshkyavichene Z.Z., Gribauskas P.S. Simultaneous determination of the concentrations of vitamins E and A in blood serum. *Laboratornoe delo = Laboratory Business*. 1984;(6):362–365. [In Russian].
23. Hisin P.J., Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 1976;74(1):214–226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2
24. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* 1972;247(10):3170–3175.
25. Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Grebenkina L.A., Osipova E.V., Dolgikh M.I., Natyaganova L.V. The state of the antioxidant status of children of different ages. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2013;82(4):27–33. [In Russian].
26. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTIC software package. Moscow: Media sfera, 2006. 312 p. [In Russian].
27. Rychkova L.V., Dolgikh O.A., Pogodina A.V., Astakhova T.A., Ayurova Zh.G. Dietary intake in indigenous adolescents in rural Buryatia, Russia. *Acta Biomedica Scientifica*. 2021;6(4):160–172. [In Russian]. doi: 10.29413/ABS.2021-6.4.14
28. Nazarova L.Sh., Daukaev R.A., Karimov D.O., Musabirov D.E., Smolyankin D.A., Ziatdinova M.M., Bakirov A.B. The nutritional status monitoring of adolescents and their parents in the city of Ufa and the Ufa district of the Republic of Bashkortostan. *Meditsina truda i ekologiya cheloveka = Occupational Medicine and Human Ecology*. 2022;(1):206–219. [In Russian]. doi: 10.24411/2411-3794-2022-10114
29. Kleshchina Yu.V. Monitoring the health status and actual nutrition of modern adolescents. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal = Russian Pediatric Journal*. 2011;(2):38–41. [In Russian].
30. Eliseeva Yu.V., Istomin A.V., Eliseev Yu.Yu. Regional nutritional characteristics of adolescents. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2016;85(S2):159. [In Russian].
31. Efimova N.V., Myl'nikova I.V., Turov V.M. Nutrition patterns in urban and rural schoolchildren of Irkutsk region. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology*. 2020;(3):23–30. [In Russian]. doi: 10.33396/1728-0869-2020-3-23-30
32. Organization of nutrition for children of preschool and school age in organized groups. Guidelines MR 2.4.5.0107–15. Moscow, 2016. 14 p. [In Russian].
33. Evseeva S.A., Egorova A.G., Savvina M.S., Burtseva T.E., Slobodchikova M.P. Dietary habits of school children in rural areas of the Republic of Sakha (Yakutia). *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal*. 2019;(4):78–81. [In Russian]. doi: 10.25789/YMJ.2019.68.22
34. Saldan I.P., Filippova S.P., Turchaninov D.V., Okolelova O.V., Vilms E.A. Hygienic evaluation of the efficacy of the regional program of the modernization of school meals (on the example of Altai Krai). *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*. 2014;93(4):95–100. [In Russian].

35. Fauser J.K., Prisciandaro L.D., Cummins A.G., Howarth G.S. Fatty acids as potential adjunctive colorectal chemotherapeutic agents. *Cancer Biol. Ther* 2011;11(8):724–731. doi: 10.4161/cbt.11.8.15281

36. Glazyrina A.A., Shcherbakova M.Yu., Denisova S.N., Koltunov I.E., Ovsyannikov D.Yu. The role of polyunsaturated fatty acid metabolism in overweight and obese children and adolescents. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2014;59(2):48–53. [In Russian].

37. Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Mazo V.K. Vitamins and oxidative stress. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2013;82(3):11–18. [In Russian].

38. Kodentsova V.M. Modern position of the use of multivitamins in children nutrition. *Pediatriya. Consilium Medicum = Pediatrics. Consilium Medicum*. 2017;(3):21–25. [In Russian].

39. Torshin I.Yu., Limanova O.A., Sardaryan I.S., Gromova O.A., Malyavskaya S.I., Grishina T.R., Galustyan A.N., Volkov A.Yu., Kalacheva A.G., Gromov A.N., Rudakov K.V. Provision of vitamin D in children and adolescents aged 7 to 14 years and the relationship of deficiency of vitamin D with violations of children's health: the analysis of a large-scale sample of patients by means of data mining. *Pediatriya. Zhurnal*

imeni Georgiya Nestorovicha Speranskogo = Pediatrics. Journal named after Georgy Nestorovich Speransky. 2015;94(2):175–184. [In Russian].

40. Burtseva T.I. Etary intake of bioelements in orenburg teenagers. *Mikroelementy v meditsine = Trace Elements in Medicine*. 2005;6(4):31–36. [In Russian].

41. Talashova S.V. Vitamin and mineral correction in pubertal period. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*. 2009;8(3):120–122. [In Russian].

42. Suvorova A.V., Iakubova I.Sh., Chernyakina T.S. Dynamics of indices of the state of health of children and adolescents in the city of St. Petersburg for 20 years. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*. 2017; 96(4): 332–338. [In Russian]. doi: 10.18821/0016-9900-2017-96-4-332-338

43. Gizinger O.A., Dadali V.A. Free radical peroxidation and natural antioxidant. *Terapevt = Therapist*. 2021;(9):36–44. [In Russian]. doi 10.33920/MED-12-2109-04

44. Bikbulatova L.N., Korchin V.I., Korchina T.Ya. Correlation between oxidative metabolism and micronutrients with antioxidant activity in Yamalo-Nenets Autonomous District Adults. *Chelovek. Sport. Meditsina = Human. Sport. Medicine*. 2021;21(4):14–21. [In Russian]. doi: 10.14529/hsm210402

Информация об авторах:

Марина Александровна Даренская, д.б.н., проф. РАН, ORCID: 0000-0003-3255-2013,

e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Любовь Владимировна Рычкова, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, ORCID: 0000-0003-2910-0737,

e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Татьяна Александровна Астахова, к.м.н., ORCID: 0000-0003-1427-4734, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Анна Валерьевна Погодина, д.м.н., ORCID: 0000-0001-8533-3119, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Ольга Александровна Долгих, ORCID: 0000-0002-2850-9066, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Юлиана Николаевна Климкина, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Любовь Ильинична Колесникова, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0003-3354-2992,

e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Information about the authors:

Marina A. Darenskaya, doctor of biological sciences, professor of the RAS, ORCID: 0000-0003-3255-2013,

e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Lyubov V. Rychkova, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0003-2910-0737,

e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Tatyana A. Astakhova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-1427-4734, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Anna V. Pogodina, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-8533-3119, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Olga A. Dolgikh, ORCID: 0000-0002-2850-9066, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Yuliana N. Klimkina, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Lyubov I. Kolesnikova, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0003-3354-2992,

e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Поступила в редакцию 27.05.2022

Принята к публикации 18.07.2022

Received 27.05.2022

Accepted 18.07.2022

Хронотропное действие иммобилизованных субтилизинов при перфузии изолированного сердца крысы

Г.И. Байкалов^{1,2}, Н.П. Леонов¹, П.Г. Мадонов^{1,2}, К.И. Ершов^{1,2}, К.И. Бахарева¹, М.С. Солдатова¹

¹ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Резюме

Преференциальным способом оценки первичной фармакодинамики исследуемых препаратов являются фармакологические эксперименты на изолированных органах (*ex vivo*), так как данный способ полностью исключает системное влияние нейрогуморальной регуляции. В последнее десятилетие сформировалась новая группа тромболитических лекарственных препаратов на основе иммобилизованных субтилизинов. На этапе регистрационных доклинических и клинических исследований их плеiotропные фармакологические эффекты не изучались. Между тем есть основания считать, что их фармакологическая активность в кровеносном русле не ограничивается тромболитическим действием, а может оказаться расширенной до системного воздействия на сердечно-сосудистую систему. Цель исследования – изучить хронотропные эффекты изолированного сердца при его перфузии растворами иммобилизованных субтилизинов в разных концентрациях. **Материал и методы.** В исследовании использована модель изолированного сердца крысы по Лангендорфу. В эксперимент включено 50 крыс линии Вистар, разделенных на пять групп: выделенные сердца, перфузируемые только раствором Кребса – Хензеляйта (контроль) или иммобилизованными субтилизинами в четырех концентрациях (170, 340, 510 и 1020 Ед/л). **Результаты и их обсуждение.** Иммобилизованные субтилизины обладают отрицательным хронотропным эффектом. Начало эффекта зависит от концентрации препарата в растворе: чем она больше, тем раньше проявляется эффект. С 5-й по 10-ю минуту перфузии отрицательный хронотропный эффект отмечается при применении иммобилизованных субтилизинов в любой дозе. Длительность его нарастания проявляется до 10–20 минуты в зависимости от концентрации препарата в растворе. После 20-й минуты перфузии достигнутый отрицательный хронотропный эффект сохраняется на уровне плато до 40-й минуты. **Заключение.** Иммобилизованные субтилизины обладают самостоятельным фармакологическим эффектом на частоту сердечных сокращений.

Ключевые слова: иммобилизованные субтилизины, тромбовазим, изолированное сердце, частота сердечных сокращений.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Байкалов Г.И., e-mail: gbaikalov@yandex.ru

Для цитирования: Байкалов Г.И., Леонов Н.П., Мадонов П.Г., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С. Хронотропное действие иммобилизованных субтилизинов при перфузии изолированного сердца крысы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(5):37–42. doi: 10.18699/SSMJ20220505

Chronotropic action of immobilized subtilisins during the perfusion of an isolated rat heart

G.I. Baikalov^{1,2}, N.P. Leonov¹, P.G. Madonov^{1,2}, K.I. Ershov^{1,2}, K.I. Bakhareva¹, M.S. Soldatova¹

¹ Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
Branch of Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2

² Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

Abstract

The pharmacological experiments on isolated organs (*ex vivo*) are the preferred method for assessing the primary pharmacodynamics of the studied drugs, since this method is completely excluded the systemic influence of neurohumoral regulation. In the last decade, a new group of thrombolytic drugs based on immobilized subtilisins has been formed. At the stage of registrational preclinical and clinical studies, their pleiotropic pharmacological effects have not been studied. Meanwhile, there is a reason to consider that their pharmacological activity in the bloodstream is not limited to thrombolytic action, but may be extended to a systemic effect on the cardiovascular system. The aim of the study was to investigate the chronotropic effects of an isolated heart during its perfusion with solutions of immobilized subtilisins at different concentrations. **Material and methods.** The isolated rat heart model according to Langendorff was used in the study. The experiment included 50 Wistar rats, which were divided into 5 groups: isolated hearts perfused only with Krebs – Henseleit solution (control) or with immobilized subtilisins in 4 concentrations (170, 340, 510 и 1020 U/l). **Results and discussion.** The immobilized subtilisins have a negative chronotropic effect. The onset of the effect depends on the drug concentration in the solution: the higher concentration, the earlier effect. From 5 to 10 minutes of perfusion, a negative chronotropic effect is observed using of immobilized subtilisins at any dose. The duration of its increase is manifested up to 10–20 minutes, depending on the drug concentration in solution. After 20 minutes of perfusion, the achieved negative chronotropic effect remains at a plateau level up to 40 minutes. **Conclusion.** The immobilized subtilisins have an independent pharmacological effect on heart rate.

Key words: immobilized subtilisins, trombovazim, isolated heart, heart rate.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Baikalov G.I., e-mail: gbaikalov@yandex.ru

Citation: Baikalov G.I., Leonov N.P., Madonov P.G., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S. Chronotropic action of immobilized subtilisins during the perfusion of an isolated rat heart. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):37–42. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220505

Введение

Преференциальным способом оценки первичной фармакодинамики исследуемых препаратов являются фармакологические эксперименты на изолированных органах (*ex vivo*), так как данный способ полностью исключает системное влияние нейрогуморальной регуляции. В частности, эксперименты на изолированном сердце по Лангендорфу применяются в фармакологии многие десятилетия, и интерес к этому методу остается широким [1–8].

В последнее десятилетие сформировалась новая группа тромболитических лекарственных препаратов на основе иммобилизованных субтилизинов (ИмСубт). В России зарегистрированы две лекарственные формы под торговым наименованием «Тромбовазим»: лиофилизат для приготовления инфузионного раствора (в качестве тромболитика для лечения острого инфаркта миокарда) и пероральная форма (для лечения венозной недостаточности, с тромболитическим механизмом действия). Первичной фармакодинамикой является прямое фибринолитическое действие на фибриновый каркас тромба протео-

литического фермента субтилизина. Химические и фармакологические свойства субтилизина как фибринолитического/тромболитического агента и применение ИмСубт в клинической практике описаны в литературе [9–14].

Лекарственный препарат на основе ИмСубт позиционируется и зарегистрирован как тромболитик. На этапе регистрационных доклинических и клинических исследований его плеiotропные фармакологические эффекты не изучались. Между тем есть основания считать, что его фармакологическая активность в кровеносном русле не ограничивается тромболитическим действием, а может оказаться расширенной до системного воздействия на сердечно-сосудистую систему. Авторы запланировали и провели несколько экспериментов по определению плеiotропных эффектов ИмСубт. В данной публикации представлены данные о влиянии ИмСубт на частоту сердечных сокращений (ЧСС) изолированного сердца крысы по Лангендорфу.

Цель исследования – изучить хромотропные эффекты изолированного сердца при его перфузии растворами ИмСубт в разных концентрациях.

Материал и методы

В экспериментальной работе использована фармацевтическая субстанция лекарственного препарата «Тромбовазим» (АО «СЦФБ», г. Новосибирск), представляющая собой лиофилизат для последующего растворения. Протеолитическая активность ИмСубт составляла 6010 Ед/г. Концентрация ИмСубт в перфузионном растворе моделировала диапазон доз от однократной терапевтической для энтерального приема с постепенным увеличением до однократной терапевтической при внутривенном введении. Доза ИмСубт представляет собой протеолитическую активность фермента в соответствии с фармакопейной статьей предприятия-изготовителя.

Эксперименты проведены на 50 лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой 280–320 г, возраст 2–3 месяца. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе и свободном доступе к воде и пище. Условия содержания и манипуляции с животными соответствуют стандартам, указанным в нормативных документах, регламентирующих работу с лабораторными животными (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н – Правила надлежащей лабораторной практики, Хельсинкская декларация всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996)); проведение исследования одобрено комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета Минздрава России (протокол № 143 от 24 марта 2022 г.).

Было сформировано пять экспериментальных групп, по 10 животных в каждой: сердца, перфузируемые только раствором Кребса – Хензеляйта (контроль) или иммобилизованными субтилизинами в четырех концентрациях (170, 340, 510 и 1020 Ед/л).

Животных гепаринизировали (внутрибрюшинно 500 ЕД), через 1 час декапитировали, удаляли кожный покров с грудной клетки и производили доступ к сердцу. Затем сердце быстро извлекали и помещали в емкость с охлажденным ($t = 0$ °С) перфузионным раствором Кребса – Хензеляйта. После прекращения сокращений выделяли аорту и вводили канюлю. Для исключения попадания пузырьков воздуха в коронарное русло сердце промывали через аортальную канюлю при помощи шприца, заполненного перфузионным раствором. После этапа промывки сердце подсоединяли к системе. Коронарная перфузия ИмСубт изолированного сердца проводилась по методике Лангендорфа [1] под постоянным давлением 80 мм рт. ст. Базовым растворителем и контрольным перфузионным препаратом был

раствор Кребса – Хензеляйта (рН 7,4, температура 37,5 °С). Оксигенация сердца обеспечивалась насыщением перфузионного раствора карбогеном (95 % O_2 и 5 % CO_2). Выделенное сердце работало не менее 15 минут без рециркуляции перфузионного раствора до установления постоянных показателей давления в левом желудочке и частоты сокращений. Затем в перфузионный раствор вносили исследуемый компонент, сердце работало в режиме рециркуляции в течение 40 мин; на 5-, 10-, 20-, 30-, 40-й минуте перфузии регистрировали ЧСС.

ЧСС рассчитывали, определяя на графике количество пиков максимального давления в левом желудочке за 6 с (цифровой самописец DiSco 2, «Мотор-Тестер», Россия), по окончании периода отмывки сердца до внесения раствора ИмСубт и непосредственно в его присутствии на 5-, 10-, 20-, 30-, 40-й минуте перфузии.

Величина ЧСС в группах на этапах исследования, а также разность между этапами исследования (ΔT) представлены как медиана и межквартильные диапазоны (Ме [Q1; Q3]). Проверка нормальности распределения количественных признаков проведена с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для данных, имеющих нормальное распределение, использовался F-тест для проверки предположения об однородности дисперсий. Для межгруппового сравнения повторных измерений использован дисперсионный анализ повторных измерений (RM-ANOVA). Учитывая, что часть данных имела отличное от нормального распределение и некоторые данные показывали негомогенность дисперсий, перед проведением RM-ANOVA выполнена логарифмическая трансформация данных. При выполнении RM-ANOVA оценивался поправочный коэффициент сферичности Гринхауса – Гейссера, применяемый к степеням свободы, используемым для расчета p -значения для наблюдаемого значения F . Результаты RM-ANOVA представлены как межгрупповой эффект – BSE (разница между группами) и внутригрупповые эффекты WSE (F – разница между измерениями и G^*F – разница между измерениями в зависимости от принадлежности к группе). После выполнения RM-ANOVA при наличии значимых ($p < 0,05$) межгрупповых и внутригрупповых эффектов выполнены апостериорный анализ: тест Фридмана – для внутригруппового анализа повторных измерений с последующим апостериорным сравнением с помощью теста Вилкоксона с применением поправки Бонферрони к p -значению, тест Краскела – Уоллиса – для межгруппового анализа количественных показателей с последующим

Таблица 1. Величина ЧСС в группах исследования, уд/мин

Table 1. Heart rate in the studied groups, bpm

| Группа | 0 мин | 5 мин | 10 мин | 20 мин | 30 мин | 40 мин | p_1 |
|---------------------|-------------------|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------|
| ИмСубт 170 ЕД/л | 220 [200; 250] | 210 [200; 250] | 210 [190; 240]* | 205 [190; 230]*.# | 205 [190; 230]*.# | 210 [190; 220]*.# | < 0,001 |
| ИмСубт 340 ЕД/л | 225 [210; 250] | 225 [210; 240] | 215 [200; 240]*.# | 215 [200; 230]*.# | 210 [200; 230]*.# | 205 [190; 220]*.# | < 0,001 |
| ИмСубт 510 ЕД/л | 220 [220; 240] | 210 [200; 230]# | 210 [200; 230]*.# | 200 [190; 220]*.# | 200 [190; 220]*.# | 200 [200; 220]*.# | < 0,001 |
| ИмСубт 1020 ЕД/л | 220 [210; 220] | 215 [200; 220]# | 210 [190; 210]*.# | 200 [190; 210]*.# | 200 [200; 210]*.# | 195 [190; 210]*.# | < 0,001 |
| Контроль | 232 [215; 246] | 233 [215; 246] | 243 [232; 259]# | 242 [224; 251]# | 247 [2325; 259]# | 242 [228; 254]# | < 0,001 |
| p_2 | 0,67 | 0,25 | 0,01 | 0,003 | 0,0006 | 0,0004 | |

Примечание. Индекс сферичности Гринхауса – Гейссера 0,791; BSE-G $F = 3,98$, $p = 0,008$; WSE-F $F = 48,93$, $p < 0,001$; WSE-F*G $F = 11,92$, $p < 0,001$; p_1 – тест Фризмана; p_2 – тест Краскела – Уоллиса; * – $p < 0,05$ (тест Коновера, сравнение с группой контроля); # – $p < 0,0083$ (тест Вилкоксона, сравнение с начальным этапом).

апостериорным сравнением с помощью теста Коновера – Имана.

Результаты и их обсуждение

Как видно из табл. 1, перфузия изолированного сердца крысы раствором ИмСубт в течение 40 минут приводит к снижению ЧСС независимо от концентрации исследуемого препарата по сравнению с группой контроля (перфузии сердца раствором Кребса – Хензеляйта). Для детального анализа динамики изменений ЧСС выполнен расчет разности изменения частоты сокращения сердца (ΔT) между этапами исследования (табл. 2).

Динамика ЧСС в течение первых пяти минут перфузии изолированного сердца раствором ИмСубт демонстрирует начало проявлений отрица-

тельного хронотропного эффекта при использовании доз ИмСубт 510 и 1020 ЕД/л ($p < 0,05$). В дозах 170 и 340 ЕД/л отмечается тенденция к снижению ЧСС, но статистических различий с группой контроля не выявлено. Изменение ЧСС с 5-й по 10-ю минуты эксперимента характеризуется развитием отрицательного хронотропного эффекта при использовании ИмСубт для перфузии изолированного сердца во всех исследуемых концентрациях ($p < 0,05$). При перфузии изолированного сердца во временном промежутке между 10-й и 20-й минутой сохраняется отрицательный хронотропный эффект при перфузии ИмСубт в концентрации 170 и 340 ЕД/л ($p < 0,05$) по сравнению с группой контроля. Между 20-й и 40-й минутой эксперимента наблюдается сохранение достигнутого снижения ЧСС при перфузии всеми иссле-

Таблица 2. Разность (ΔT) изменения ЧСС в зависимости от концентрации и времени перфузии ИмСубтTable 2. Difference (ΔT) of heart rate change depending on the concentration and time of perfusion with immobilized subtilisins

| Группа | ΔT_1 | ΔT_2 | ΔT_3 | ΔT_4 | ΔT_5 | $\Delta T_{\text{общ}}$ |
|------------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|-------------------------|
| ИмСубт 170 ЕД/л | 0 [0; 10] | 5 [0; 10]* | 10 [0; 20]* | 0 [0; 10] | 0 [-10; 0] | 15 [10; 30]* |
| ИмСубт 340 ЕД/л | 0 [0; 10] | 10 [0; 10]* | 0 [0; 10]* | 0 [0; 10] | 10 [0; 10] | 20 [20; 20]* |
| ИмСубт 510 ЕД/л | 10 [10; 20]* | 0 [0; 10]* | 10 [0; 20] | 0 [0; 10] | 0 [-10; 0] | 20 [20; 20]* |
| ИмСубт 1020 ЕД/л | 0 [0; 10]* | 10 [0; 10]* | 0 [0; 10] | 0 [0; 10] | 5 [-10; 10] | 20 [10; 30]* |
| Контроль | 0 [-2; 0] | -10 [-17; -5] | 0 [-5; 8] | -5 [8; 0] | 2 [-2; 7] | -14 [-15; -7] |
| p | 0,0052 | 0,0001 | 0,0283 | 0,2 | 0,13 | <0,0001 |

Примечание. ΔT_1 , ΔT_2 , ΔT_3 , ΔT_4 , ΔT_5 , $\Delta T_{\text{общ}}$ – разность между величинами ЧСС на нулевой и пятой, пятой и десятой, десятой и двадцатой, двадцатой и тридцатой, тридцатой и сороковой, нулевой и сороковой соответственно; p – тест Краскела – Уоллиса; * – $p < 0,05$ (тест Коновера, сравнение с группой контроля).

двумя концентрациями ИмСубт по сравнению с перфузией раствором Кребса – Хензеляйта (см. табл. 1), но дальнейших динамических изменений ЧСС по сравнению с контрольной группой не наблюдается (см. табл. 2). Это свидетельствует о достижении максимального отрицательного хронотропного эффекта при использовании ИмСубт в исследуемых концентрациях после 20-й минуты и сохранении его в виде плато до конца эксперимента (до 40-й минуты перфузии). Динамика ЧСС на протяжении всего времени эксперимента доказывает эту гипотезу.

Заключение

ИмСубт обладают самостоятельным фармакологическим эффектом на ЧСС. Начало проявления отрицательного хронотропного эффекта зависит от концентрации ИмСубт в растворе – чем она больше, тем раньше обнаруживается эффект. С 5-й по 10-ю минуты отрицательный хронотропный эффект ИмСубт отмечается при применении ИмСубт в любой дозе. Длительность его нарастания регистрируется до 10–20-й минуты в зависимости от концентрации препарата в перфузируемом растворе. После 20-й минуты перфузии достигнутый отрицательный хронотропный эффект сохраняется на уровне плато до 40-й минуты.

Список литературы

1. Langendorff O. Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Pflügers Arch.* 1895;61:291–332. doi: 10.1007/BF01812150
2. Королев Д.В., Минасян С.М., Галагудза М.М. Исследовательская установка для регистрации поверхностной электрограммы изолированного сердца лабораторных животных. *Биотехносфера.* 2014;(5):49–53.
3. Торопова Я.Г., Мухамадияров Р.А., Головкин А.С. Влияние различных концентраций липосомальной формы эмоксипина на коронарный поток, сократительную и насосную функции изолированного сердца крысы в условиях тотальной нормотермической ишемии и реперфузии. *Рос. физиол. ж.* 2013;99(7):869–875.
4. Хисамиева Л.И., Чершинцева А.М., Купцова А.М., Зиядинова Н.И., Зефириков Т.Л. Блокада α_2 -адренорецепторов ингибирует работу изолированного по Лангендорфу сердца крысы. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2021;172(9):273–276. doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-273-276
5. Байкалов Г.И., Князев Р.А., Ершов К.И., Бахарева К.И., Солдатова М.С., Мадонов П.Г. Изучение влияния иммобилизованных субтилизинов на коронарный кровоток в эксперименте на изолированном сердце крысы. *J. Sib. Med. Sci.*

2021;(3):56–65. doi: 10.31549/2542-1174-2021-3-56-65

6. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2011;50(6):940–950. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.02.018

7. Olejnickova V., Novakova M., Provaznik I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances. *Med. Biol. Eng. Comput.* 2015;53(7):669–678. doi: 10.1007/s11517-015-1270-2

8. Watanabe M., Okada T. Langendorff perfusion method as an ex vivo model to evaluate heart function in rats. *Methods Mol. Biol.* 2018;1816:107–116. doi: 10.1007/978-1-4939-8597-5_8

9. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Кихтенко Н.В. Химические и фармакологические свойства субтилизинов. *Сиб. науч. мед. ж.* 2016;36(3):13–22.

10. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Киншт Д.Н., Кихтенко Н.В. Таргетная фармакодинамика субтилизинов. *Сиб. науч. мед. ж.* 2016;36(4):15–23.

11. Madonov P., Leont'ev S., Zotov S., Ufimtsev M., Mishenina S., Kinsht D. Initial results of oral thrombolytic agent clinical application. *Proceedings: proc. 25th Biennial international congress on thrombosis, Venice, Italy, May 23–26, 2018. Venice.* 2018;2(9):530. doi: 10.3390/proceedings2090530

12. Мадонов П.Г., Момот А.П., Мамаев А.Н., Ройтман Е.В., Мишенина С.В. Неплазминовый фибринолиз субтилизинами. *Тромбоз, гемостаз и реол.* 2019;(3):24–32. doi: 10.25555/THR.2019.3.0886

13. Мишенина С.В., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Макаров В.К., Мадонов П.Г. Обоснование применения иммобилизованных субтилизинов для таргетной терапии венозных тромбозов. *J. Sib. Med. Sci.* 2020;(1):76–88. doi: 10.31549/2542-1174-2020-1-76-88

14. Мадонов П.Г., Мишенина С.В., Ройтман Е.В., Ищенко Н.А. Фармакологический тромболитизис, что нового? *Тромбоз, гемостаз и реол.* 2020;(2):40–52. doi: 10.25555/THR.2020.2.0917

References

1. Langendorff O. Studies on the surviving mammalian heart. *Pflügers Arch.* 1895;61:291–332. [In German]. doi: 10.1007/BF01812150
2. Korolev D.V., Minasian S.M., Galagudza M.M. Research equipment for registration of surface electrogram of the isolated heart of laboratory animals. *Biotechnosfera = Biotechnosphere.* 2014;(5):49–53. [In Russian].
3. Toropova Ya.G., Mukhamadiyrov R.A., Golovkin A.S. Effect of different concentrations liposomal emoxipine on coronary flow, contractive and pump function of the isolated rat heart after normotermic ischemia and further reperfusion. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova*

= *Russian Journal of Physiology*. 2013;99(7):869–875. [In Russian].

4. Khisamieva L.I., Chershintseva N.N., Kuptsova A.M., Ziyatdinova N.I., Zefirov T.L. Blockade of α_2 -adrenergic receptors inhibits functional parameters of langendorff-isolated rat heart. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;172:288–291. [In Russian]. doi: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-273-276

5. Baikalov G.I., Knyazev R.A., Ershov K.I., Bakhareva K.I., Soldatova M.S., Madonov P.G. Study of the immobilized subtilisins influence on coronary blood flow of an isolated rat heart. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2021;(3):56–65. [In Russian]. doi: 10.31549/2542-1174-2021-3-56-65

6. Bell R.M., Mocanu M.M., Yellon D.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2011;50(6):940–950. doi: 10.1016/j.yjmcc.2011.02.018

7. Olejnickova V., Novakova M., Provaznik I. Isolated heart models: cardiovascular system studies and technological advances. *Med. Biol. Eng. Comput.* 2015;53(7):669–678. doi: 10.1007/s11517-015-1270-2

8. Watanabe M., Okada T. Langendorff perfusion method as an ex vivo model to evaluate heart function in rats. *Methods Mol. Biol.* 2018;1816:107–116. doi: 10.1007/978-1-4939-8597-5_8

9. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. Chemical and pharmacological properties of subtilisins. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*

= *Siberian Scientific Medical Journal*. 2016;36(3):13–22. [In Russian].

10. Madonov P.G., Mishenina S.V., Kinsht D.N., Kikhtenko N.V. Targeted pharmacodynamic of subtilisins. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2016;36(4):15–23. [In Russian].

11. Madonov P., Leont'ev S., Zotov S., Ufimtsev M., Mishenina S., Kinsht D. Initial results of oral thrombolytic agent clinical application. *Proceedings: proc. 25th Biennial international congress on thrombosis, Venice, Italy, May 23–26, 2018. Venice*. 2018;2(9):530. doi: 10.3390/proceedings2090530

12. Madonov P.G., Momot A.P., Mamaev A.N., Roitman E.V., Mishenina S.V. Non-plasmin fibrinolysis with immobilized subtilisins. *Tromboz, gemostaz i reologiya = Thrombosis, Hemostasis and Rheology*. 2019;(3):24–32. [In Russian]. doi: 10.25555/THR.2019.3.0886

13. Mishenina S.V., Baikalov G.I., Baikalova N.E., Makarov V.K., Madonov P.G. Rationale for the use of immobilized subtilisins for targeted therapy of venous thrombosis. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2020;(1):76–88. doi: 10.31549/2542-1174-2020-1-76-88

14. Madonov P.G., Mishenina S.V., Roitman E.V., Ishchenko N.A. Pharmacological thrombolysis: what's new? *Tromboz, gemostaz i reologiya = Thrombosis, Hemostasis and Rheology*. 2020;(2):40–52. [In Russian]. doi: 10.25555/THR.2020.2.0917

Сведения об авторах:

Герман Игоревич Байкалов, ORCID: 0000-0002-5445-9920, e-mail: gbaikalov@yandex.ru

Николай Петрович Леонов, к.м.н., ORCID: 0000-0002-4364-8937, e-mail: nikoleonov@yandex.ru

Павел Геннадьевич Мадонов, д.м.н., ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

Константин Игоревич Ершов, к.б.н., ORCID: 0000-0003-4139-036X, e-mail: ershov_k@bk.ru

Ксения Игоревна Бахарева, ORCID: 0000-0003-2054-1659, e-mail: xeniabahareva@yandex.ru

Марина Сергеевна Солдатова, ORCID: 0000-0003-1050-6921, e-mail: schnuffel-bunny@rambler.ru

Information about the authors:

German I. Baikalov, ORCID: 0000-0002-5445-9920, e-mail: gbaikalov@yandex.ru

Nikolai P. Leonov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-4364-8937, e-mail: nikoleonov@yandex.ru

Pavel G. Madonov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

Konstantin I. Ershov, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-4139-036X, e-mail: ershov_k@bk.ru

Kseniya I. Bakhareva, ORCID: 0000-0003-2054-1659, e-mail: xeniabahareva@yandex.ru

Marina S. Soldatova, ORCID: 0000-0003-1050-6921, e-mail: schnuffel-bunny@rambler.ru

Поступила в редакцию 16.05.2022

Принята к публикации 20.07.2022

Received 16.05.2022

Accepted 20.07.2022

Влияние физических нагрузок на поведенческие реакции крыс при церебральной гипоперфузии

В.В. Криштоп¹, Т.А. Румянцева², В.Г. Никонорова¹, И.В. Фатеев³

¹ Университет ИТМО

191024, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9

² Ярославский государственный медицинский университет Минздрава России

153000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5

³ Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины

Минобороны России

195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4

Резюме

Ряд клинических исследований демонстрирует, что такие индивидуальные особенности, как стрессоустойчивость и уровень когнитивных способностей, могут рассматриваться не только в качестве диагностируемых величин, но и как факторы риска тяжелого протекания церебральной гипоперфузии. Цель исследования – выявление типологических особенностей влияния физических нагрузок на поведенческие реакции крыс при церебральной гипоперфузии. **Материал и методы.** В качестве модели церебральной гипоперфузии использована двусторонняя перевязка сонных артерий. В исследование включено 280 крыс, разделенных на равные подгруппы: по полу, уровню стрессоустойчивости и способности к обучению. Из них 112 животных подвергались ежедневному кратковременному плаванию как модели реабилитационных мероприятий. Перед моделированием, а также на 6-, 8-, 14-, 21-, 28-, 35-, 60- и 90-е сутки после операции животные тестировались при помощи водного лабиринта Морриса и теста «открытое поле». **Результаты и их обсуждение.** Динамика стрессоустойчивости крыс и их способности к обучению связана с периодичностью воспалительных, некротических, гемоциркуляторных и репаративных перестроек в использованной модели. Спустя 2–3 месяца после начала исследования церебральная гипоперфузия вызывает стабилизацию индексов, характеризующих стрессоустойчивость и когнитивные функции ниже контрольных значений. Снижение стрессоустойчивости начинается раньше, уже с шестых суток исследования, в то время как индекс, характеризующий когнитивные функции, впервые достоверно уменьшается только спустя три недели исследования. Факторами, снижающими повреждающее воздействие церебральной гипоперфузии, стали женский пол, высокий исходный уровень стрессоустойчивости и способности к обучению. При оценке способности к обучению под влиянием физической нагрузки животные с высоким исходным уровнем развития когнитивных функций демонстрировали более раннюю динамику их восстановления при срочной адаптации и значимый прирост – при долговременной.

Ключевые слова: церебральная гипоперфузия, физическая нагрузка, водный тест Морриса, тест «открытое поле», поведенческие особенности.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Никонорова В.Г., e-mail: bgnikon@gmail.com

Для цитирования: Криштоп В.В., Румянцева Т.А., Никонорова В.Г., Фатеев И.В. Влияние физических нагрузок на поведенческие реакции крыс при церебральной гипоперфузии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(5):43–51. doi: 10.18699/SSMJ20220506

Influence of physical loading on behavioral reactions of rats in cerebral hypoperfusion

V.V. Chrishtop¹, T.A. Rumyantseva², V.G. Nikonorova¹, I.V. Fateev³

¹ ITMO University

191024, St. Petersburg, Lomonosov str., 9

² Yaroslavl State Medical University of Minzdrav of Russia

153000, Yaroslavl, Revolyutsionnaya str., 5

³ State Scientific-Research Test Institute of Military Medicine of Minoborony of Russia

195043, St. Petersburg, st. Lesoparkovaya, 4

Abstract

A number of clinical studies demonstrate that individual characteristics such as stress tolerance and cognitive ability can be considered not only as diagnostic variables but also as risk factors for severe cerebral hypoperfusion. The aim of the study was to identify the typological features of the effect of physical activity on the behavioral reactions of rats during cerebral hypoperfusion. **Material and methods.** Cerebral hypoperfusion was modeled by bilateral carotid artery ligation. The study involved 280 rats, divided into equal subgroups, according to sex, stress tolerance and learning capacity. Of these, 112 animals were subjected to daily short-term swimming as a rehabilitation model. Before the simulation, and at 6, 8, 14, 21, 28, 35, 60 and 90 days postoperatively, the animals were tested using a Morris water maze and an "open field" test. **Results and discussion.** The dynamics of stress resistance and learning ability are related to the periodicity of inflammatory, necrotic, circulatory and reparative remodeling in the model used. After 2-3 months of study, cerebral hypoperfusion causes stabilization of indices characterizing stress resistance and cognitive functions below control values. A decrease in stress resistance begins earlier from day 6 of the study, while the index characterizing cognitive functions first decreases significantly after 3 weeks of study. Factors reducing the damaging effects of cerebral hypoperfusion were female gender, high baseline stress tolerance and learning ability. When assessing learning ability under physical load, animals with high baseline cognitive development showed earlier recovery dynamics during urgent adaptation and a significant increase during long-term adaptation.

Key words: cerebral hypoperfusion, exercise, Morris water test, open field test, behavioral features.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Nikonorova V.G., e-mail: bgnikon@gmail.com

Citation: Chrishtop V.V., Rummyantseva T.A., Nikonorova V.G., Fateev I.V. Influence of physical loading on behavioral reactions of rats in cerebral hypoperfusion. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):43–51. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220506

Введение

Такие индивидуальные особенности, как стрессоустойчивость и уровень когнитивных способностей, в современной литературе переместились из разряда диагностируемых величин в область факторов риска. Выявлена зависимость между исходным (до болезни) уровнем интеллекта и физическим здоровьем [1] и смертностью [2]. Стрессоустойчивость определяет характер развития инсульта [3]. Однако исследования динамики развития церебральной гипоперфузии, в которых вышеуказанные индивидуальные особенности организма представлены одновременно в качестве факторов деления на группы и регистрируемых показателей, отсутствуют. Таким образом, представляется актуальным выявление типологических особенностей влияния физических нагрузок на поведенческие реакции крыс при церебральной гипоперфузии.

Материал и методы

Эксперимент проводился на 280 крысах Wistar обоего пола (140 самцов и 140 самок),

массой 180–200 г, содержащихся в группах по 5 особей в стандартных условиях вивария. Эксперимент одобрен Этическим комитетом ФБОУ ВО Ярославский государственный медицинский университет Минздрава России (протокол № 8 от 24.03.2016) и выполнен в соответствии с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 2000 г. и этических норм, и рекомендаций по гуманному обращению с животными, используемыми в экспериментальных и других научных целях (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н). В качестве модели хронической церебральной гипоперфузии использовалась постоянная билатеральная окклюзия общих сонных артерий [4]. Операция проводилась под кратковременным внутривенным наркозом, золетил вводили из расчета 20–40 мг на 1 кг массы тела [5].

Перед моделированием, а также на 6-, 8-, 14-, 21-, 28-, 35-, 60- и 90-е сутки после операции всех животных для прогностической оценки индивидуальной эмоциональной резистентности тести-

ровали по особенностям их поведения в новой обстановке открытого поля. По соотношению поведенческих показателей рассчитывали интегральный индекс активности (ИИА), на основании которого выделялась подгруппа животных с высоким (ВУС) и низким (НУС) уровнем стрессоустойчивости [6]. Расчет производился по формуле:

$$\text{ИИА} = \text{ГА} / \text{ЛП} + \text{ЛПЦ},$$

где ГА – горизонтальная активность; ЛП – латентный период первого перемещения; ЛПЦ – латентный период выхода в центр поля. На основе показателей поведения в «открытом поле» крысы были разделены на активных и пассивных в зависимости от индивидуальных значений ИИА. Активные животные прогностически более устойчивы к действию стрессорных нагрузок, пассивные обладают низкой резистентностью функций организма к стрессорным нагрузкам [7].

Для оценки состояния когнитивных функций использовался тест «водный лабиринт Морриса», который проводился перед моделированием нарушения мозгового кровообращения, а также на 6-, 8-, 14-, 21-, 28-, 35-, 60- и 90-е сутки после операции, с расчетом индекса когнитивных функций (ИКФ) [8]. По результатам тестирования животные были разделены на две подгруппы: с высоким (ВУК) и низким (НУК) уровнем развития когнитивных функций, определяемым по методике, представленной в работе А.Л. Ивлиевой и др. [9]. После операции все выжившие животные (280 особей) были разделены на группы: контрольную ($n = 24$), сравнения ($n = 144$) и экспериментальную ($n = 112$). В каждую группу включали по две одинаковых по численности подгруппы: самцы и самки (по 12, 72 и 64 животных соответственно), животные с низким и высоким уровнем стрессоустойчивости (соответственно по 12, 72 и 64 крысы), а также животные с ВУК и НУК (соответственно по 12, 72 и 64 крысы). Животные экспериментальной группы, начиная с 7-х суток после операции, ежедневно подвергались плаванию в бассейне в течение 15 минут. Максимальная длительность физической нагрузки составляла 4 недели, т.е. у животных экспериментальной группы спустя 35 дней эксперимента физические нагрузки прекращались.

Переменные представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратического отклонения ($M \pm \sigma$). Значимость различий измеряемых параметров оценивалась с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни для двух независимых выборок. Значения $p < 0,05$ рассматривались как значимые.

Результаты и их обсуждение

В группе сравнения после моделирования тотальной гипоксии мозга на протяжении всего срока наблюдения отмечались значительно более низкие показатели ИИА, и к окончанию эксперимента величина ИИА составляла 50 % ($p < 0,05$) от значений интактных животных (рис. 1, а). На первом этапе ИИА прогрессивно уменьшался до 9 % от показателя контроля ($p < 0,001$) к 8-м суткам после операции, на втором этапе (до 35 суток) происходили его маятникообразные колебания, а на третьем этапе (60–90 суток) – стабилизация на уровне 49 % ($p < 0,05$) от исходных значений. В группе экспериментальных животных уже через сутки после воздействия физической нагрузки ИИА повышался, а спустя две недели был на 250 % ($p < 0,001$) больше значений группы

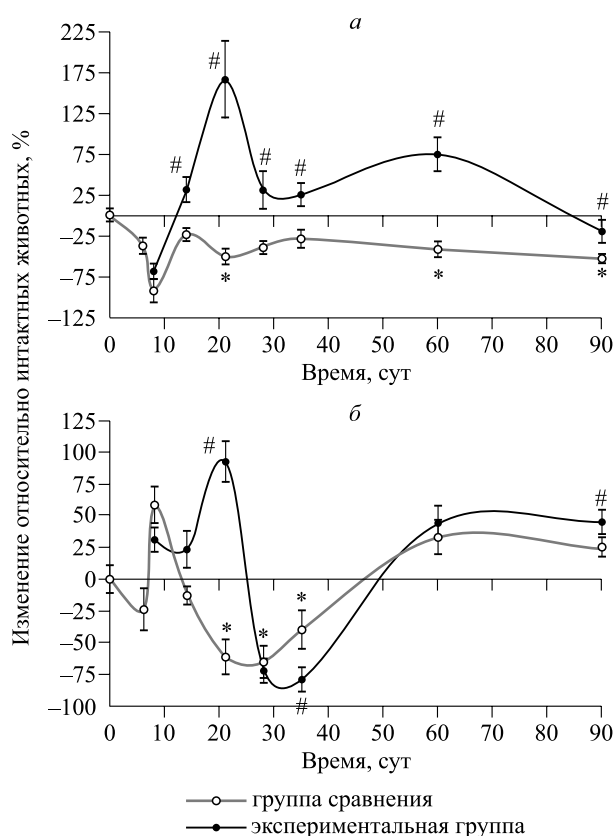


Рис. 1. Общая динамика ИИА (а) и ИКФ (б) при хронической церебральной гипоперфузии и в сочетании с физической нагрузкой у крыс. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – интактных животных, # – группы сравнения

Fig. 1. Overall dynamics of integral index of activity (a) and index of cognitive functions (b) in chronic cerebral hypoperfusion and in combination with physical exercise in rats; * – $p < 0,05$ compared to intact animals, # – compared to the comparison group

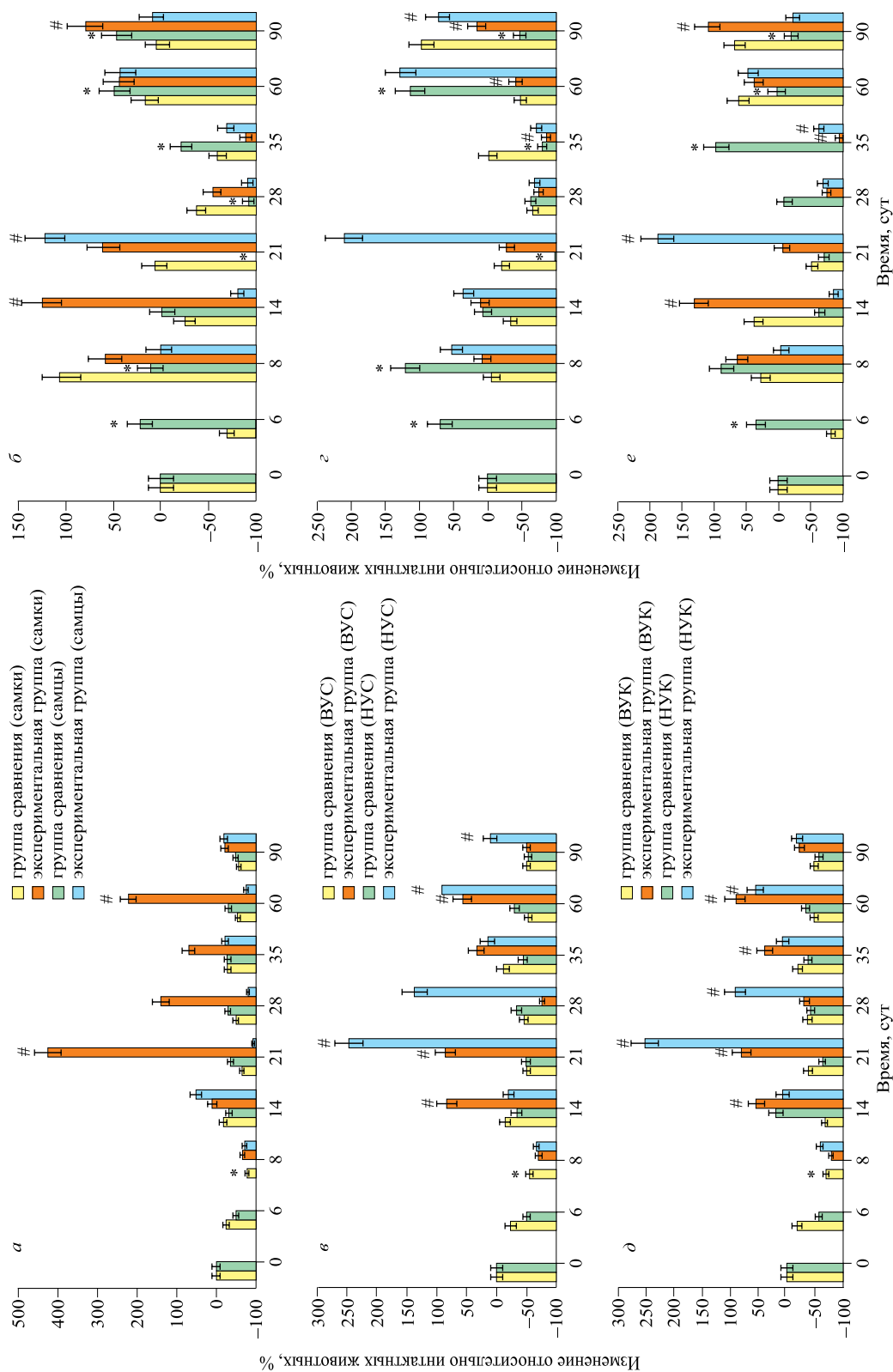


Рис. 2. Особенности динамики ИША (а, б, в) и ИКФ (г, д, е) при хронической гипоперфузии и в сочетании с физической нагрузкой у крыс в исследуемых подгруппах; а, г – в зависимости от способности к обучению, б, д – в зависимости от уровня стрессоустойчивости, в, е – в зависимости от уровня способностей к обучению. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – интактных животных, # – группы сравнения

Fig. 2. Peculiarities of dynamics of integral index of activity (a, б, в) and index of cerebral hypoperfusion and in combination with physical exercise in rats in the studied subgroups. а, г – as a function of learning ability, б, д – as a function of stress tolerance level, в, е – as a function of learning ability level; * – $p < 0.05$ compared to intact animals, # – compared to the comparison group

сравнения. Через 3–4 недели плавания ИИА снижался, оставаясь значительно выше, чем в группе сравнения, до конца эксперимента ($p < 0,05$). Изменений ИКФ в группе сравнения (рис. 1, б) на первом этапе не наблюдалось, на втором регистрировалось падение, максимально выраженное к 21–28-му дню эксперимента (на 72 %, $p < 0,005$), а на третьем этапе – постепенная стабилизация. Изменения ИКФ, вызванные дополнительным воздействием ежедневного плавания, характеризовались появлением максимума показателя на 21-е сутки и характерным смещением минимума на 28–35-е сутки. Восстановление происходило быстрее: к 90-м суткам ИКФ был на 25 % ($p < 0,05$) выше, чем в подгруппе сравнения.

При оценке половых особенностей показателей основной группы (рис. 2, а) на первом этапе отмечалось менее существенное уменьшение ИИА у самок. В более поздние сроки изменения ИИА не имели половых отличий. Динамика ИКФ (рис. 2, б) у самок проявлялась в характерном падении показателя на 70 % на 6-е сутки ($p < 0,05$), с дальнейшим ростом на 105 % на 8-е сутки эксперимента ($p < 0,01$). В подгруппе самцов не наблюдалось значимых изменений ИКФ на первом этапе после операции. На втором этапе ИКФ у самок, напротив, не претерпевал значительных изменений, в то время как у самцов существенно снижался, достигая минимума на 21-е сутки (на 78 % меньше, чем у самок, $p < 0,005$). В отдаленные сроки наблюдения отмечалось восстановление ИКФ до исходных значений, однако стабилизация этого показателя у самцов происходила быстрее и на более высоком уровне.

В экспериментальной подгруппе у самок отмечалось очень сильное возрастание ИИА преимущественно во вторую фазу эксперимента (см. рис. 2, а), отклонения были достоверны на 21-е и 28-е сутки и составили 488 % ($p < 0,001$) и 190 % ($p < 0,02$) от значений подгруппы сравнения соответственно. Второй пик повышения ИИА наблюдался на 60-е сутки эксперимента (275 %, $p < 0,005$). К 90-му дню ИИА не отличался от показателя группы сравнения. В подгруппе самцов отклонения были незначимы. Физическая нагрузка у самок смещала пик ИКФ (см. рис. 2, б) на более поздние сроки (на 14-е сутки), чем у подгруппы сравнения, к 90-м суткам эксперимента он превышал на 75 % ($p < 0,02$) ИКФ самок без физической нагрузки. В экспериментальной подгруппе самцов максимум ИКФ наблюдался с недельным опозданием – на 21-е сутки, а к окончанию наблюдения этот показатель стабилизировался на уровне контроля.

При делении группы сравнения по признаку стрессоустойчивости (рис. 2, в) на первом этапе

отмечалось менее существенное падение ИИА в подгруппе животных с ВУС, а на 90-е сутки эксперимента различия нивелировались и составляли около 50 % от исходных в обеих подгруппах. Динамика ИКФ (рис. 2, з) в начальном периоде после операции имела противоположную направленность у крыс с разной стрессоустойчивостью. На втором этапе эксперимента ИКФ значительно снижался только у животных с НУС. К окончанию эксперимента, напротив, в подгруппе животных с ВУС ИКФ возрастал, в то время как у НУС он был меньше исходного.

В подгруппе экспериментальных животных с ВУС повышение ИИА (рис. 2, в) наблюдалось раньше, но было менее значительным, чем у крыс с НУС. У экспериментальных животных с НУС вторая волна увеличения ИИА была более выражена и сохранялась до окончания наблюдения. В подгруппе экспериментальных животных с ВУС до 28-х суток после операции отклонений ИКФ от значений подгруппы сравнения не выявлено (см. рис. 2, з), а восстановление этого показателя шло медленнее, и только к 90-м суткам он достигал исходных значений. У животных с НУС плавание вызывало значительное (на 306 % больше, чем в подгруппе сравнения, $p < 0,005$) повышение ИКФ на 21-е сутки, второй пик которого приходился на 60-е сутки эксперимента, и это увеличение сохранялось до окончания наблюдения.

При делении основной группы по уровню развития когнитивных способностей на первом этапе отмечалось более значительное падение ИИА (рис. 2, д) у крыс с НУК, при этом в более поздние сроки достоверных отличий этого показателя не наблюдалось. В начале эксперимента ИКФ (рис. 2, е) в подгруппе животных с низкими когнитивными способностями повышался, а у крыс с высокими когнитивными способностями, напротив, снижался. К 35-му дню эксперимента в подгруппе животных с НУК появлялся второй максимум, а в подгруппе животных с ВУК ИКФ, напротив, снижался до минимальных значений, разница между подгруппами составляла 120 % ($p < 0,01$). Тем не менее уже к 60-м суткам динамика менялась на обратную, которая сохранялась до конца эксперимента. На 90-е сутки после операции ИКФ у крыс с высоким уровнем когнитивных способностей был на 88 % ($p < 0,01$) выше.

Динамика ИИА в экспериментальных подгруппах животных с разным уровнем развития когнитивных функций (см. рис. 2, д) очень близка к изменениям в подгруппах экспериментальных животных с разным уровнем стрессоустойчивости. После недельного плавания ИКФ у крыс с ВУК значительно повышался, однако уже к 21-му дню он падал и оставался сниженным до

35-х суток, а затем вновь возрастал (см. рис. 2, е). К 90-м суткам в экспериментальной подгруппе животных с ВУК показатель продолжал расти до значений, на 50 % ($p < 0,05$) превышающих ИКФ в подгруппе сравнения. У экспериментальных животных с НУК максимум приходился на более ранний срок (14-й день), а у подгруппы сравнения – лишь на 35-е сутки эксперимента. В отдаленные сроки ИКФ в этих подгруппах не имел значимых различий и к окончанию наблюдения стабилизировался на исходном уровне.

В ходе исследования выраженное снижение стрессоустойчивости наблюдалось в острейшую и острую фазу (до 8-х суток после операции), что согласуется с нашими данными о наибольших повреждениях и гибели нейронов в первую неделю церебральной гипоперфузии [10]. В области гипоперфузии активируются свободнорадикальные реакции и развивается локальное воспаление, приводящее к некрозу клеток [11]. Вторая волна гибели нейронов в использованной модели приходится на конец подострого (олигемического) периода [12]. В это время наблюдается наиболее значительное снижение ИКФ, выявленное в настоящем исследовании. Известно, что гибель нейронов в это время обусловлена преимущественно механизмами апоптоза, который характеризуется отсутствием фагоцитоза и ряда других воспалительных реакций [13]. Это сопровождалось менее значительным снижением ИИА животных, выявленным в нашем эксперименте.

Использование физической нагрузки в качестве модели реабилитационных мероприятий приводит к улучшению микроциркуляции и снижению воспалительных изменений [14]. С первых суток реабилитации наблюдался достоверный рост двигательной и исследовательской активности, который сохранялся на протяжении всего нашего эксперимента. Гистологически это сопровождается снижением венозной гиперемии и уменьшением признаков тканевого отека вокруг гемокapилляров, характерного для изолированной церебральной гипоперфузии [10]. Отмечалось смещение на более поздние сроки и укорочение продолжительности значительного снижения ИКФ. В литературе имеются многочисленные данные о благоприятном влиянии физической нагрузки на выживаемость нейронов [15]. В отдаленные сроки эксперимента (60–90 суток) под влиянием физической нагрузки наблюдалось повышение уровня когнитивных способностей. Это согласуется с данными способности физической нагрузки индуцировать нейрогенез [16].

По данным литературы, более выраженная перфузия головного мозга в покое ассоциирована с такими типологическими особенностями,

как пол, низкая стрессоустойчивость и высокий уровень развития когнитивных функций [17]. У низкоустойчивых к стрессу крыс более «жесткая» организация энергетического метаболизма в головном мозге, что проявляется в 10-кратно более высокой силе корреляционных связей между параметрами ЯМР спектров ключевых энергетических метаболитов (фосфоэфиров, креатининфосфата, АТФ, АДФ, NAD⁺, NADH) и требует исходно более высокого уровня кровотока. Как следствие, они тяжелее переносят ухудшение последнего, т.е. оказываются более чувствительными к ишемии мозга [18]. В нашем исследовании это сопровождалось достоверно большим снижением числа неповрежденных нейронов коры больших полушарий головного мозга в группе животных с высоким уровнем когнитивных способностей [19]. В первые сутки церебральной гипоперфузии у животных с НУС выявлено уменьшение относительного содержания лимфоцитов и эозинофилов, что может свидетельствовать о недостатке блокаторов воспаления и дезинтоксикационного компонента в спектре медиаторов, также в этой подгруппе снижается индекс напряженности адаптации [20], что может оказывать влияние на периодичность процессов церебральной гипоперфузии.

Полученные нами результаты соответствуют данным о постреанимационных структурных изменениях мозга, которые у самцов возникали позднее, чем у самок, и были более выраженными и глубокими [21].

Моделирование реабилитационных мероприятий путем ежедневного воздействия физической нагрузки через неделю после операции приводит к «перезагрузке» адаптивных механизмов [22], что сопровождается более существенным повышением стрессоустойчивости в подострый период в подгруппах самок, стрессонеустойчивых и животных с НУК, что связано с низким исходным уровнем мозгового кровотока в рассматриваемых подгруппах. Это определяет более экономичный режим работы вазорегуляторных систем и, как следствие, обуславливает больший диапазон мобилизации функций при физической нагрузке. В подгруппах, характеризующихся падением когнитивных способностей (самцы, крысы с НУС и НУК), в начале подострого периода физическая нагрузка приводила к значительному повышению способности к обучению в отличие от других подгрупп, поскольку низкий уровень стрессоустойчивости определяет большую чувствительность к экзогенным корригирующим влияниям при церебральной гипоперфузии [23].

В отдаленные сроки эксперимента восстановление когнитивных функций наиболее активно

происходило у крыс с ВУК, НУС и у самок. Аналогичные результаты были получены при исследовании половых особенностей IQ у лиц, адаптированных к физическим нагрузкам [24].

Таким образом, в нашем исследовании факторами, ассоциированными с менее выраженными повреждающими эффектами церебральной гипоперфузии, стали женский пол, высокий исходный уровень стрессоустойчивости и способности к обучению. Спустя 2–3 месяца после начала исследования церебральная гипоперфузия вызывает стабилизацию индексов, характеризующих стрессоустойчивость и когнитивные функции, меньше контрольных значений. Снижение стрессоустойчивости начинается раньше, уже с 6-х суток исследования, в то время как индекс, характеризующий когнитивные функции, впервые достоверно уменьшается только спустя 3 недели исследования. При оценке способности к обучению под влиянием физической нагрузки животные экспериментальной группы, подгруппы с высоким исходным уровнем развития когнитивных функций демонстрировали более раннюю динамику восстановления уровня когнитивных функций, выявляемых в водном лабиринте спустя неделю после начала исследования, и значимый прирост этого показателя в отдаленные сроки эксперимента (60–90 суток).

Список литературы

1. Wraw C., Deary I.J., Gale C.R., Der G. Intelligence in youth and health at age 50. *Intelligence*. 2015;53:23–32. doi: 10.1016/j.intell.2015.08.001
2. Calvin C.M., Deary I.J., Fenton C., Roberts B.A., Der G., Leckenby N., Batty G.D. Intelligence in youth and all-cause-mortality: systematic review with meta-analysis. *Int. J. Epidemiol.* 2011;40(3):626–644. doi: 10.1093/ije/dyq190
3. Wang Y.H., Yang Y.R., Pan P.J., Wang R.Y. Modeling factors predictive of functional improvement following acute stroke. *J. Chin. Med. Assoc.* 2014;77(9):469–476. doi: 10.1016/j.jcma.2014.03.006
4. Christop V.V., Nikonorova V.G., Gutsalova A., Rummyantseva T., Dukhinova M., Salmina A. Systematic comparison of basic animal models of cerebral hypoperfusion. *Tissue Cell*. 2022;75:101715. doi: 10.1016/j.tice.2021.101715
5. Кадомцев Д.В., Пасечникова Е.А., Голубев В.Г. Золетил-ксилазиновый наркоз в экспериментах у крыс. *Международ. ж. прикл. и фундам. исслед.* 2015;(5–1):56–57.
6. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу. *Вестн. нов. мед. технол.* 2002;9(1):16–18.
7. Ключева Л.А., Швецов Э.В., Никифорова Е.Е. Клеточный состав лимфоидных образований стенки трахеи у крыс Вистар с различной прогностической устойчивостью к эмоциональному стрессу. *Морфология*. 2017;151(3): 28–32.
8. Криштоп В.В., Румянцева Т.А., Пожилов Д.А. Экспрессия GFAP в коре больших полушарий при развитии церебральной гипоксии у крыс с различными результатами в лабиринте Морриса. *Биомедицина*. 2020;16(1):89–98. doi: 10.33647/2074-5982-16-1-89-98
9. Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А., Демин В.А. Методические особенности применения водного лабиринта Морриса для оценки когнитивных функций у животных. *Рос. физиол. ж.* 2016;102(1):3–17.
10. Криштоп В.В., Румянцева Т.А., Никонорова В.Г. Изменения клеточного состава коры головного мозга у крыс с разным уровнем когнитивных функций при сочетании церебральной гипоперфузии с кратковременной физической нагрузкой. *Ж. анатомии и гистопатол.* 2020;9(4):45–54. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-45-54
11. Антипенко Е.А., Густов А.В. Индивидуальная стрессоустойчивость и прогноз заболевания при хронической ишемии головного мозга. *Мед. альм.* 2014;(3):36–38.
12. Farkas E., Luiten P.G.M., Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases. *Brain res. reviews*. 2007;54(1):162–180. doi: 10.1016/j.brainresrev.2007.01.003
13. Gao H.M., Zhou H., Zhang F., Wilson B.C., Kam W., Hong J.S. HMGB1 acts on microglia Mac1 to mediate chronic neuroinflammation that drives progressive neurodegeneration. *J. Neurosci.* 2011;31(3):1081–1092. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3732-10.2011
14. Leardini-Tristão M., Borges J.P., Freitas F., Rangel R., Daliry A., Tibiriçá E., Estado V. The impact of early aerobic exercise on brain microvascular alterations induced by cerebral hypoperfusion. *Brain Research*. 2017;1657:43–51. doi: 10.1016/j.brainres.2016.11.030
15. Leal-Galicia P., Romo-Parra H., Rodríguez-Serrano L.M., Buenrostro-Jáuregui M. Regulation of adult hippocampal neurogenesis exerted by sexual, cognitive and physical activity: An update. *J. Chem. Neuroanat.* 2019;101:101667. doi: 10.1016/j.jchemneu.2019.101667
16. Sølvsten C.A.E., de Paoli F., Christensen J.H., Nielsen A.L. Voluntary physical exercise induces expression and epigenetic remodeling of VEGFa in the rat hippocampus. *Mol. Neurobiol.* 2018;55(1):567–582. doi: 10.1007/s12035-016-0344-y
17. Kilroy E., Liu C.Y., Yan L., Kim Y.C., Dapretto M., Mendez M.F., Wang D.J. Relationships between cerebral blood flow and IQ in typically developing children and adolescents. *J. Cogn. Sci. (Seoul)*. 2011;12(2):151–170. doi:10.17791/jcs.2011.12.2.151

18. Ганнушкина И.В. Патопфизиология нарушений мозгового кровообращения. В кн.: *Очерки ангионеврологии*. Ред. З.А. Суслиной. М.: Атмосфера, 2005. 17–41.

19. Криштоп В.В., Никонорова В.Г., Румянцева Т.А. Изменения клеточного состава коры головного мозга у крыс с разным уровнем когнитивных функций при церебральной гипоперфузии. *Ж. анатомии и гистопатол.* 2019;8(4):22–29. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-4-22-29

20. Криштоп В.В., Пахрова О.А., Курчанинова М.Г., Румянцева Т.А. Лейкоцитарные показатели крови при адаптации к острой экспериментальной гипоксии головного мозга в зависимости от уровня стрессоустойчивости. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2016;(6):231.

21. Аврущенко М.Ш., Мороз В.В., Острова И.В. Постреанимационные изменения мозга на уровне нейрональных популяций: закономерности и механизмы. *Общ. реаниматол.* 2012;8(4):69–78.

22. Chrishtop V.V., Tomilova I.K., Rummyantseva T.A., Mikhaylenko E.V., Avila-Rodriguez M.F., Mikhaleva L.M., Nikolenko V.N., Somasundaram S.G., Kirkland C.E., Bachurin S.O., Aliev G. The effect of short-term physical activity on the oxidative stress in rats with different stress resistance profiles in cerebral hypoperfusion. *Mol. Neurobiol.* 2020; 57(7):3014–3026. doi: 10.1007/s12035-020-01930-5

23. Криштоп В.В., Румянцева Т.А., Никонорова В.Г. Типологические особенности головного мозга в норме и при церебральной гипоперфузии. *Вестн. РУДН. Сер. Мед.* 2020;24(4):345–353. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-345-353

24. Killgore W.D.S., Schwab Z.J. Sex differences in the association between physical exercise and IQ. *Percept. Mot. Skillsort.* 2012;115(2):605–617. doi: 10.2466/06.10.50.PMS.115.5.605-617

References

1. Wraw C., Deary I.J., Gale C.R., Der G. Intelligence in youth and health at age 50. *Intelligence.* 2015;53:23–32. doi: 10.1016/j.intell.2015.08.001

2. Calvin C.M., Deary I.J., Fenton C., Roberts B.A., Der G., Leckenby N., Batty G.D. Intelligence in youth and all-cause-mortality: systematic review with meta-analysis. *Int. J. Epidemiol.* 2011;40(3):626–644. doi: 10.1093/ije/dyq190

3. Wang Y.H., Yang Y.R., Pan P.J., Wang R.Y. Modeling factors predictive of functional improvement following acute stroke. *J. Chin. Med. Assoc.* 2014;77(9):469–476. doi: 10.1016/j.jcma.2014.03.006

4. Chrishtop V.V., Nikonorova V.G., Gutsalova A., Rummyantseva T., Dukhinova M., Salmina A. Systematic comparison of basic animal models of cerebral hypoperfusion. *Tissue Cell.* 2022;75:101715. doi: 10.1016/j.tice.2021.101715

5. Kadomtsev D.V., Pasechnikova E.A., Golubev V.G. Zoletil-xylozine anesthesia experiments in rats. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy = International Journal of Applied and Basic Research.* 2015;(5–1):56–57. [In Russian].

6. Koplík E.V. Method for determining the criterion of resistance of rats to emotional stress. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies.* 2002;9(1):16–18. [In Russian].

7. Klyueva L.A., Shvetsov E.V., Nikiforova E.E. Cellular composition of lymphoid structures in the tracheal wall of Wistar rats with different prognostic resistance to emotional stress. *Morfologiya = Morphology.* 2017;151(3):28–32. [In Russian].

8. Crishtop V.V., Rummyantseva T.A., Pozhilov D.A. Gfap expression in the cerebral cortex during the development of cerebral hypoxia in rats showing different results in the Morris water maze. *Biomeditsina. = Biomedicine.* 2020;16(1):89–98. [In Russian]. doi: 10.33647/2074-5982-16-1-89-98

9. Ivlieva A.L., Petritskaya E.N., Rogatkin D.A., Demin V.A. Methodical features of the application of Morris water maze for estimation of cognitive functions in animals. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova = Russian Journal of Physiology.* 2016;102(1):3–17. [In Russian].

10. Crishtop V.V., Rummyantseva T.A., Nikonorova V.G. Changes in the cellular composition of the cerebral cortex in rats with different levels of cognitive function in cerebral hypoperfusion combined with short-term physical activity. *Zhurnal anatomii i gistopatologii = Journal of Anatomy and Histopathology.* 2020;9(4):45–54. [In Russian]. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-4-45-54.

11. Antipenko E.A., Gustov A.V. Individual stress resistance and prognosis of disease in the case of chronic ischemia of brain. *Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac.* 2014;(3):36–38. [In Russian].

12. Farkas E., Luiten Paul G.M., Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases. *Brain res. reviews.* 2007;54(1):162–180. doi: 10.1016/j.brainres-rev.2007.01.003

13. Gao H.M., Zhou H., Zhang F., Wilson B.C., Kam W., Hong J.S. HMGB1 acts on microglia Mac1 to mediate chronic neuroinflammation that drives progressive neurodegeneration. *J. Neurosci.* 2011;31(3):1081–1092. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3732-10.2011

14. Leardini-Tristão M., Borges J.P., Freitas F., Rangel R., Daliry A., Tibiriçá E., Estado V. The impact of early aerobic exercise on brain microvascular alterations induced by cerebral hypoperfusion. *Brain Research.* 2017;1657:43–51. doi: 10.1016/j.brainres.2016.11.030

15. Leal-Galicia P., Romo-Parra H., Rodríguez-Serrano L.M., Buenrostro-Jáuregui M. Regula-

tion of adult hippocampal neurogenesis exerted by sexual, cognitive and physical activity: An update. *J. Chem. Neuroanat.* 2019;101:101667. doi: 10.1016/j.jchemneu.2019.101667

16. Sølvsten C.A.E., de Paoli F., Christensen J.H., Nielsen A.L. Voluntary physical exercise induces expression and epigenetic remodeling of VEGFa in the rat hippocampus. *Mol. Neurobiol.* 2018;55(1): 567–582. doi: 10.1007/s12035-016-0344-y

17. Kilroy E., Liu C.Y., Yan L., Kim Y.C., Dapretto M., Mendez M.F., Wang D.J. Relationships between cerebral blood flow and IQ in typically developing children and adolescents. *J. Cogn. Sci. (Seoul)*. 2011;12(2):151–170. doi:10.17791/jcs.2011.12.2.151

18. Gannushkina I.V. Pathophysiology of cerebral circulation disorders. In: *Essays on angioneurology*. Ed. by Z.A. Suslina. Moscow: Atmosfera, 2005. 17–41. [In Russian].

19. Crishtop V.V., Nikonorova V.G., Rummyantseva T.A. Changes in the cellular composition of the cerebral cortex in rats with different levels of cognitive functions under cerebral hypoperfusion. *Zhurnal anatomii i gistopatologii = Journal of Anatomy and Histopathology*. 2019;8(4):22–29. [In Russian]. doi 10.18499/2225-7357-2019-8-4-22-29

20. Crishtop V.V., Pakhrova O.A., Kurchaninova M.G., Rummyantseva T.A. Changes of blood leukocyte indices under acute experimental cerebral hypoxia in rats

with different levels of stress resistance. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2016;(6):231. [In Russian].

21. Avrushchenko M.Sh., Moroz V.V., Ostrova I.V. Postresuscitation changes in the brain at the level of neuronal populations: patterns and mechanisms. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology*. 2012;8(4):69–78. [In Russian].

22. Crishtop V.V., Tomilova I.K., Rummyantseva T.A., Mikhaylenko E.V., Avila-Rodriguez M.F., Mikhaleva L.M., Nikolenko V.N., Somasundaram S.G., Kirkland C.E., Bachurin S.O., Aliev G. The effect of short-term physical activity on the oxidative stress in rats with different stress resistance profiles in cerebral hypoperfusion. *Mol. Neurobiol.* 2020;57(7):3014–3026. doi: 10.1007/s12035-020-01930-5

23. Crishtop V.V., Rummyantseva T.A., Nikonorova V.G. Typological features of the brain in normal conditions and in cerebral hypoperfusion. *Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Meditsina = RUDN Journal of Medicine*. 2020;24(4):345–353. [In Russian]. doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-345-353

24. Killgore W.D.S., Schwab Z.J. Sex differences in the association between physical exercise and IQ. *Percept. Mot. Skillsort.* 2012;115(2):605–617. doi: 10.2466/06.10.50.PMS.115.5.605-617

Информация об авторах:

Владимир Владимирович Криштон, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9267-5800

Татьяна Анатольевна Румынцева, д.м.н., ORCID: 0000-0002-8035-4065

Варвара Геннадьевна Никонорова, ORCID: 0000-0001-9453-4262, e-mail: bgnikon@gmail.com

Иван Владимирович Фатеев, д.м.н., ORCID: 0000-0003-4014-3973, e-mail: gniiivm_15@mil.ru

Information about the authors:

Vladimir V. Crishtop, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9267-5800

Tatyana A. Rummyantseva, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8035-4065

Varvara G. Nikonorova, ORCID: 0000-0001-9453-4262, e-mail: bgnikon@gmail.com

Ivan V. Fateev, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4014-3973, e-mail: gniiivm_15@mil.ru

Поступила в редакцию 30.03.2022

После доработки 14.05.2022

Принята к публикации 09.07.2022

Received 30.03.2022

Revision received 14.05.2022

Accepted 09.07.2022

Влияние нового производного салициловой кислоты – дикалиевой соли N-(3-гидроксibenзоил)таурина – на неврологический дефицит, гемостаз и функциональную активность сосудов головного мозга в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения

В.Э. Пустынников, С.С. Царук, Е.А. Фомичев, Е.А. Милосердова, Д.В. Куркин, Д.А. Бакулин, Т.М. Андриашвили, А.А. Соколова, Н.В. Атапина, А.К. Брель, Ю.Н. Будаева, И.Н. Тюренков

*Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России
400131, г.Волгоград, пл. Павших борцов, 1*

Резюме

Нарушения мозгового кровообращения (НМК) – важная причина смертности и инвалидизации населения. Улучшение микроциркуляции тканей головного мозга является одним из главных направлений в лечении и профилактики НМК. Цель исследования – оценка влияния нового производного гидроксибензойной (салициловой) кислоты на неврологический дефицит, гемостаз и функциональное состояние артериальных пиальных сосудов при исследовании простаглицлин-синтетической активности и оценке NO-опосредованной эндотелиальной дисфункции у крыс в условиях экспериментального НМК. **Материал и методы.** Эксперимент проводили на 50 крысах линии Wistar, которым посредством окклюзии общих сонных артерий моделировали НМК. В течение семи дней после операции животные получали лечение соответственно группе: физиологический раствор, С-60 (дикалиевая соль N-(3-гидроксibenзоил)таурина) и ацетилсалициловую кислоту. После лечения активность простаглицлин-синтетической системы оценивали по реакции пиальных сосудов на индометацин, эндотелиальную дисфункцию – пробами с ацетилхолином и L-NAME. Также исследовали параметры плазменного и тромбоцитарного гемостаза, а для оценки неврологического дефицита у животных использовали поведенческие тесты («открытое поле», «адгезивный тест», «ротарод», «водный лабиринт Морриса», «условный рефлекс пассивного избегания»). **Результаты и их обсуждение.** В группах, получавших лечение, по сравнению с контрольной наблюдалось значимое повышение двигательной и исследовательской активности, улучшение сенсорно-моторной функции и координации движений ($p < 0,05$). Также у животных, получавших производное салициловой кислоты, наблюдалась нормализация параметров тромбоцитарного и плазменного гемостаза, улучшение функционального состояния эндотелия сосудов, а по результатам оценки простаглицлин-синтезирующей активности эндотелия мозговых сосудов следует, что исследуемое соединение ингибирует циклооксигеназу на уровне, сопоставимом с эффектом ацетилсалициловой кислоты. **Заключение.** Новое производное салициловой кислоты – дикалиевая соль N-(3-гидроксibenзоил)таурина – снижает выраженность неврологического дефицита, улучшает параметры гемостаза и функциональное состояние мозговых сосудов у крыс с НМК.

Ключевые слова: нарушение мозгового кровообращения, гемостаз, микроциркуляция, сосуды головного мозга, мозговое кровообращение, таурин, ацетилсалициловая кислота.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Атапина Н.В., e-mail: rodina.natasha@inbox.ru

Для цитирования: Пустынников В.Э., Царук С.С., Фомичев Е.А., Милосердова Е.А., Куркин Д.В., Бакулин Д.А., Андриашвили Т.М., Соколова А.А., Атапина Н.В., Брель А.К., Будаева Ю.Н., Тюренков И.Н. Влияние нового производного салициловой кислоты – дикалиевой соли N-(3-гидроксibenзоил)таурина – на неврологический дефицит, гемостаз и функциональную активность сосудов головного мозга в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022;42(5):52–60. doi: 10.18699/SSMJ20220507

Effect of benzoyl taurine dipotassium salt on coagulation, hemostasis and vascular activity in the microvasculature of the brain in violation of cerebral circulation

V.E. Pustynnikov, S.S. Tsaruk, E.A. Fomichev, E.A. Miloserdova, D.V. Kurkin, D.A. Bakulin, T.M. Andriashvili, A.A. Sokolova, N.V. Atapina, A.K. Brel, Yu.N. Budaeva, I.N. Tyurenkov

*Volgograd State Medical University of Minzdrav of Russia
400131, Volgograd, Pavshikh boytsov sq., 1*

Abstract

Cerebral circulation disorders (CCD) are one of the most common causes of mortality and disability in the population. Improving the microcirculation of brain tissue is one of the main directions in the treatment and prevention of CCD. Aim of the study was to evaluate the effect of a new derivative of hydroxybenzoic (salicylic) acid on neurological deficit, hemostasis and functional state of arterial pial vessels in the study of prostacyclin-synthetic activity and evaluation of NO-mediated endothelial dysfunction in rats under experimental CCD conditions. **Material and methods.** The experiment was carried out on 50 Wistar rats, which were simulated for CCD by occlusion of common carotid arteries. Within 7 days after the operation, the animals received treatment according to the group: saline, C-60 (N-(3-hydroxybenzoyl)taurine dipotassium salt) and acetylsalicylic acid. After treatment, the activity of the prostacyclin-synthetic system was assessed by the reaction of pial vessels to indomethacin, endothelial dysfunction was estimated by tests with acetylcholine and L-NAME. The parameters of plasma and platelet hemostasis were also studied, and behavioral tests (open field, adhesion test, rotarod, Morris water maze, passive avoidance task) were used to assess neurological deficits in animals. **Results.** When studying the level of neurological deficit in animals with brain ischemia after a course of administration of the test compound, it was noted that in the treated groups, compared with the control group, there was a significant increase in motor and exploratory activity, improvement in sensory-motor function and coordination of movements ($p < 0.05$). Also, in the group treated with the salicylic acid derivative, normalization of the parameters of platelet and plasma hemostasis, improvement of the functional state of the vascular endothelium was observed. According to the results of assessing the prostacyclin-synthesizing activity of the endothelium of the cerebral vessels, it follows that the test compound inhibits cyclooxygenase at a level comparable with effect of acetylsalicylic acid. **Conclusions.** A new derivative of salicylic acid, the dipotassium salt of N-(3-hydroxybenzoyl)taurine, reduces the severity of neurological deficit, improves hemostasis parameters and the functional state of cerebral vessels in rats with brain ischemia in the experiment.

Key words: cerebral circulation disorder, hemostasis, microcirculation, cerebral vessels, cerebral circulation, taurine, acetylsalicylic acid.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Atapina N.V., e-mail: rodina.natasha@inbox.ru

Citation: Pustynnikov V.E., Tsaruk S.S., Fomichev E.A., Miloserdova E.A., Kurkin D.V., Bakulin D.A., Andriashvili T.M., Sokolova A.A., Atapina N.V., Brel A.K., Budaeva Yu.N., Tyurenkov I.N. Effect of benzoyl taurine dipotassium salt on coagulation, hemostasis and vascular activity in the microvasculature of the brain in violation of cerebral circulation. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):52–60. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220507

Введение

Инсульт является одной из ведущих причин смерти и инвалидизации. По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации смертность от инсульта составляет 175 случаев на 100 000 населения в год. Значимыми факторами риска его развития являются хроническое нарушение мозгового кровообращения (НМК), транзиторная ишемическая атака, а также инсульт и другие формы НМК в анамнезе. Для хронического НМК характерно длительное и часто бессимптомное протекание, при этом гипопер-

фузия тканей мозга со временем приводит к гибели части высокоактивных нейронов, развитию местного воспаления и нарушению гемостаза, что способствует формированию неврологических нарушений различной выраженности и ассоциируется с высоким риском инсульта. Поэтому особое внимание уделяется профилактике данных состояний, и с этой целью используются разные антиагрегантные, антикоагулянтные и другие препараты, влияющие на гемостаз [1–3]. Для лечения и профилактики формирующегося неврологического и когнитивного дефицита ис-

пользуются препараты с различным механизмом действия, связанным с улучшением мозгового кровообращения (кавинтон, ницерголин и др.), метаболизма нейронов (пептидные препараты: кортексин, церебролизин и др.; антиоксиданты и мембранопротекторы: мексидол, цитиколин, глиатилин и др.), а также с другими механизмами действия. Бесспорны преимущества применения антиагрегантных препаратов (аспирин, клопидогрел и др.) с целью снижения риска тромбоза в условиях хронического НМК, а также улучшения гемодинамики и метаболизма нервной ткани [2].

Ацетилсалициловая кислота (АСК) – одно из самых назначаемых средств профилактики тромбоэмболических заболеваний. В основе механизма его антиагрегационного действия лежит необратимое ингибирование циклооксигеназы-1 и -2, в результате чего блокируется синтез тромбоксана А₂ и подавляется агрегация тромбоцитов. Модификация молекулы АСК является обоснованным направлением поиска новых препаратов, которые могут обладать пролонгированным эффектом, уменьшать побочное действие и за счет включения новых заместителей проявлять дополнительные свойства в условиях нарушения мозгового кровообращения [4–6].

Целью нашей работы была оценка влияния нового производного гидроксибензойной (салициловой) кислоты на неврологический дефицит, гемостаз и функциональное состояние при исследовании простагландин-синтетической активности и оценке NO-опосредованной эндотелиальной дисфункции артериальных пиальных сосудов у крыс с экспериментальным нарушением мозгового кровообращения.

Материал и методы

Эксперимент проводили на 50 здоровых половозрелых крысах-самцах линии Wistar (массой 250–350 г), полученных из вивария ФГУП «Питомник лабораторных животных «РАППОЛОВО» (д. Рапполово, Всеволожский р-н, Ленинградская обл., Россия). Животные содержались согласно «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Эксперименты выполнялись согласно методическим руководствам и нормативным документам (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96; Международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997); Правила лабораторной практики (GLP) в РФ, утвержденные приказом Минздрава РФ от 19 июня 2003 г. № 267). Исследование одобрено этическим ко-

митетом Волгоградского государственного медицинского университета (рег. № IRB 00005839 IORG 0004900(OHRP)). На момент выполнения эксперимента животные были здоровыми, без изменений поведения и аппетита.

Моделирование НМК проводили поэтапно методом билатеральной перевязки общих сонных артерии (ОСА) (рис. 1). Данная модель была выбрана для снижения уровня летальности прооперированных животных. Необратимая окклюзия ОСА у крыс выполнялась следующим образом: после наркотизации животных комбинацией ксилазина (8 мг/кг, Xyla, Interchemie, Нидерланды) и золетила (20 мг/кг, Zoletil 100, Valdepharm, Франция) и удаления шерсти в области операционного поля по срединной линии шеи проводился разрез мягких тканей, их послойное разделение для получения доступа к сосудам. Далее выполнялось выделение сосудисто-нервного пучка, выделение ОСА и поиск ее бифуркации. Отступив 5 мм от места бифуркации, левую ОСА перевязывали лигатурой до полной остановки кровотока, затем рану обрабатывали хлоргексидином и послойно ушивали.

Через год после операции у животных оценивали протромбиновое время по Квику, тромбиновое время, уровень фибриногена по Клаусу, агрегацию тромбоцитов, выраженность неврологического дефицита в тестах «открытое поле», «ротарод», «адгезивный тест», когнитивные функции в тестах «водный лабиринт Морриса» и «условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ) [7–9].

Параметры коагуляционного гемостаза и уровень фибриногена измеряли методом автоматического определения времени образования сгустка с помощью коагулометра АПГ2-01 и наборов реагентов производства НПО «Ренам». Влияние соединения на функциональную активность тромбоцитов определяли на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов «Биола» 220LA. Кровь для проведения тестов отбирали из подъязычной вены [10, 11].

В тесте «открытое поле» по количеству пересеченных квадратов установки оценивали двигательную активность, а по сумме исследовательских актов (заглядываний в норки и актов стоек) – ориентировочно-исследовательскую активность. В водном лабиринте Морриса оценивали пространственную память и процесс обучения. В тесте «ротарод» оценивали моторную координацию. На основании результатов «адгезивного теста» определяли выраженность сенсорно-моторных нарушений. Когнитивную функцию оценивали, учитывая латентный период захода в темный отсек установки УРПИ [7–9].

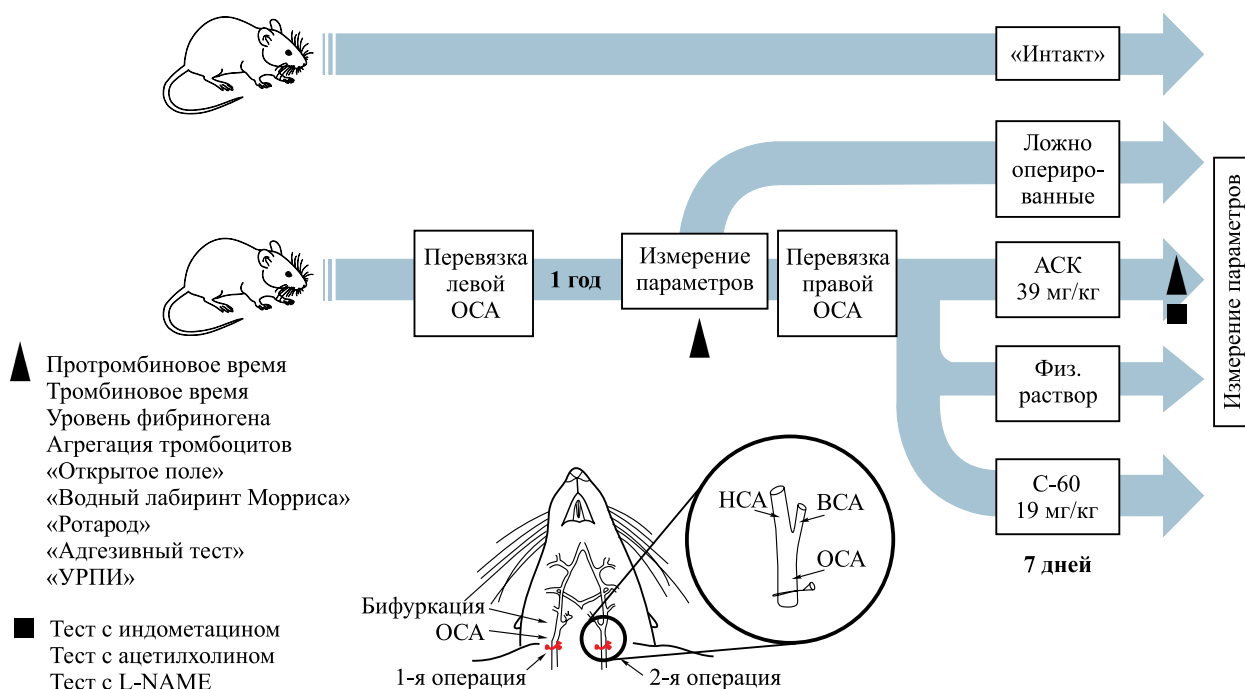


Рис. 1. Дизайн исследования
Fig. 1. Study design

После проведения данных тестов животным аналогичным образом перевязывали правую ОСА, вызывая тем самым острое НМК. После операции животные были разделены на 5 групп ($n = 10$): получавшие в течение 7 дней физиологический раствор («Контроль»), АСК или исследуемое соединение С-60, интактные (группа «Интакт») и ложнооперированные (ЛО) животные, у которых была перевязана только левая ОСА. Препараты вводились перорально через зонд в виде водных растворов в объеме из расчета 0,1 на 100 г массы тела, в дозах: АСК – 39 мг/кг (Sigma-Aldrich, США), С-60 – 19 мг/кг.

После 7 дней лечения животных тестировали, как описано выше, для определения эффективности проводимой терапии, затем под общей анестезией (хлоралгидрат 400 мг/кг, Panreac, Испания) у них определяли уровень мозгового кровообращения и диаметр артериальных пиальных сосудов. Для исследования простаглицлино-синтезирующей активности эндотелия сосудов проводились пробы с индометацином – неселективным ингибитором циклооксигеназы, ацетилхолином и N-нитро-L-аргинин-метиловым эфиром (L-NAME) – ингибитором NO-синтазы. Изучали реакцию пиальных сосудов на орошение поверхности раствором индометацина (2×10^{-5} M, Sigma-Aldrich, США, время наблюдения 20 мин), эндотелиальную дисфункцию сосудов исследовали в тестах с ацетилхолином (40 мкг/кг, Sigma-Aldrich, США, время наблюд-

ния 20 мин) и L-NAME (10 мг/кг, Sigma-Aldrich, время наблюдения 20 мин), которые вводили поочередно, внутривенно. Высверливали отверстие $0,5 \times 0,5$ см, твердая мозговая оболочка в пределах которого удалялась. Методом прижизненной микрофотосъемки фиксировали фоновое изображение сосудов и их реакцию на индометацин, ацетилхолин и L-NAME. Линейные размеры сосудов определяли при помощи программы «Inspector Matrox». Измеряли ширину потока эритроцитов, соответствующую внутреннему диаметру сосуда, и вычисляли площадь поперечного сечения сосуда по формуле: $S = \pi r^2$, где r – радиус сосуда. Учитывали число участков и изменение средней площади сечения сосудов. О простаглицлино-синтетической активности эндотелия судили по числу констрикторных реакций сосудов на индометацин, ацетилхолин и L-NAME [11].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m); данные на рисунках представлены в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критериев Шапиро – Уилка и Данна, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования установлено, что по сравнению с группой контрольных животных исследуемые соединения достоверно увеличивают

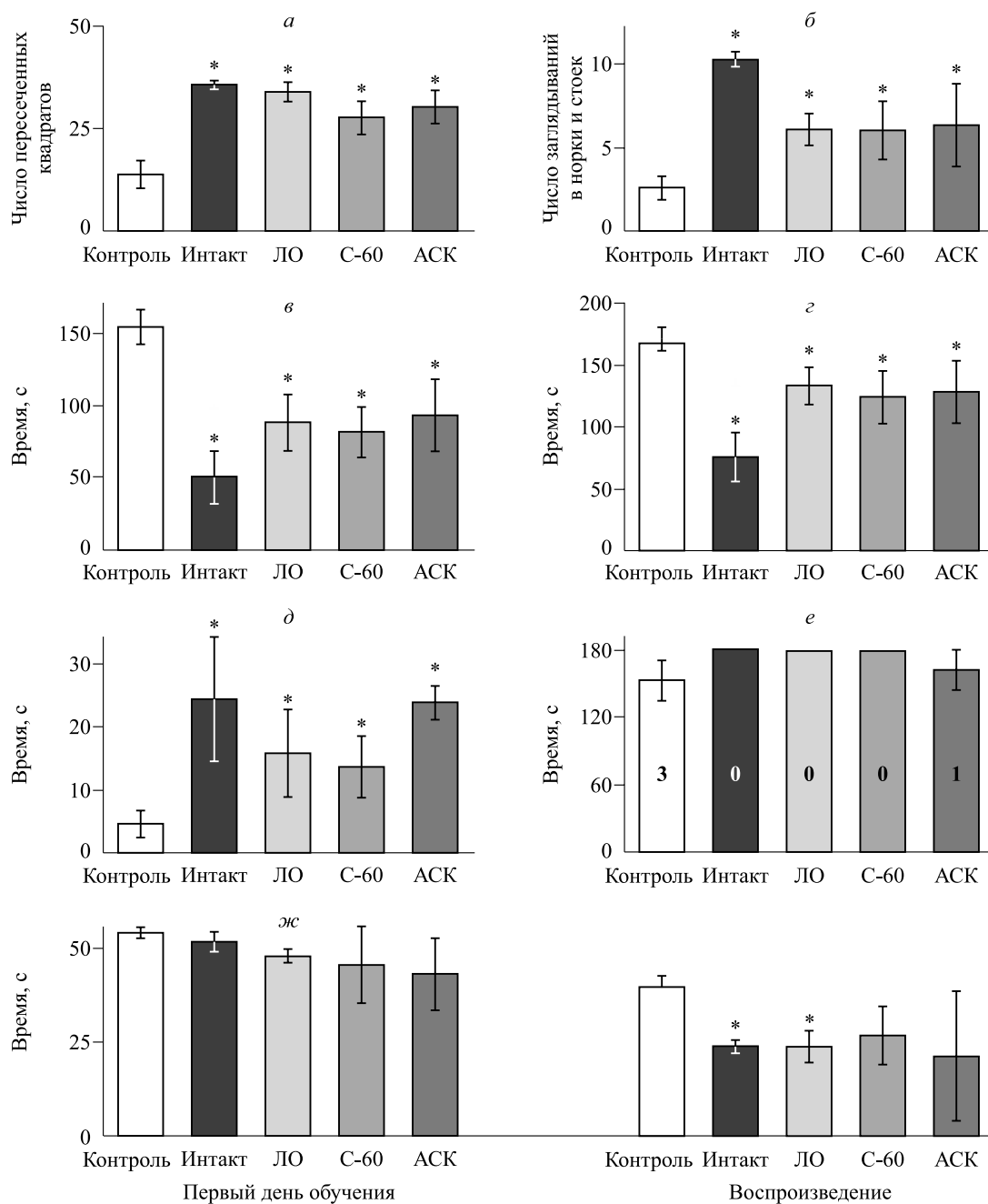


Рис. 2. Результаты теста «открытое поле» (а – число пересеченных квадратов, б – сумма исследовательских актов (заглядываний в норки и актов стоек), адгезивного теста (в – время обнаружения инородного предмета на ладонной поверхности лапы, г – время снятия инородного предмета с ладонной поверхности лапы), теста «ротарод» (д – время первого падения с вращающегося стержня), когнитивного теста (е – время захода и количество зашедших в темный отсек установки УРПИ), теста «водный лабиринт Морриса» (ж – время нахождения платформы); * – отличие от величины соответствующего показателя группы «Контроль» статистически значимо при $p < 0,05$

Fig. 2. The results of the “open field” test (a – the number of crossed squares, б – the number of peeps into the burrows), adhesive test (в – time of detection of a foreign object on the palmar surface of the paw, г – time of removal of a foreign object from the palmar surface of the paw), test “rotarod » (д – the time of the first fall from a rotating rod), cognitive test (е – the time of entry and the number of people who entered the dark compartment of the CRPA installation), the “Morris water maze” test (ж – the time the platform was found); * – difference from the value of the corresponding indicator of the “Control” group is statistically significant at $p < 0.05$

двигательную (рис. 2, а) и ориентировочно-исследовательскую активность крыс в тесте «открытое поле» (рис. 2, б) (соответственно в 2 раза для группы С-60 и в 2,3 раза в группе АСК, в 2,4 раза для группы С-60 и в 2,5 раза в группе АСК), в адгезивном тесте уменьшают время обнаружения (на 47 %, С-60 (рис. 2, в), на 40 %, АСК (рис. 2, г)) и снятия инородного предмета с ладонной поверхности передних лап (на 27 %, С-60, и на 24 %, АСК), что свидетельствовало об улучшении когнитивных и сенсорно-моторных функций мозга животных; в тесте «ротарод» увеличивают время первого падения (в 3 раза, С-60, и в 5 раз, АСК (рис. 2, д)), т.е. улучшают моторную координацию животных. В тесте УРПИ наблюдалось улучшение когнитивных функций мозга крыс: в группе С-60 ни одно животное не зашло в темный

отсек в сравнении с группой АСК (одно животное зашло в темный отсек) (рис. 2, е). Увеличение воспроизведения у крыс, прошедших терапию С-60 и АСК, в тесте «водный лабиринт Морриса» и мнестических функций проявлялось в уменьшении времени нахождения платформы (соответственно на 33 и 46 % по сравнению с группой контрольных животных) (рис. 2, ж).

Оценка относительного уровня мозгового кровотока в тесте с индометацином показала, что у групп С-60 и АСК наблюдалось менее выраженная, чем у группы контрольных животных, вазоконстрикторная реакция пиальных сосудов головного мозга (соответственно на 42 и 44 %) (рис. 3, а). Данный эффект можно объяснить тем, что циклооксигеназа, которую должен ингибировать индометацин, уже провзаимодействовала с

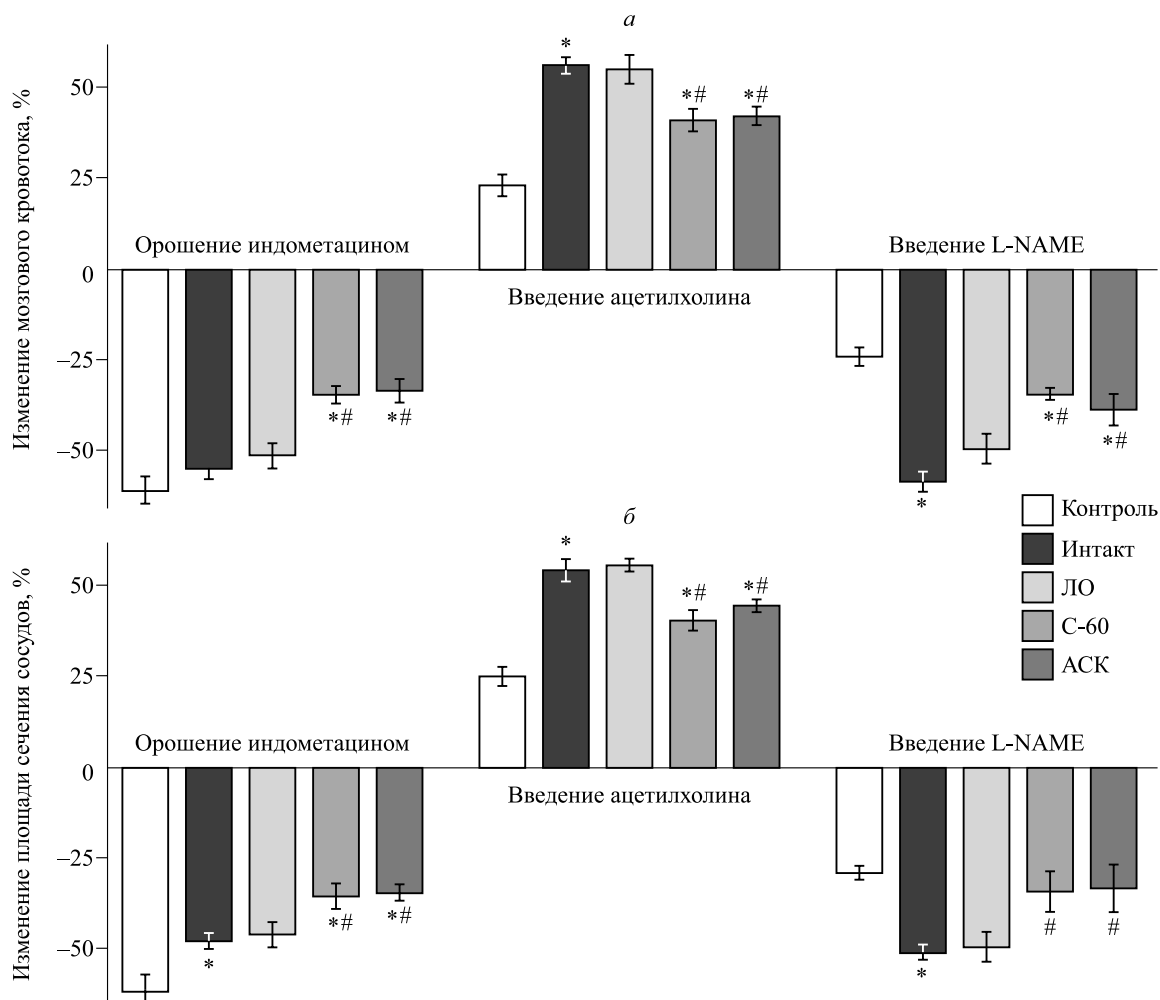


Рис. 3. Результаты оценки изменения мозгового кровотока (а) и площади поперечного сечения пиальных сосудов (б); обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы «Контроль», # – группы «Интакт»

Fig. 3. Results of assessment of changes in cerebral blood flow (a) and cross-sectional area of pial vessels (b); statistically significant ($p < 0.05$) differences from the values of the corresponding indicators are indicated: * – groups "Control", # – groups "Intact"

препаратами в течение семидневной терапии. В тесте с ацетилхолином у групп С-60 и АСК наблюдалось увеличение вазодилатации пиальных сосудов (на 76 и 81 % соответственно по сравнению с группой контрольных животных). С-60 и АСК увеличивали сужение пиальных сосудов в ответ на L-NAME (на 44 и 64 % соответственно по сравнению с контролем), поскольку эндотелий сосудов микроциркуляции головного мозга крыс данных групп практически восстановлен, что обуславливает активность NO-синтазы.

Действие препаратов на пиальные сосуды головного мозга можно также проследить при оценке их суммарной площади сечения. При орошении пиальных сосудов индометацином у групп С-60 и АСК она уменьшалась (на 42 и 44 % соответственно по сравнению с группой контрольных животных) (рис. 3, б), так как циклооксигеназа ингибирована вследствие терапии. При введении ацетилхолина у групп С-60 и АСК наблюдалось увеличение площади сечения пиальных сосудов (на 58 и 75 % соответственно), при введении L-NAME – уменьшение на 16 и 13 % соответственно в сравнении с группой «Контроль». Данные результаты свидетельствуют о том, что

соединения С-60 и АСК увеличивают эндотелий-зависимую вазодилатацию мозговых сосудов.

В группах С-60 и АСК наблюдалось уменьшение протромбинового времени на 19 и 23 % соответственно по сравнению с группой «Контроль» (рис. 4, а), что доказывает склонность к гиперкоагуляции и развитию тромбозов. Тромбиновое время увеличилось на 9 % (С-60) и 12 % (АСК) по сравнению с группой контрольных животных (рис. 4, б), уровень фибриногена снизился на 18 и 20 % соответственно (рис. 4, в), свидетельствуя об уменьшении влияния инсульта на коагуляционный гемостаз. Степень агрегации тромбоцитов уменьшилась на 37 % (С-60) и 41 % (АСК) по сравнению с группой контрольных животных (рис. 4, з).

Заключение

По результатам проведенного исследования установлено, что новое производное салициловой кислоты, дикалиевая соль N-(3-гидроксибензоил) таурина под лабораторным шифром С-60, снижает выраженность неврологического дефицита, улучшает параметры гемостаза и функциональ-

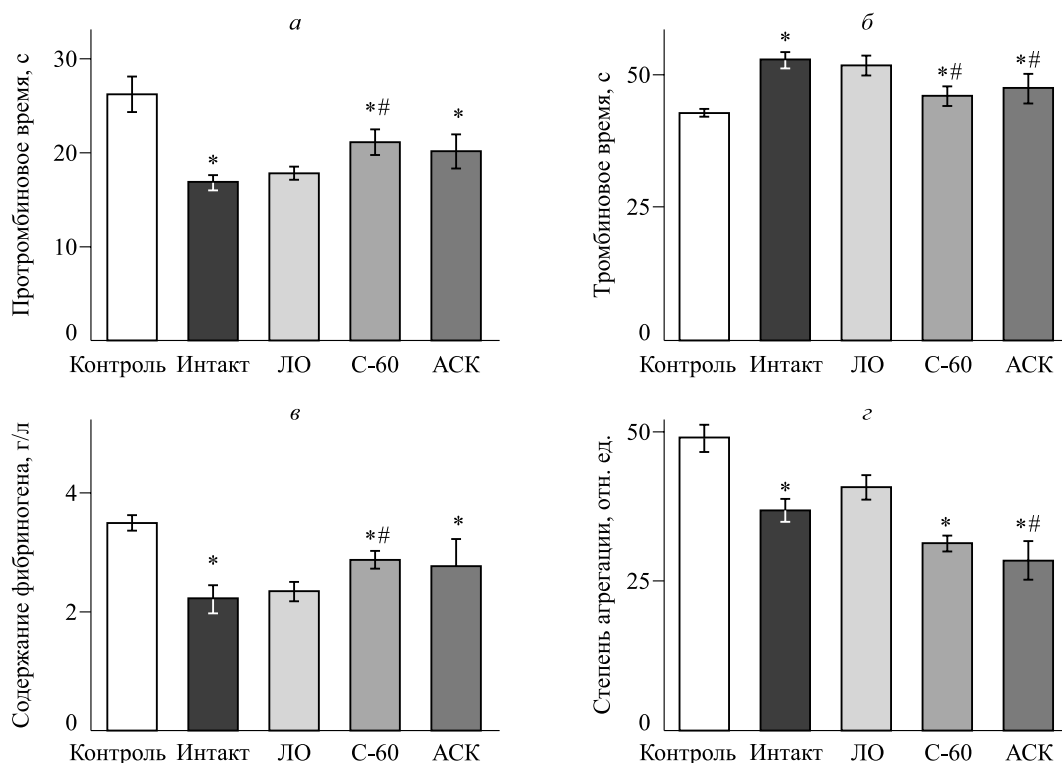


Рис. 4. Результаты оценки коагуляционного гемостаза; обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы «Контроль», # – группы «Интакт»

Fig. 4. Results of assessment of coagulation hemostasis; statistically significant ($p < 0.05$) differences from the values of the corresponding indicators are indicated: * – groups “Control”, # – groups “Intact”

ное состояние мозговых сосудов у крыс с нарушением мозгового кровообращения.

Список литературы

1. Концевая А.В., Драпкина О.М., Баланова Ю.А., Имаева А.Э., Суворова Е.И., Худяков М.Б. Экономический ущерб сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации в 2016 году. *Рац. фармакотерапия в кардиол.* 2018;14(2):156–166. doi: 10.20996/1819-6446-201814-2-156-166

2. Федин А.И., Бадалян К.Р. Обзор клинических рекомендаций лечения и профилактики ишемического инсульта. *Ж. неврол. и психиатрии.* 2019;119(8-2):95–100. doi: 10.17116/jnevro201911908295

3. Гоголева А.Г., Захаров В.В. Вопросы этиологии, проявлений и терапии хронических цереброваскулярных заболеваний. *Неврол., нейропсихиатрия, психосоматика.* 2020;12(5):84–91. doi: 10.14412/2074-2711-2020-5-84-91

4. Signorelli S.S., Platania I., Tomasello S.D., Mangiafico M., Barcellona G., di Raimondo D., Gaudio A. Insights from experiences on antiplatelet drugs in stroke prevention: a review. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(16):5840. doi: 10.3390/ijerph17165840

5. Брель А.К., Тюренков И.Н., Лисина С.В., Будаева Ю.Н., Родина Н.В., Волотова Е.В., Куркин Д.В., Бакулин Д.А. N-(4-ацетоксибензоил) глицинат калия, обладающий церебропротективным действием. Пат. РФ № RU 2556637 C1; опубл. 10.07.2015.

6. Брель А.К., Атапина Н.В., Будаева Ю.Н., Лисина С.В., Царук С.С., Куркин Д.В., Тюренков И.Н. Синтез, антиагрегационная и антитромботическая активности новых производных гидроксibenзойных кислот с тауриновым фрагментом. *Фармация и фармакол.* 2021;9(3):222–234. doi: 10.19163/2307-9266-2021-9-3-222-234

7. Kurkin D.V., Bakulin D.A., Morkovin E.I., Kovalev N.S., Dubrovina M.A., Verkholyak D.V., Abrosimova E.E., Smirnov A.V., Shmidt M.V., Tyurenkov I.N., ... Dorotenko A.R. Neuroprotective action of cortexin, cerebrolysin and actovegin in acute or chronic brain ischemia in rats. *PLoS ONE.* 2021;16(7):e0254493. doi: 10.1371/journal.pone.0254493

8. Bouet V., Boulouard M., Toutain J., Divoux D., Bernaudin M., Schumann-Bard P., Freret T. The adhesive removal test: a sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice. *Nat. Protoc.* 2009;4(10):1560–1564. doi: 10.1038/nprot.2009.125

9. Bohlen M., Cameron A., Metten P., Crabbe J.C., Wahlsten D. Calibration of rotational acceleration for the rotarod test of rodent motor coordination. *J. Neurosci. Methods.* 2009;178(1):10–14. doi: 10.1016/j.jneumeth.2008.11.001

10. Seibel J., Bodié K., Weber S., Bury D., Kron M., Blaich G. Comparison of haematology, coagulation and clinical chemistry parameters in blood samples from the sublingual vein and vena cava in Sprague–Dawley rats. *Lab. Anim.* 2010;44(4):344–351. doi: 10.1258/la.2010.009049

11. Горшкова О.П., Шуваева В.Н., Дворецкий Д.П. Динамика коагуляционного гемостаза у крыс в постишемическом периоде. *Регионар. кровообращ. и микроциркуляция.* 2018;17(4):62–68. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-4-62-68

References

1. Kontsevaya A.V., Drapkina O.M., Balanova Yu.A., Imaeva A.E., Suvorova E.I., Khudyakov M.B. Economic burden of cardiovascular diseases in the Russian Federation in 2016. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology.* 2018;14(2):156–166. [In Russian]. doi: 10.20996/1819-6446-2018-14-2-156-166

2. Fedin A.I., Badalyan K.R. Review of clinical guidelines for the treatment and prevention of ischemic stroke. *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni Sergeya Sergeevicha Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2019;119(8-2):95–100. [In Russian]. doi: 10.17116/jnevro201911908295

3. Gogoleva A.G., Zakharov V.V. The etiology, manifestations, and therapy of chronic cerebrovascular diseases. *Nevrologiya, neyropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2020;12(5):84–91. [In Russian]. doi: 10.14412/2074-2711-2020-5-84-91

4. Signorelli S.S., Platania I., Tomasello S.D., Mangiafico M., Barcellona G., di Raimondo D., Gaudio A. Insights from experiences on antiplatelet drugs in stroke prevention: a review. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020;17(16):5840. doi: 10.3390/ijerph17165840

5. Brel A.K., Tyurenkov I.N., Lisina S.V., Budaeva Yu.N., Rodina N.V., Volotova E.V., Kurkin D.V., Bakulin D.A. Potassium N-(4-acetoxybenzoyl)glycinate possessing cerebroprotective activity. Patent RF № RU 2556637 C1; published 10.07.2015. [In Russian].

6. Brel A.K., Atapina N.V., Budaeva Yu.N., Lisina S.V., Tsaruk S.S., Kurkin D.V., Tyurenkov I.N. Synthesis, antiaggregation and antithrombotic activities of new derivatives of hydroxybenzoic acids with tauric fragment. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy and Pharmacology.* 2021;9(3):222–234. [In Russian]. doi: 10.19163/2307-9266-2021-9-3-222-234

7. Kurkin D.V., Bakulin D.A., Morkovin E.I., Kovalev N.S., Dubrovina M.A., Verkholyak D.V., Abrosimova E.E., Smirnov A.V., Shmidt M.V., Tyurenkov I.N., ... Dorotenko A.R. Neuroprotective action of cortexin, cerebrolysin and actovegin in acute or chronic brain ischemia in rats. *PLoS ONE.* 2021;16(7):e0254493. doi: 10.1371/journal.pone.0254493

8. Bouet V., Boulouard M., Toutain J., Divoux D., Bernaudin M., Schumann-Bard P., Freret T. The adhesive removal test: a sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice. *Nat. Protoc.* 2009;4(10):1560–1564. doi: 10.1038/nprot.2009.125

9. Bohlen M., Cameron A., Metten P., Crabbe J.C., Wahlsten D. Calibration of rotational acceleration for the rotarod test of rodent motor coordination. *J. Neurosci. Methods.* 2009;178(1):10–14. doi: 10.1016/j.jneumeth.2008.11.001

10. Seibel J., Bodié K., Weber S., Bury D., Kron M., Blaich G. Comparison of haematology, coagulation and

clinical chemistry parameters in blood samples from the sublingual vein and vena cava in Sprague–Dawley rats. *Lab. Anim.* 2010;44(4):344–351. doi: 10.1258/la.2010.009049

11. Gorshkova O.P., Shuvaeva V.N., Dvoretiskij D.P. The coagulation hemostasis dynamics in rats in the post-ischemic time. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya = Regional Blood Circulation and Microcirculation.* 2018;17(4):62–68. [In Russian]. doi: 10.24884/1682-6655-2018-17-4-62-68

Сведения об авторах:

Владислав Эдуардович Пустынников, ORCID: 0000-0001-9561-5320, e-mail: Pustynnikov200122@gmail.com

Светлана Сергеевна Царук, ORCID: 0000-0002-7726-3787, e-mail: svtlana.tsaruk@yandex.ru

Евгений Андреевич Фомичев, ORCID: 0000-0003-1837-4337, e-mail: FomichevVSMU@gmail.com

Елизавета Алексеевна Милосердова, ORCID: 0000-0002-8007-2084, e-mail: elizaveta.milosersowa@yandex.ru

Денис Владимирович Куркин, д.фарм.н., ORCID: 0000-0002-1116-3425, e-mail: strannik986@mail.ru

Дмитрий Александрович Бакулин, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4694-3066, e-mail: mbfdoc@gmail.com

Тамуна Мамукаевна Андриашвили, ORCID: 0000-0002-1116-3425, e-mail: tamuna.andriashvili@yandex.ru

Алина Андреевна Соколова, ORCID: 0000-0002-5116-8458, e-mail: chudi.lis.14@gmail.com

Наталья Валентиновна Атапина, ORCID: 0000-0001-8272-5950, e-mail: rodina.natasha@inbox.ru

Анатолий Кузьмич Брель, д.х.н., проф., ORCID: 0000-0003-3980-2847, e-mail: brelak@yandex.ru

Юлия Николаевна Будаева, к.х.н., ORCID: 0000-0003-2034-8285, e-mail: julya82@list.ru

Иван Николаевич Тюренков, д.м.н., проф., ORCID: 000-0001-7574-3923, e-mail: fibfuv@mail.ru

Information about the authors:

Vladislav E. Pustynnikov, ORCID: 0000-0001-9561-5320, e-mail: Pustynnikov200122@gmail.com

Svetlana S. Tsaruk, ORCID: 0000-0002-7726-3787, e-mail: svtlana.tsaruk@yandex.ru

Evgeny A. Fomichev, ORCID: 0000-0003-1837-4337, e-mail: FomichevVSMU@gmail.com

Elizaveta A. Miloserdova, ORCID: 0000-0002-8007-2084, e-mail: elizaveta.milosersowa@yandex.ru

Denis V. Kurkin, doctor of pharmaceutical sciences, ORCID: 0000-0002-1116-3425, e-mail: strannik986@mail.ru

Dmitry A. Bakulin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4694-3066, e-mail: mbfdoc@gmail.com

Tamuna M. Andriashvili, ORCID: 0000-0002-1116-3425, e-mail: tamuna.andriashvili@yandex.ru

Alina A. Sokolova, ORCID: 0000-0002-5116-8458, e-mail: chudi.lis.14@gmail.com

Natalya V. Atapina, ORCID: 0000-0001-8272-5950, e-mail: rodina.natasha@inbox.ru

Anatoly K. Brel, doctor of chemical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-3980-2847, e-mail: brelak@yandex.ru

Yulia N. Budaeva, candidate of chemical sciences, ORCID: 0000-0003-2034-8285, e-mail: julya82@list.ru

Ivan N. Tyurenkov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 000-0001-7574-3923, e-mail: fibfuv@mail.ru

Поступила в редакцию 14.02.2022

После доработки 11.07.2022

Принята к публикации 25.08.2022

Received 14.02.2022

Revision received 11.07.2022

Accepted 25.08.2022

Особенности лабораторных показателей у детей с мультисистемным воспалительным синдромом, связанным с SARS-CoV-2

О.О. Обухова¹, Т.И. Рябиченко¹, Г.С. Карпович², Г.А. Скосырева¹, И.В. Куимова², М.И. Воевода¹

¹ ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Резюме

Мультисистемный воспалительный синдром (МВС-Д) – новое детское заболевание, связанное с коронавирусом SARS-CoV-2, которое проявляется через 3–4 недели после заражения. Развитие МВС-Д возможно и при бессимптомном течении коронавирусной инфекции. Патогенетические особенности МВС-Д остаются неясными. **Цель исследования** – изучение состояния показателей периферической крови у детей с МВС, связанным с SARS-CoV-2, при поступлении в стационар. **Материал и методы.** Обследовано 52 ребенка с МВС-Д в возрасте от 1 года до 14 лет, госпитализированных в детскую клиническую больницу № 3 г. Новосибирска в октябре–декабре 2020 г. Проводилось тестирование на выделение РНК SARS-CoV-2 в соскобах из носоглотки и ротоглотки методом ПЦР в режиме реального времени (тест-системы НПО «ДНК-Технология», Россия). Наличие специфических антител IgM и IgG к SARS-CoV-2 в сыворотке крови определяли с помощью ИФА с использованием наборов АО «Вектор-Бест» (Россия). **Результаты и их обсуждение.** Отмечено, что РНК вируса SARS-CoV-2 обнаружена только в 12,8 % случаев, в то время как специфические антитела IgG в сыворотке крови выявлены у 100 % детей. Только у 53,85 % детей с МВС-Д в сыворотке крови определялись IgM к антигенам SARS-CoV-2. Установлено, что как у детей до 7 лет, так и у детей 8–14 лет наблюдался невыраженный лейкоцитоз, при этом у детей старшей возрастной группы содержание лейкоцитов достоверно ниже, чем у детей в возрасте 1–7 лет. В обеих возрастных группах у части детей отмечались крайне низкие значения показателя. Причины выраженной лейкопении на фоне избыточного воспаления остаются неясными. Возрастные группы (1–7 и 8–14 лет) по относительному содержанию лимфоцитов и нейтрофилов между собой статистически значимо не различаются. При исследовании индивидуальных значений отмечено, что только у части детей наблюдается лимфопения разной степени выраженности. **Заключение.** На фоне незначительного лейкоцитоза у детей с МВС-Д при поступлении в стационар имеется тенденция к развитию как относительной, так и абсолютной лимфопении, не зависящая от возраста. В исследовании отмечена крайне выраженная вариативность индивидуальных значений оцениваемых показателей периферической крови независимо от возраста, что при схожих клинических симптомах, характеризующихся как МВС-Д, требует дальнейшего изучения в динамике с учетом исходных значений показателей. Явно выраженная зависимость между содержанием лейкоцитов и специфических антител IgM к антигенам SARS-CoV-2 в крови отсутствует.

Ключевые слова: дети, мультисистемный воспалительный синдром, клетки крови, коронавирус.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

Автор для переписки: Обухова О.О., e-mail: trio188@yandex.ru

Для цитирования: Обухова О.О., Рябиченко Т.И., Карпович Г.С., Скосырева Г.А., Куимова И.В., Воевода М.И. Особенности лабораторных показателей у детей с мультисистемным воспалительным синдромом, связанным с SARS-CoV-2. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022;42(5):61–68. doi: 10.18699/SSMJ20220508

Features of laboratory parameters in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2

O.O. Obukhova¹, T.I. Ryabichenko¹, G.S. Karpovich², G.A. Skosyreva¹, I.V. Kuimova², M.I. Voevoda¹

¹ Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

² Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

Abstract

Multisystem inflammatory syndrome (MIS-C) is a new childhood disease associated with coronavirus SARS-CoV-2 that manifests itself 3–4 weeks after infection. The development of MIS-C is possible, despite the asymptomatic course of coronavirus infection. The pathogenetic features of MIS-C remain unclear. The aim of the study was to investigate the state of peripheral blood parameters in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2 upon admission to a hospital. **Material and methods.** We examined 52 children with MIS-C from 1 to 14 years old, hospitalized in Children's Clinical Hospital No. 3 in Novosibirsk in October–December 2020. Testing for the isolation of SARS-CoV-2 RNA in scrapings from the nasopharynx and oropharynx was carried out using real time PCR (test systems of DNA-Technology, Russia). The presence of specific IgM and IgG antibodies to SARS-CoV-2 in blood serum was determined by ELISA using Vector-Best kits (Russia). **Results and discussion.** It was noted that SARS-CoV-2 virus RNA was found only in 12.8 % of cases, while specific IgG antibodies in blood serum were detected in 100 % of children. IgM to SARS-CoV-2 antigens were detected in the blood serum only in 53.85 % of children with MIS-C. It has been established that unexpressed leukocytosis was found both in children under the age of 7 and in children of 8–14 years old. However, the leukocytes content in children of the older age group was significantly lower than in children aged 1–7 years. At the same time, in both age groups, some children had extremely low values of the indicator. The causes of severe leukopenia against the background of excessive inflammation remain unclear. Age groups (1–7 and 8–14 years) do not differ statistically significantly in the relative content of lymphocytes and neutrophils. In the study of individual values of the relative content of lymphocytes within the age groups, it was noted that only some children had lymphopenia of varying severity. **Conclusions.** Against the background of minor leukocytosis in children with MIS-C, upon admission to the hospital, there is a tendency to develop both relative and absolute lymphopenia, regardless of age. The study noted an extremely pronounced variability of individual values of the evaluated peripheral blood parameters, regardless of age, which, with similar clinical symptoms, characterized as MIS-C, requires further study in dynamics, taking into account the initial values of the indicators. There is no pronounced relationship between the leukocytes content and specific IgM antibodies to SARS-CoV-2 antigens in the blood.

Key words: children, multisystem inflammatory syndrome, blood cells, coronavirus.

Conflict of interests. The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The work was performed using the equipment of the Proteomic Analysis Center for Collective Use, supported by funding from the Russian Ministry of Education and Science (agreement No. 075-15-2021-691).

Correspondence author: Obukhova O.O., e-mail: trio188@yandex.ru

Citation: Obukhova O.O., Ryabichenko T.I., Karpovich G.S., Skosyreva G.A., Kuimova I.V., Voevoda M.I. Features of laboratory parameters in children with multisystem inflammatory syndrome associated with SARS-CoV-2. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):61–68. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220508

Введение

Мультисистемный воспалительный синдром (МВС) – новое детское заболевание, связанное с коронавирусом SARS-CoV-2, которое является опасным и потенциально смертельным. При быстром распознавании и адекватной медицинской помощи большинство детей не только выживают, но и клинически выздоравливают, однако долгосрочные последствия этого состояния в настоя-

щее время неизвестны. Также неясны патогенетические механизмы развития самого МВС [1, 2].

На ранних этапах пандемии новой коронавирусной инфекции считалось, что дети обладают высокой устойчивостью к SARS-CoV-2 и у них может развиваться легкое заболевание верхних дыхательных путей [3–5]. Однако в начале мая 2020 года в Великобритании был опубликован отчет, в котором описываются восемь случаев тяжелого

заболевания детей с вовлечением в процесс нескольких органов, и это острое состояние было названо детским МВС, временно связанным с COVID-19 (PIMS-TS) [6]. По мере того, как во всем мире возникало все больше случаев заболевания, Центры по контролю и профилактике заболеваний и ВОЗ назвали это заболевание МВС у детей (МВС-Д) [7, 8]. С течением пандемии отмечено увеличение числа пациентов с МВС-Д [1, 9].

Одной из первоначальных проблем, с которой столкнулись клиницисты, была дифференциация МВС-Д и болезни Кавасаки или синдрома токсического шока [10, 11]. На сегодняшний день подтверждено положение, что болезнь Кавасаки – это васкулит, который обычно сопровождается высокой температурой и острым воспалением слизистой оболочки у детей [12]. Хотя, как правило, это самоограничивающееся состояние, у некоторых детей могут быть серьезные осложнения, включая аневризмы коронарных артерий, дисфункцию миокарда и тромботические осложнения [13, 14]. С другой стороны, синдром токсического шока является потенциально смертельным заболеванием, возникающим в результате выделения бактериальных токсинов. Клинически это проявляется лихорадкой, сыпью, шоком, рвотой и диареей и требует антибактериальной терапии, а также необходимых мероприятий для стабилизации гемодинамики [15]. Отмечено, что болезнь Кавасаки и МВС-Д имеют несколько общих симптомов, таких как кожная сыпь, лимфаденопатия, «клубничный язык» и повышение содержания воспалительных биомаркеров. МВС-Д при COVID-19 имеет некоторые уникальные особенности, в том числе более позднее начало (случаи у детей в подростковом возрасте), распространенность абдоминальных симптомов и большее количество случаев систолической дисфункции левого желудочка [2].

Было проведено сравнение взаимосвязей возраста и лабораторных данных у пациентов с МВС-Д, болезнью Кавасаки и синдромом токсического шока [16]. Также изучались демографические данные, результаты лабораторных исследований, методы лечения и проводилась сравнительная оценка полученных результатов при МВС-Д и типичном течении COVID-19 у детей [16, 17]. Отмечено, что воспаление при этом новом детском заболевании выражено сильнее, чем при COVID-19; по сравнению с возрастными нормами доля нейтрофилов больше, а лимфоцитов – меньше. Авторы предполагают, что лимфопения может быть одним из диагностических маркеров МВС-Д. Однако в других исследованиях статистически значимых изменений в клинических анализах крови у детей с COVID-19 либо

не обнаружено, либо они были несущественными и кратковременными [18], либо разнонаправленными в зависимости от тяжести заболевания [19].

МВС-Д обычно проявляется через 3–4 недели после заражения SARS-CoV-2 [20]. Наиболее тревожно то, что его развитие возможно и при бессимптомном течении новой коронавирусной инфекции [21, 22]. Иммунный ответ, вызванный вакцинацией БЦЖ или MMR (корь, краснуха, паротит), может реагировать на SARS-CoV-2, что приводит к быстрому избавлению от вируса; или воздействие этих патогенов запускает общий каскад иммунитета и иногда вызывает избыточное воспаление, наблюдаемое в тяжелых случаях, таких как МВС-Д и болезнь Кавасаки. Эти данные свидетельствуют о возможном перекрестном взаимодействии между БЦЖ, вирусом кори и SARS-CoV-2 и могут способствовать обсуждению иммунного ответа, связанного с SARS-CoV-2, ведущего к МВС-Д [23, 24]. Однако на сегодняшний день патогенетические механизмы развития МВС-Д, обусловленного SARS-CoV-2, остаются неясными и требуют дальнейшего изучения.

Целью настоящего исследования явилось изучение состояния показателей периферической крови у детей с МВС, связанным с SARS-CoV-2, при поступлении в стационар.

Материал и методы

Обследованы 52 ребенка в возрасте от 1 до 14 лет (мальчики – 54 %, девочки – 46 %), госпитализированных в детскую клиническую больницу № 3 г. Новосибирска за период с октября по декабрь 2020 г. с тяжелым и крайне тяжелым течением МВС-Д. Для подтверждения диагноза при поступлении ребенка в стационар проводилось тестирование на выделение РНК SARS-CoV-2 в соответствии с рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации и определение содержания специфических антител классов IgM и IgG к антигенам SARS-CoV-2 [25]. Вирус идентифицировали в соскобах из носоглотки и ротоглотки методом ПЦР в реальном времени с помощью «Набора реагентов для выявления РНК коронавирусов SARS-CoV-2 и подобных SARS-CoV методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (SARS-CoV-2/SARS-CoV)» (ООО НПО «ДНК-Технология», Россия). Содержание антител к SARS-CoV-2 классов IgM и IgG в сыворотке крови определяли с помощью наборов реагентов «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия) по инструкции производителя.

Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», Федеральным законом Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», а также требованиями Федерального закона от 27.07.2006 № 152-ФЗ (ред. от 21.07.2014) «О персональных данных» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.09.2015). У всех законных представителей пациентов (родители) получено добровольное информированное согласие на забор биологических жидкостей, а также использование данных исследования в научных целях. Верификация диагноза проводилась врачами специализированного инфекционного отделения детской городской клинической больницы № 3.

Для сравнения относительных величин использовался точный критерий Фишера. Абсолютные значения исследованных количественных показателей представлены в виде средних величин и их стандартной ошибки ($M \pm m$). Сравнительный анализ количественных показателей проводился с использованием критерия множественного сравнения Ньюмена – Кейлса. Минимальную вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5%-м уровне значимости ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Клинически МВС у обследованных детей проявлялся высокой лихорадкой, полиорганным поражением (с развитием полисерозита, перикардита, миокардита, мезаденита, пневмонии, плеврита, пиелонефрита, артрита, энтероколита и других симптомов). В процессе сбора анамнеза отмечено, что контакт по инфекции SARS-CoV-2 подтвержден только у 29,23 % детей, причем практически у всех – в семье. Возраст обследованных колебался от 1 года до 14 лет (средний возраст – $7,18 \pm 3,14$ года). Количество детей в разных возрастных группах несколько различалось. Так, наибольшая доля детей, госпитализированных с МВС-Д, определялась для возрастной группы от 8 до 10 лет – 32,69 %, наименьшая – 15,38 % – для группы от 1 до 3 лет. В подростковой группе «11–14 лет» было 23,08 % обследованных, в возрастной группе «4–7 лет» – 28,85 %. Статистически значимых различий по количеству детей в разных возрастных группах не выявлено ($p = 0,588$), однако наименьшее число случаев МВС-Д среди детей от 1 года до 3 лет, возможно,

обусловлено менее активным развитием в этом возрасте аутореактивных процессов.

Длительность заболевания до момента госпитализации колебалась от 1 суток до 21 дня. Однако, видимо, этот показатель не может служить критерием, характеризующим активность развития патологического процесса, поскольку является крайне субъективным и расплывчатым. При сборе анамнеза родителям госпитализируемых детей задавался вопрос о том, когда впервые появились клинические признаки инфекционного заболевания. Вполне вероятно, что длительность от 18 до 21 дня обусловлена наличием любого острого инфекционного процесса или обострения хронической инфекции в носоглотке, что расценивалось как отправная точка для оценки количества дней до госпитализации. По данным имеющихся наблюдений, МВС при новой коронавирусной инфекции у детей развивается через 2–6 недель после перенесенного острого заболевания, причем острый процесс может быть бессимптомным [18]. В то же время остается неясным его патогенез, в частности, неизвестно, что является триггерным фактором, запускающим развитие масштабного патологического процесса. Возможно, в этом качестве может выступать любой респираторный вирус и связанные с ним клинические проявления, расцениваемые как начало МВС-Д. В связи с этим оценка количества дней от момента появления клинических симптомов заболевания до развития тяжелого симптомокомплекса, требующего госпитализации, представляется малоинформативной.

Подтверждение COVID-19 с помощью ПЦР-диагностики отмечено только у 12,14 % детей. В то же время у всех обследованных в сыворотке крови обнаружены антитела IgG, специфичные к антигенам SARS-CoV-2, что свидетельствует о коронавирусной этиологии МВС-Д и о COVID-19, перенесенном не менее чем за 1–3 недели до обследования, причем заболевание, видимо, протекало либо в малосимптомном варианте, либо бессимптомно, что согласуется с данными литературы. Специфические антитела IgG определяли полуколичественным методом с расчетом коэффициента позитивности, что не является точным отражением титра антител, но служит достаточно эффективным ориентиром для оценки их содержания. Величина коэффициента позитивности составила $16,98 \pm 1,64$ (референсное значение – 10,0), при этом его индивидуальные значения не имели значительных разбросов (минимальное – 16,0, максимальное – 21,1). Таким образом, можно говорить о достаточно высоком содержании специфических антител IgG у всех обследованных детей.

Таблица 1. Содержание лейкоцитов в крови детей разных возрастных групп

Table 1. Blood leukocyte content in children of different age groups

| Содержание клеток | Возраст | $M \pm m$ | Min | Max | Норма [26] | p |
|------------------------|----------|-------------------|------|-------|------------|--------|
| Лейкоциты | | | | | | |
| $\times 10^9/\text{л}$ | 1–7 лет | $15,73 \pm 9,40$ | 5,2 | 45,8 | 6–9 | 0,0036 |
| | 8–14 лет | $9,35 \pm 5,97$ | 1,2 | 33,4 | | |
| Лимфоциты | | | | | | |
| $\times 10^9/\text{л}$ | 1–7 лет | $2,43 \pm 1,65$ | 0,41 | 5,49 | 3,6–5,4 | 0,0374 |
| | 8–14 лет | $1,62 \pm 1,14$ | 0,16 | 4,21 | 1,8–2,7 | |
| % | 1–7 лет | $17,05 \pm 12,17$ | 4 | 52 | 55–65 | 0,4205 |
| | 8–14 лет | $20,16 \pm 14,85$ | 2 | 57 | 23–35 | |
| Нейтрофилы | | | | | | |
| $\times 10^9/\text{л}$ | 1–7 лет | $9,75 \pm 8,11$ | 1,19 | 37,55 | 2,4–3,6 | 0,0385 |
| | 8–14 лет | $5,90 \pm 5,23$ | 0,51 | 27,72 | 2,6–4,5 | |
| % | 1–7 лет | $66,3 \pm 15,14$ | 32 | 85 | 25–55 | 0,8862 |
| | 8–14 лет | $67,01 \pm 17,68$ | 20 | 86 | 35–60 | |

Примечание. Численность групп детей: от 1 года до 7 лет – $n = 22$, от 8 до 14 лет – $n = 32$; Min – минимальное значение; Max – максимальное значение; p – статистическая значимость различий между группами детей 1–7 и 8–14 лет.

У 53,85 % детей с МВС-Д в сыворотке крови определялись антитела IgM к антигенам SARS-CoV-2. Однако, учитывая, что для COVID-19 характерна атипичная картина сероконверсии с практически одновременным началом продукции IgM и IgG, а также возможной длительной персистенцией антител класса IgM [14, 23], отсутствие IgM почти у половины обследованных на фоне острого процесса, обеспеченного SARS-CoV-2, остается неясным. Можно предположить, что причиной этого является то, что часть антител в виде иммунных комплексов фиксирована на клетках органов-мишеней, обеспечивая тем самым развитие патологических реакций, которые и проявлялись у пациентов клинически.

Проведена оценка показателей периферической крови у обследованных детей при госпитализации (табл. 1). Установлено, что как у детей до 7 лет, так и у детей 8–14 лет наблюдался невыраженный лейкоцитоз, при этом у детей старшей возрастной группы среднее содержание лейкоцитов достоверно ниже, чем у детей в возрасте 1–7 лет. В обеих возрастных группах отмечались как крайне высокие, так и крайне низкие значения показателя. Причины выраженной лейкопении на фоне активного и даже избыточного воспаления остаются неясными.

При оценке относительного содержания лимфоцитов отмечена тенденция к лимфопении, более выраженная у детей до 7 лет, однако статистически значимых различий по величине данного показателя в возрастных группах не обнаружено. Минимальные значения содержания лимфоцитов в обеих возрастных группах на порядок меньше нормативных значений. Относительное содержа-

ние нейтрофилов превышает нормативные значения в обеих возрастных группах, которые между собой статистически значимо не различаются. При этом необходимо отметить чрезвычайно выраженную вариативность показателей (высокие значения ошибки среднего, а также значительная разница минимальных и максимальных значений показателя в группах), следствием чего явилось отсутствие достоверности различий при сравнении показателей разных возрастных групп.

Абсолютное содержание лимфоцитов в обеих возрастных группах ниже нормативного, по величине данного параметра группы статистически значимо различаются. Имеют место крайне низкие индивидуальные значения абсолютного содержания лимфоцитов, максимальные значения соответствуют норме и сопоставимы независимо от возраста. Абсолютное содержание нейтрофилов выше нормы, у младших детей оно достоверно больше, чем в старшей группе.

Анализ содержания показателей периферической крови детей в зависимости от наличия или отсутствия у них специфических антител IgM к антигенам SARS-CoV-2 показал (табл. 2), что относительное содержание нейтрофилов у детей с отсутствием IgM в сыворотке крови достоверно превышает таковое в группе с наличием IgM. По количеству лейкоцитов и лимфоцитов группы статистически значимо не различались. Таким образом, при первичном обследовании детей с МВС-Д явно выраженная зависимость между содержанием лейкоцитов и специфических антител IgM к антигенам SARS-CoV-2 в крови отсутствует.

Таблица 2. Содержание лейкоцитов в крови детей с наличием и отсутствием IgM

Table 2. Blood leukocyte content in children with and without IgM

| Содержание клеток | $M \pm m$ | Min | Max | Норма [26] | p |
|-----------------------------------|-------------------|------|-------|------------|--------|
| Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ | | | | | |
| IgM ⁺ | 10,63 \pm 4,31 | 2,51 | 32,01 | 6–9 | 0,4599 |
| IgM ⁻ | 11,61 \pm 5,36 | 1,23 | 33,41 | | |
| Лимфоциты, % | | | | | |
| IgM ⁺ | 21,0 \pm 12,97 | 4,0 | 57,0 | 23–65 | 0,1278 |
| IgM ⁻ | 16,39 \pm 7,87 | 4,0 | 36,0 | | |
| Нейтрофилы, % | | | | | |
| IgM ⁺ | 59,62 \pm 17,74 | 17,0 | 85,0 | 25–60 | 0,0235 |
| IgM ⁻ | 69,83 \pm 13,71 | 40,0 | 86,0 | | |

Примечание. IgM⁺ и IgM⁻ – группы детей с наличием или отсутствием в крови специфических антител IgM к антигенам SARS-CoV-2 соответственно; p – статистическая значимость различий между группами IgM⁺ и – IgM⁻.

Закключение

Установлено, что количество детей с МВС-Д в разных возрастных группах статистически значимо не различалось. На фоне того, что РНК вируса SARS-CoV-2 обнаружена только в 12,8 % случаев, специфические антитела IgG в сыворотке крови выявлены у 100 % детей, что, безусловно, подтверждает коронавирусную этиологию синдрома. Как у детей до 7 лет, так и у детей 8–14 лет наблюдается невыраженный лейкоцитоз, при этом у детей старшей возрастной группы содержание лейкоцитов достоверно меньше, чем у обследованных в возрасте 1–7 лет. Однако неясной является причина того, что при схожих клинических симптомах и едином этиологическом факторе МВС-Д индивидуальные уровни лейкоцитов независимо от возраста у части детей соответствовали глубокой лейкопении.

Неожиданным явилось, что возрастные группы (1–7 и 8–14 лет) по относительному содержанию лимфоцитов и нейтрофилов между собой статистически значимо не различаются. При исследовании индивидуальных значений относительного содержания лимфоцитов внутри возрастных групп отмечено, что только у части детей наблюдается лимфопения разной степени выраженности, что в сочетании с лейкопенией может свидетельствовать о супрессии лейкоцитарного звена. Полученные результаты требуют дальнейшего изучения в динамике с учетом исходных значений показателей и анализа клинических проявлений течения патологического процесса.

На фоне невыраженного лейкоцитоза у детей с МВС-Д при поступлении в стационар имеется тенденция к развитию лимфопении и нейтрофилеза. Антитела IgM к антигенам SARS-CoV-2 определяются в сыворотке крови лишь половины детей с МВС-Д. Различий по содержанию лейко-

цитов периферической крови у обследованных с наличием и отсутствием IgM не обнаружено.

Список литературы / References

1. Лобзин Ю.В., Вильниц А.А., Костик М.М., Бехтерева М.К., Усков А.Н., Скрипченко Н.В., Бабаченко И.В., Иванов Д.О., Александрович Ю.С., Константинова Ю.Е., ... Карасев В.В. Педиатрический мультисистемный воспалительный синдром, ассоциированный с новой коронавирусной инфекцией: нерешенные проблемы. *Ж. инфектол.* 2021;13(1): 13–20. doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-1-13-20

Lobzin Yu.V., Vilnits A.A., Kostik M.M., Bekhtereva M.K., Uskov A.N., Skripchenko N.V., Babachenko I.V., Ivanov D.O., Aleksandrovich Yu.S., Konstantinova Yu.E., ... Karasev V.V. Pediatric multisystem inflammatory syndrome associated with a new coronavirus infection: unsolved issues. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology.* 2021;13(1):13–20. [In Russian]. doi: 10.22625/2072-6732-2021-13-1-13-20

2. Belhadjer Z., Méot M., Bajolle F., Khraiche D., Legendre A., Abakka S., Auriat J., Grimaud M., Oualha M., Beghetti M., ... Bonne D. Acute heart failure in multisystem inflammatory syndrome in children in the context of global SARS-CoV-2 pandemic. *Circulation.* 2020;142(5):429–436. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048360

3. Castagnoli R., Votto M., Licari A., Brambilla I., Bruno R., Perlini S., Rovida F., Baldanti F., Marseglia G.L. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection in children and adolescents: a systematic review. *JAMA Pediatr.* 2020;174(9):882–889. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.1467

4. Rodriguez-Morales A.J., Cardona-Ospina J.A., Gutiérrez-Ocampo E., Villamizar-Peña R., Holguin-Rivera Y., Escalera-Antezana J.P., Alvarado-Arnez L.E., Bonilla-Aldana D.K., Franco-Paredes C., Henao-Martinez A.F., ... Latin American Network of Coronavirus Disease 2019-COVID-19 Research (LAN-

- COVID-19). Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Travel Med. Infect. Dis.* 2020;34:101623. doi: 10.1016/j.tmaid.2020.101623
5. Ludvigsson J.F. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr.* 2020;109(6):1088–1095. doi: 10.1111/apa.15270
6. Riphagen S., Gomez X., Gonzales-Martinez C., Wilkinson N., Theocharis P. Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic. *Lancet.* 2020;395(10237):1607–1608. doi:10.1016/S0140-6736(20)31094-1
7. Verdoni L., Mazza A., Gervasoni A., Martelli L., Ruggeri M., Ciuffreda M., Bonanomi E., d'Antiga L. An outbreak of severe Kawasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational cohort study. *Lancet.* 2020;395(10239):1771–1778. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31103-X
8. World Health Organization. Multisystem inflammatory syndrome in children and adolescents with COVID-19. Available at: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-and-adolescents-with-covid-19>
9. Toubiana J., Poirault C., Corsia A., Bajolle F., Fourgeaud J., Angoulvant F., Debray A., Basmaci R., Salvador E., Biscardi S., ... Allali S. Kawasaki-like multisystem inflammatory syndrome in children during the covid-19 pandemic in Paris, France: prospective observational study. *BMJ.* 2020;3(369):m2094. doi: 10.1136/bmj.m2094
10. Брегель Л.В., Костик М.М., Фелль Л.З., Ефремова О.С., Соболева М.К., Крупская Т.С., Матюнова А.Е. Болезнь Kawasaki и мультисистемный воспалительный синдром при инфекции COVID-19 у детей. *Педиатрия. Ж. им. Г.Н. Сперанского.* 2020;99(6):209–219. doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-209-219
- Bregel L.V., Kostik M.M., Fell L.Z., Efremova O.S., Soboleva M.K., Krupskaya T.S., Matyunova A.E. Kawasaki disease and multisystem inflammatory syndrome in children with COVID-19 infection. *Pediatriya. Zhurnal imeni Georgiya Nestorovicha Speranskogo = Pediatrics. Journal named after Georgy Nestorovich Speransky.* 2020;99(6):209–219. [In Russian]. doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-209-219
11. American Academy of Pediatrics. Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) interim guidance. Available at: <https://services.aap.org/en/pages/2019-novel-coronavirus-covid-19-infections/clinical-guidance/multisystem-inflammatory-syndrome-in-children-mis-c-interim-guidance/>
12. Correction to: diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a scientific statement for health professionals from the American Heart Association. *Circulation.* 2019;140(5):181–184. doi: 10.1161/CIR.0000000000000703
13. Dietz S.M., van Stijn D., Burgner D., Levin M., Kuipers I.M., Hutten B.A., Kuijpers T.W. Dissecting Kawasaki disease: a state-of-the-art review. *Eur. J. Pediatr.* 2017;176(8):995–1009. doi: 10.1007/s00431-017-2937-5
14. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Линькова Н.С. COVID-19: влияние на иммунитет, систему гемостаза и возможные пути коррекции. *Успехи физиол. наук.* 2020;51(4):51–63. doi:10.31857/S0301179820040037
- Kuznik B.I., Khavinson V.Kh., Linkova N.S. COVID-19: impact on immunity, hemostasis and possible methods of correction. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk = Advances in Physiological Sciences.* 2020;51(4):51–63. [In Russian]. doi:10.31857/S0301179820040037
15. Gottlieb M., Long B., Koefman A. The evaluation and management of toxic shock syndrome in the emergency department: a review of the literature. *J. Emerg. Med.* 2018;54(6):807–814. doi: 10.1016/j.jemermed.2017.12.048
16. Новикова Ю.Ю., Овсянников Д.Ю., Глазырина А.А., Жданова О.И., Зверева Н.Н., Карпенко М.А., Крышова Е.С., Курбанова С.Х., Ртищев А.Ю., Сайфуллин Р.Ф., ... Горев В.В. Клиническая, лабораторно-инструментальная характеристика, течение и терапия детского мультисистемного воспалительного синдрома, ассоциированного с COVID-19. *Педиатрия. Ж. им. Г.Н. Сперанского.* 2020;99(6):73–83 doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-73-83
- Novikova Yu.Yu., Ovsyannikov D.Yu., Glazyrina A.A., Zhdanova O.I., Zvereva N.N., Karpenko M.A., Kryshova E.S., Kurbanova S.Kh., Rtishchev A.Yu., Saifullin R.F., ... Gorev V.V. Clinical, laboratory-instrumental characteristics, course and therapy of pediatric multisystem inflammatory syndrome associated with COVID-19. *Pediatriya. Zhurnal imeni Georgiya Nestorovicha Speranskogo = Pediatrics. Journal named after Georgy Nestorovich Speransky.* 2020;99(6):73–83. [In Russian]. doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-73-83
17. Каледа М.И., Никишина И.П., Федоров Е.С., Насонов Е.Л. Коронавирусная болезнь 2019 (COVID-19) у детей: уроки педиатрической ревматологии. *Научно-практ. ревматол.* 2020;58(5):469–479. doi: 10.47360/1995-4484-2020-469-479
- Kaleda M.I., Nikishina I.P., Fedorov E.S., Nasonov E.L. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in children: lessons from pediatric rheumatology. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2020;58(5):469–479. [In Russian]. doi: 10.47360/1995-4484-2020-469-479
18. Мелехина Е.В., Николаева С.В., Музыка А.Д., Понежева Ж.Б., Ильинская А.С., Акопян А.С., Крапивкин А.И., Корсунский А.А., Горелов А.В. COVID-19 у госпитализированных детей: клинико-

лабораторные особенности. *Мед. оппонент*. 2020;(4):24–31.

Melekhina E.V., Nikolaeva S.V., Muzyka A.D., Ponezheva Zh.B., Ilyinskaya A.S., Akopyan A.S., Krapivkin A.I., Korsunsky A.A., Gorelov A.V. COVID-19 in hospitalized children: clinical and laboratory features. *Meditinskiy opponent = Medical Opponent*. 2020;(4):24–31. [In Russian].

19. Тимофеева Н.Ю., Кострова О.Ю., Стоменская И.С., Андреев Е.В. Изменения показателей общего анализа крови пациентов с коронавирусной инфекцией различной степени тяжести. *Acta Medica Eurasica*. 2022;(1):25–29. doi: 10.47026/2413-4864-2022-1-25-29

Timofeeva N.Yu., Kostrova O.Yu., Stomenskaya I.S., Andreev E.V. Changes in the parameters of the general blood test of patients with coronavirus infection of varying severity. *Acta Medica Eurasica*. 2022;(1):25–29. [In Russian]. doi: 10.47026/2413-4864-2022-1-25-29

20. Ebina-Shibuya R., Namkoong H., Shibuya Y., Horita N. Multisystem inflammatory syndrome in children (MIS-C) with COVID-19: Insights from simultaneous familial Kawasaki disease cases. *Int. J. Infect. Dis.* 2020;97:71–73. doi: 10.1016/j.ijid.2020.06.014

21. Chiotos K., Bassiri H., Behrens E.M., Blatz A.M., Chang J., Diorio C., Fitzgerald J.C., Topjian A., John A.R.O. Multisystem inflammatory syndrome in children during the coronavirus 2019 pandemic: a case series. *J. Pediatric. Infect. Dis. Soc.* 2020;9(3):393–398. doi: 10.1093/jpids/piaa069

22. Jones V.G., Mills M., Suarez D., Hogan C.A., Yeh D., Segal J.B., Nguyen E.L., Barsh G.R., Maskatia S., Mathew R. COVID-19 and Kawasaki dis-

ease: novel virus and novel case. *Hosp. Pediatr.* 2020;10(6):537–540. doi: 10.1542/hpeds.2020-0123

23. O’Neill L.A.J., Netea M.G. BCG-induced trained immunity: can it offer protection against COVID-19? *Nat. Rev. Immunol.* 2020;20(6):335–337. doi: 10.1038/s41577-020-0337-y

24. Young A., Neumann B., Mendez R.F., Reyahi A., Joannides A., Modis Y., Franklin R. Homologous protein domains in SARS-CoV-2 and measles, mumps and rubella viruses: preliminary evidence that MMR vaccine might provide protection against COVID-19. *medRxiv* (2020). doi: 10.1101/2020.04.10.2005320724

25. Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей. Методические рекомендации МЗ РФ. Версия 3. Режим доступа: <https://minzdrav.gov.ru/news/2020/04/24/13809-opublikovany-metodicheskie-rekomendatsii-po-lecheniyu-koronavirusnoy-infektsii-covid-19-u-detey>

Peculiarities of clinical manifestations and treatment of a disease caused by a new coronavirus infection (COVID-19) in children. Guidelines of the Ministry of Health of the Russian Federation. Version 3. Available at: <https://minzdrav.gov.ru/news/2020/04/24/13809-opublikovany-metodicheskie-rekomendatsii-po-lecheniyu-koronavirusnoy-infektsii-covid-19-u-detey>

26. Вельтищев Ю.Е., Ветров В.П. Объективные показатели нормального развития и состояния здоровья ребенка (нормативы детского возраста). М., 2000. 96 с.

Veltishchev Yu.E., Vetrov V.P. Objective indicators of the normal development and state of health of the child (children’s age standards). Moscow, 2000. 96 p. [In Russian].

Сведения об авторах:

Ольга Олеговна Обухова, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9834-1799, e-mail: trio188@yandex.ru

Татьяна Ивановна Рябиченко, д.м.н., ORCID: 0000-0002-0990-0078, e-mail: 2925871@mail.ru

Глеб Сергеевич Карпович, ORCID: 0000-0003-0982-6952, e-mail: karpovich.gleb@yandex.ru

Галина Александровна Скосырева, д.м.н., ORCID: 0000-0001-5477-3445, e-mail: skosyreva43@mail.ru

Ирина Валентиновна Куимова, д.м.н., ORCID: 0000-0003-4727-1636, e-mail: kuimova_ira@mail.ru

Михаил Иванович Воевода, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0001-9425-413X, e-mail: mvoevoda@ya.ru

Information about the authors:

Olga O. Obukhova, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-9834-1799, e-mail: trio188@yandex.ru

Tatyana I. Ryabichenko, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-0990-0078, e-mail: 2925871@mail.ru

Gleb S. Karpovich, ORCID: 0000-0003-0982-6952, e-mail: karpovich.gleb@yandex.ru

Galina A. Skosyreva, doctor of medical science, ORCID: 0000-0001-5477-3445, e-mail: skosyreva43@mail.ru

Irina V. Kuimova, doctor of medical science, ORCID: 0000-0003-4727-1636, e-mail: kuimova_ira@mail.ru

Mikhail I. Voevoda, doctor of medical science, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0001-9425-413X, e-mail: mvoevoda@ya.ru

Поступила в редакцию 04.06.2022

После доработки 06.07.2022

Принята к публикации 12.09.2022

Received 04.06.2022

Revision received 06.07.2022

Accepted 12.09.2022

Оценка эффектов аппаратного мертвого пространства, создаваемого тепловлагосберегающим фильтром, при искусственной вентиляции легких у новорожденных

А.Н. Шмаков^{1,2}, К.В. Бударова^{1,2}, Н.Л. Елизарьева^{1,2}, В.Н. Кохно¹

¹ Государственная Новосибирская областная клиническая больница
630008, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

² Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Резюме

Тепловлагообменные фильтры создают дополнительное мертвое пространство у недоношенных новорожденных детей, сравнимое по объему с физиологическим, что теоретически может затруднить удаление углекислого газа. Снижение объема мертвого пространства повышением потока в контуре вентилятора может привести к противоположному осложнению – гипокании. **Цель работы** – определить безопасность и эффективность увеличения скорости потока газа в контуре вентилятора с целью компенсации повышенного парциального давления углекислого газа, создаваемого дополнительным мертвым пространством. **Материал и методы.** В условиях транспортировок на искусственной вентиляции легких исследовано влияние дополнительного мертвого пространства, создаваемого термовлагосберегающим фильтром, на сатурацию гемоглобина и парциальное давление углекислого газа в конце выдоха у недоношенных новорожденных детей при потоках в контуре 5 и 6 л/мин. **Результаты и их обсуждение.** Продемонстрировано, что скорость потока кислородо-воздушной смеси 5 и 6 л/мин удовлетворительно компенсирует влияние дополнительного мертвого пространства, не провоцируя гипоканию, что позволяет рекомендовать широкое использование термовлагосберегающих фильтров у новорожденных детей с массой тела не менее 1,0 кг при длительных транспортировках.

Ключевые слова: новорожденные, мертвое пространство, термовлагосберегающий фильтр, гиперкапния, гипокания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Шмаков А.Н., e-mail: shmakov1948@inbox.ru

Для цитирования: Шмаков А.Н., Бударова К.В., Елизарьева Н.Л., Кохно В.Н. Оценка эффектов аппаратного мертвого пространства, создаваемого тепловлагосберегающим фильтром, при искусственной вентиляции легких у новорожденных. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022;42(5):69–73. doi: 10.18699/SSMJ20220509

Evaluation of deadspace effects created by heat and moisture exchange filter during artificial lung ventilation in newborns

A.N. Shmakov^{1,2}, K.V. Budarova^{1,2}, N.L. Elizar'eva^{1,2}, V.N. Kokhno¹

¹ State Novosibirsk Regional Clinical Hospital
630087, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko str., 130

² Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

Abstract

Heat and moisture exchange filters create additional dead space, comparable in volume to physiological, in premature newborns. It makes carbon dioxide remove difficulty. Reducing the dead space volume by increasing the flow in the ventilator circuit can lead to the hypocapnia. **Aim** of the study was to determine the safety and efficiency of gas flow boost in the ventilator circuit to hypercapnia compensation created by the additional dead space. **Material and methods.** The effect of the additional dead space created by a heat and moisture exchange filter on hemoglobin saturation and partial pressure of carbon dioxide at the end of expiration in premature newborns at flows of 5 and 6 l/min was studied. **Results and discussion.** It has been demonstrated that flows of 5–6 l/min satisfactorily compensate for the effect of additional deadspace without hypocapnia. **Conclusions.** It is possible to recommend the widespread use of heat and moisture exchange filters in newborn weighing at least 1.0 kg during long-term transportation.

Key words: newborns, dead space, heat and moisture exchange filter, hypercapnia, hypocapnia.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Shmakov A.N., e-mail: shmakov1948@inbox.ru

Citation: Shmakov A.N., Budarova K.V., Elizar'eva N.L., Kokhno V.N. Evaluation of deadspace effects created by heat and moisture exchange filter during artificial lung ventilation in newborns. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):69–73. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220509

Введение

Потребность в длительных транспортировках новорожденных на искусственной вентиляции легких в стационары специализированной медицинской помощи снижается по мере развития перинатальных центров, но остается актуальной [1]. Так, из центральных районных больниц в отделения Новосибирской областной клинической больницы ежегодно эвакуируется автотранспортом от 105 до 129 новорожденных, в том числе недоношенных с очень низкой массой тела, медиана продолжительности эвакуации составляет 2,75 часа, вариационный размах – от 0,75 до 6,5 часа. 82 % новорожденных эвакуируются на искусственной вентиляции легких (ИВЛ), поэтому одним из важных аспектов безопасности транспортировки и поддержания качества жизни больного в пути является кондиционирование инспираторного газа [2].

В отделениях реанимации и интенсивной терапии новорожденных кондиционирование используемых газовых смесей не является проблемой, но в условиях автомобильных транспортировок обеспечить адекватное увлажнение и обогрев дыхательной смеси не всегда просто. Увлажнитель и термошланг транспортного вентилятора, как правило, не создают относительную влажность газа в контуре выше 70 % при требуемой не менее 85 %, поскольку работа обогревателя салона снижает относительную влажность воздуха до 30–35 % [3]. Температура газов на входе в увлажнитель зависит от температуры не в инкубаторе, а в салоне, которая в зимних условиях может составлять 18–20 °С. Поэтому при длительных эвакуациях детей, в том числе новорожденных, рекомендуется применение термо-

влажносберегающего фильтра на входе в коннектор эндотрахеальной трубки [2, 3].

При этом увеличивается мертвое пространство за счет объема фильтра [4–6], особенно для недоношенных новорожденных. Объем коробки фильтра 3 мл создает для ребенка массой 1,5 кг дополнительное аппаратное мертвое пространство 2 мл/кг, повышая нормальный объем (2,2 мл/кг) на 110 %. Таким образом, отношение объема мертвого пространства (V_d) к дыхательному объему (V_t) достигает 0,7–0,8, если принимать величину нормы V_t 5–6 мл/кг [2, 3, 6]. Для ребенка массой 3 кг дополнительное мертвое пространство при этом составит 1 мл/кг (прирост на 45 %), что даст соотношение V_d/V_t 0,5–0,6 (при V_t 7мл/кг – 0,46). Нормальным считается отношение V_d/V_t 0,3; у взрослых по достижении $V_d/V_t \geq 0,5$ отмечается прирост парциального давления углекислого газа в крови, что может быть компенсировано повышением дыхательных объемов и (или) потока в контуре вентилятора [3–5]. Мертвое пространство у детей описывается довольно скупо, не признается важным фактором в регуляции обмена легочной воды [7], увеличение V_d регистрируется при легочной эмболии, но не считается ведущим фактором декомпенсации гипоксии [7, 8]. Иногда практикующие анестезиологи для уменьшения мертвого пространства у новорожденных обрезают эндотрахеальную трубку. Однако как польза от этого мероприятия, так и реальный вред дополнительного мертвого пространства при ИВЛ новорожденных в литературных источниках не описаны, чем и обусловлена актуальность данной работы.

Цель работы – определить безопасность и эффективность повышения потока газа в контуре вентилятора с целью компенсации повышенного

парциального давления углекислого газа, создаваемого дополнительным мертвым пространством.

Материал и методы

В пилотном обсервационном исследовании участвовали новорожденные дети в возрасте от 2 до 4 суток внеутробной жизни, рожденные на гестационных сроках от 28 до 35 недель с массой при рождении соответственно от 1,0 до 2,5 кг, со стабильными показателями гемодинамики и условно здоровыми легкими, находящиеся на ИВЛ в связи с необходимостью глубокой седации по поводу перенесенного интранатально гипоксического поражения головного мозга средней степени тяжести (оценка по шкале Апгар на первой минуте 4–5 баллов), нуждающиеся в переводе на более высокий уровень медицинской помощи. Критерии невключения: новорожденные с показаниями для ИВЛ, определяемыми дыхательной недостаточностью; пациенты с хирургической патологией; дети с массой при рождении более 2,5 кг; дети с критически низкой массой тела при рождении. Регистрировали показатели насыщения крови кислородом (SpO_2 , %) и концентрации углекислого газа в конце выдоха ($etCO_2$, мм рт. ст.) до установки фильтров и через 30 минут после установки. При этом параметры ИВЛ, установленные в стационарах вызова до приезда реанимационно-транспортной бригады, не изменяли. После второй регистрации SpO_2 и $etCO_2$ начинали транспортировку.

Участники распределены в две группы: группа 1 – 28 человек, из них 15 недоношенных детей массой от 1 до 1,5 кг и 13 детей массой от 1,51 до 2,5 кг. В этой группе поток в контуре вентилятора установлен 5 л/мин. Группа 2 (35 человек) сформирована из 17 недоношенных детей массой от 1 до 1,5 кг и 18 детей массой от 1,51 до 2,5 кг. В контуре вентилятора у этих детей установлен поток 6 л/мин. Кроме потока в контуре параметры ИВЛ были идентичными: объемы вдоха (V_t) 6 мл/кг; соотношение $i:e$ 1:2; максимальное давление на вдохе (PIP) 18–21 мбар; положительное давление конца выдоха (PEEP) 4 мбар; частота вдохов (Rate) в зависимости от массы тела 45–60 мин^{-1} ; фракция кислорода на вдохе (FiO_2) 0,30; алгоритм триггирования «A/C». Седация пациентов поддерживалась инфузией фентанила 2 мкг/кг/ч (разрешено протоколом этического комитета № 61 от 12.04.2015, оформлено решением врачебной комиссии на основании статьи 37, п. 5 закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» 323 ФЗ). Подбор стартового алгоритма ИВЛ проводили до установки термовлагосберегающего фильтра.

Анализируемые данные получали путем усреднения показателей, регистрируемых каждые 5 минут в течение 30 минут до установки фильтра и в течение 30 минут после установки фильтра. Характер распределения данных не определяли, поскольку для математической обработки использовали критерии непараметрической статистики (критерий Уилкоксона для сравнений типа «до–после»; критерий Манна – Уитни для попарных внутригрупповых и межгрупповых сравнений). Данные представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me [Q25; Q75]).

Результаты

В группе 1 после установки фильтра у всех детей снизилась сатурация гемоглобина и повысилось парциальное давление углекислого газа в конце выдоха (таблица). Направленность изменений (критерий Уилкоксона) была достоверной, но по критерию Манна–Уитни статистически значимое повышение $etCO_2$ после установки фильтра отмечено только у детей массой более 1,5 кг. Оба показателя оставались в нормальном коридоре значений.

В группе 2 статистически значимой тенденции после установки фильтра по критерию Уилкоксона не получено (см. таблицу). Не изменились и значения сумм рангов по критерию Манна – Уитни, независимо от массы тела. До установки фильтров различий по величине SpO_2 и $etCO_2$ у детей массой до 1,5 кг и более 1,5 кг в обеих группах не было. После установки фильтров различий в сатурации гемоглобина в зависимости от массы тела не было, показатель $etCO_2$ в группах 1 и 2 у детей массой до 1,5 кг существенно не различался, а у детей массой более 1,5 кг стал статистически значимо ниже в группе 2 ($p = 0,000$; критерий Манна – Уитни), не выходя за пределы нормальных значений.

Обсуждение

Несмотря на заметное изменение соотношения V_d/V_t после подключения термовлагосберегающих антибактериальных фильтров к новорожденным (до 0,7 при нормальном соотношении 0,3), мы не зарегистрировали повышения $etCO_2$, выходящего за пределы нормальных значений. Таким образом, в наших наблюдениях при достижении отношения V_d/V_t 0,5 не отмечено описанного другими авторами [6, 7, 9] нарастания гиперкапнии, хотя в группе 1 $etCO_2$ значимо повысилось после установки фильтра у детей с умеренной недоношенностью. При этом показатель в группе 1 (поток газа в контуре 5 л/мин) был существенно выше, чем в группе 2 (поток в контуре 6 л/мин). Возможное объяснение полученно-

Влияние фильтра «3:1» на сатурацию гемоглобина и парциальное давление углекислого газа в конце выдоха у новорожденных на ИВЛ

Heat and moisture exchange filter influence “3:1” on hemoglobin saturation and end-tidal carbon dioxide in newborns on lung ventilation

| Показатель | Группа 1 | | | | Группа 2 | | | |
|--------------------------------|----------------------|-------------------------|--------|-------|----------------------|-------------------------|--------|-------|
| | До установки фильтра | После установки фильтра | p_1 | p_2 | До установки фильтра | После установки фильтра | p_1 | p_2 |
| Масса 1–1,5 кг | | | | | | | | |
| SpO ₂ , % | 94 [92; 99] | 92 [90; 98] | <0,022 | 0,052 | 95 [92; 99] | 95 [92; 99] | >0,048 | 0,972 |
| etCO ₂ , мм рт. ст. | 37 [32; 44] | 39 [34; 48] | <0,02 | 0,052 | 36 [32; 42] | 36 [32; 48] | >0,048 | 0,958 |
| Масса >1,5 кг | | | | | | | | |
| SpO ₂ , % | 96 [93; 99] | 94 [91; 98] | <0,020 | 0,052 | 96 [94; 99] | 96[95; 99] | >0,048 | 0,974 |
| etCO ₂ , мм рт. ст. | 34 [30; 38] | 40 [36; 44]* | <0,020 | 0,002 | 34 [33; 38] | 34 [32; 38] | >0,048 | 0,697 |

Примечание. p_1 – критерий Уилкоксона, p_2 – критерий Манна – Уитни, * – статистически значимое отличие от показателя группы 2 на данном этапе ($p = 0,000$, критерий Манна–Уитни).

го результата базируется на избыточности потока в контуре 5 л/мин и более для новорожденных детей с массой тела от 1 до 2,5 кг. Так, если принять для ребенка с массой тела 1,5 кг Vt 5 мл/кг, это составит 7,5 мл. При частоте вдохов 50 мин⁻¹ и соотношении i:e 1:2 это даст объем минутной вентиляции 0,375 л, который составляет 1/3 потока в контуре. Полный минимально достаточный поток, таким образом, будет 1,125 л/мин. Обычно принимается трехкратное превышение потока в контуре сверх минутной вентиляции, что в данном случае дало бы 3,4 л/мин, т.е. фактическое превышение потока составило 47 % сверх расчетного. Ребенку массой 2 кг в такой же ситуации расчетный поток был бы 4,05 л/мин, т.е. реальное превышение всего 23 % сверх расчетного. Поэтому у более крупных детей и отмечен прирост etCO₂ при потоке в контуре 5 л/мин. В группе 2 поток на 1 л/мин больше, чем в группе 1, что заведомо давало его существенный избыток в сравнении с расчетным даже для детей с массой, приближающейся к 2,5 кг.

Таким образом, мы убедились в безопасности применения термовлагосберегающих антибактериальных фильтров у новорожденных. Более того, результаты исследования позволяют предположить, что обычно используемые при ИВЛ у новорожденных потоки 5–6 л/мин избыточны, если не устанавливаются термовлагосберегающие фильтры, что создает риск ятрогенной гипоксии. Возможно, дополнительное патологическое альвеолярное мертвое пространство, например, в начальной стадии тромбоза легочной артерии [9] или для детей с высоким уровнем внутрилегочного шунтирования крово-

тока «справа-налево» при массивной пневмонии, инфаркте легкого [2, 10] явится показанием для повышения потока более 6л/мин, что требует дополнительных исследований, поскольку в авторитетных руководствах по интенсивной терапии новорожденных потоки газа в контурах вентиляторов упоминаются в качестве факторов риска волюмо- и баротравмы, но без количественных характеристик [10].

Выводы

1. Дополнительное аппаратное мертвое пространство у недоношенных новорожденных с массой тела при рождении не менее 1,0 кг, находящихся на ИВЛ, удовлетворительно компенсируется потоком газа в контуре вентилятора 5–6 л/мин.
2. При наличии термовлагосберегающего фильтра на линии вдоха потоки в контуре 5–6 л/мин не создают риска гипоксии у недоношенных новорожденных массой не менее 1 кг.
3. Термовлагосберегающие антибактериальные фильтры не создают опасность патологической гиперкапнии при ИВЛ у недоношенных новорожденных с массой при рождении не менее 1 кг.
4. При длительных межгоспитальных транспортировках новорожденных с массой не менее 1,0 кг использование термовлагосберегающих фильтров можно считать безопасным.

Список литературы

1. Шмаков А.Н., Кохно В.Н. Критические состояния новорожденных (технология дистанционного консультирования и эвакуации). СПб.; Новосибирск: ИПК БИОНТ, 2007. 168 с.

2. Александрович Ю.С., Пшениснов К.В. Респираторная поддержка при критических состояниях в педиатрии и неонатологии. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 272 с.

3. Borrows E.L., Lutman D.H., Montgomery M.A., Petros A.J., Ramnarayan P. Effect of patient- and team-related factors on stabilization time during pediatric intensive care transport. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2010;11(4):451–456. doi: 10.1097/PCC.0b013e3181e30ce7

4. Гайтон А.К., Холл Дж.Э. Легочная вентиляция. В кн.: *Медицинская физиология*. М.: Логосфера, 2008, 532–533.

5. Хеденстиерна Г. Физиология дыхания. In: *Miller's Anesthesia*, 7th ed. Ed. R.D. Miller. Churchill Livingstone Elsevier, 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2010. Пер. с англ. Е.В. Суборовой, ред. К.Н. Храпов. 2012. С. 387–418.

6. Broughton S.J., Sylvester K.P., Page C.M., Rafferty G.F., Milner A.D., Greenough A. Problems in the measurement of functional residual capacity. *Physiol. Meas.* 2006;27:99–107. doi: 10.1088/0967-3334/27/2/001

7. Hogg K., Dawson D., Tabor T., Tabor B., Mackway-Jones K. Respiratory dead space measurement in the investigation of pulmonary embolism in outpatients with pleuritic chest pain. *Chest.* 2005;128(4):2195–2205. doi: 10.1378/chest.128.4.2195

8. Марино П.Л. Острая дыхательная недостаточность. В кн.: *Интенсивная терапия*. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. С. 277–301.

9. Заболотских И.Б. Интенсивная терапия дыхательной недостаточности. В кн.: *Интенсивная терапия: национальное руководство*. Том 1. Ред. И.Б. Заболотских, Д.Н. Проценко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. С. 449–473.

10. Майер Р.Ф., Обладен М. Респираторная поддержка. В кн.: *Интенсивная терапия новорожденных. Доказательность и опыт*. М.: МЕДпресс-информ, 2021. С. 171–179.

References

1. Shmakov A.N., Kokhno V.N. Critical conditions of newborns (technology of remote counseling and evacuation). Saint-Petersburg, Novosibirsk: IPK BI-ONT, 2007. 168 p. [In Russian].

2. Aleksandrovich Yu.S., Pshenisnov K.V. Respiratory support in critical conditions in pediatrics and neonatology. Guide for doctors. Moscow: GEOTAR-Media, 2020. 272 p. [In Russian].

3. Borrows E.L., Lutman D.H., Montgomery M.A., Petros A.J., Ramnarayan P. Effect of patient- and team-related factors on stabilization time during pediatric intensive care transport. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2010;11(4):451–456. doi: 10.1097/PCC.0b013e3181e30ce7

4. Gayton A.K., Khol G.E. Pulmonary ventilation. In: *Textbook of Medical Physiology*. Moscow: Logosfera, 2008; 532–533. [In Russian].

5. Hedenstierna G. Respiratory physiology. In: *Miller's Anesthesia*, 7th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2010. P. 361–392. [In Russian].

6. Broughton S.J., Sylvester K.P., Page C.M., Rafferty G.F., Milner A.D., Greenough A. Problems in the measurement of functional residual capacity. *Physiol. Meas.* 2006;27:99–107. doi: 10.1088/0967-3334/27/2/001

7. Hogg K., Dawson D., Tabor T., Tabor B., Mackway-Jones K. Respiratory dead space measurement in the investigation of pulmonary embolism in outpatients with pleuritic chest pain. *Chest.* 2005;128(4):2195–2205. doi: 10.1378/chest.128.4.2195

8. Marino P.L. Acute respiratory failure. In: *Intensive care*. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. P. 277–301. [In Russian].

9. Zabolotskikh I.B. Intensive care for respiratory failure. In: *Intensive care: national guidance*. Vol.1 Ed. I.B. Zabolotskikh, D.N. Protsenko. Moscow: GEOTAR-Media, 2021. P. 449–473. [In Russian].

10. Maier R.F., Obladen M. Respiratory support. In: *Intensive care of newborns. Evidence and experience*. Moscow: MEDpress-inform, 2021. P. 171–179. [In Russian].

Сведения об авторах:

Алексей Николаевич Шмаков, д.м.н., ORCID: 0000-0001-6041-7607, e-mail: shmakov1948@inbox.ru

Кристина Владимировна Бударова, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9265-978X, e-mail: bcv@yandex.ru

Наталья Львовна Елизарьева, д.м.н., ORCID: 0000-0002-0852-0372, e-mail: lisa.nataly@mail.ru

Владимир Николаевич Кохно, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-5965-2594, e-mail: kair2007@mail.ru

Information about the authors:

Alexey N. Shmakov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-6041-7607, e-mail: shmakov1948@inbox.ru

Kristina V. Budarova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9265-978X, e-mail: bcv@yandex.ru

Natalya L. Elizar'eva, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0852-0372, e-mail: lisa.nataly@mail.ru

Vladimir N. Kokhno, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-5965-2594, e-mail: kair2007@mail.ru

Поступила в редакцию 06.07.2022

После доработки 09.08.2022

Принята к публикации 30.08.2022

Received 06.07.2022

Revision received 09.08.2022

Accepted 30.08.2022

Факторы риска развития остеопороза у пациентов с ревматоидным артритом

Ю.Р. Ахвердян, Е.В. Папичев, Б.В. Заводовский, Ю.В. Полякова, Л.Е. Сивордова

*НИИ клинической и экспериментальной ревматологии им. А.Б. Зборовского
400138, г. Волгоград, ул. Землячки, 76*

Резюме

Цель исследования – изучить факторы риска развития остеопороза (ОП) у пациентов с ревматоидным артритом (РА). **Материал и методы.** Наблюдали 110 пациентов с верифицированным диагнозом РА, который ставился на основе клинической классификации EULAR/ACR 2010 г. Все пациенты были разделены на две группы: с наличием ОП (53 человека) и без признаков ОП (57 человек). Оценка минеральной плотности костной ткани (МПКТ) осуществлялась методом двухэнергетической рентгеновской денситометрии (Dual Energy X-ray Absorptiometry, DEXA), диагноз ставился на основании рекомендаций ВОЗ. Всем пациентам проводилось стандартное клинико-лабораторное обследование, дополнительно определялся уровень 25-ОН витамина D, С-концевого телопептида коллагена I типа (СТХ-1), N-терминального пропептида проколлагена I (PINP) в крови, соотношение содержания кальция и креатинина в моче. **Результаты.** Выявлена статистически значимая связь между наличием ОП и следующими клиническими признаками: массой тела пациента ($p = 0,014$), длительностью течения РА ($p = 0,024$), наличием эрозивных изменений ($p = 0,014$). Обнаружена взаимосвязь между наличием ОП и более низкими показателями МПКТ в области Варда (Ward) и области большого вертела (Troch) ($p < 0,0001$). Показано, что прием глюкокортикостероидных препаратов более трех месяцев достоверно повышает риск развития ОП ($p < 0,0001$). **Заключение.** Выделение групп риска пациентов, угрожаемых по развитию ОП, имеет важное практическое значение. Приведенные в статье факторы можно скорректировать в сторону нормализации с целью снижения степени возможного риска, что вполне осуществимо на практике.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, остеопороз, факторы риска развития остеопороза, профилактика остеопороза, МПКТ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Ахвердян Ю.Р., e-mail: doctor_2001@mail.ru

Для цитирования: Ахвердян Ю.Р., Папичев Е.В., Заводовский Б.В., Полякова Ю.В., Сивордова Л.Е. Факторы риска развития остеопороза у пациентов с ревматоидным артритом. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(5):74–80. doi: 10.18699/SSMJ20220510

Risk factors for osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis

Yu.R. Akhverdyan, E.V. Papichev, B.V. Zavadovsky, Yu.V. Polyakova, L.E. Seewordova

*Research Institute of Clinical and Experimental Rheumatology n.a. A.B. Zborovskiy
400138, Volgograd, Zemlyachka str., 76*

Abstract

Aim of the study was to investigate risk factors for osteoporosis (OP) in patients with rheumatoid arthritis (RA). **Material and methods.** We observed 110 patients with a verified diagnosis of RA. RA was diagnosed based on the 2010 EULAR/ACR clinical classification. All patients with RA were divided into 2 groups: with OP (53 patients) and without OP signs (57 patients). Bone mineral density (BMD) was assessed by dual-energy X-ray densitometry (DEXA), the diagnosis was made on the basis of WHO recommendations. All patients underwent a standard clinical and laboratory

examination, in addition the following parameters were studied: 25-OH vitamin D, C-terminal telopeptide of type I collagen (CTX-1), N-terminal propeptide of procollagen I (P1NP) content in the blood, the ratio of calcium to urine creatinine. **Results.** We found a statistically significant relationship between the presence of OP and the following clinical signs: patient weight ($p = 0.014$), duration of RA course ($p = 0.024$), and the presence of erosive changes ($p = 0.014$). In addition, a relationship was found between the presence of OP and lower BMD in the Ward area (Ward) and the greater trochanter area (Troch) ($p < 0.0001$). It was also shown that taking glucocorticosteroid drugs for more than 3 months significantly increases the risk of developing OP ($p < 0.0001$). **Conclusions.** Identification of risk groups for patients at risk for the development of OP is of great practical importance. The factors given in the article can be adjusted towards normalization in order to reduce the degree of possible risk, which is quite feasible in practice.

Key words: rheumatoid arthritis, osteoporosis, risk factors for osteoporosis, prevention of osteoporosis, BMD.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Akhverdyan Yu.R., e-mail: doctor_2001@mail.ru

Citation: Akhverdyan Yu.R., Papichev E.V., Zavodovsky B.V., Polyakova Yu.V., Seewordova L.E. Risk factors for osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):74–80. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220510

Введение

Согласно современным данным, остеопороз (ОП) представляет собой заболевание, в основе которого лежит ухудшение качества костной ткани, главным образом вследствие снижения минеральной плотности, что резко увеличивает вероятность низкоэнергетических переломов [1]. По данным ВОЗ, по частоте ОП занимает четвертое место в мире среди неинфекционных заболеваний, и его распространенность с каждым годом увеличивается. Актуальность данного заболевания обусловлена множеством факторов: демографическими проблемами (старение населения), резким снижением качества жизни, тяжелой инвалидизацией пациентов [2–4]. Остеопоротический перелом любой локализации повышает риск последующих переломов в несколько раз.

Выявление групп риска пациентов с целью профилактики развития ОП и низкоэнергетических переломов является одновременно важной и сложной задачей. Одна из таких групп – лица, страдающие ревматоидным артритом (РА). Доказана роль системной активации Т-лимфоцитов, характерная для РА и ревматических заболеваний в целом, приводящая к дисбалансу в системе RANKL/RANK/OPG, экспрессии и повышению продукции RANKL. Следствием этого является избыточная активация костной резорбции, что приводит к развитию ОП. Существует целый ряд факторов риска, влияющих на появление ОП на фоне РА: возраст, пол, длительность и активность РА, гиподинамия, прием некоторых лекарственных препаратов (например, глюкокортикостероидов (ГКС)), повышение уровня воспалительных маркеров (СОЭ, С-реактивный белок), коморбидность [5, 6]. В последнее время негативная роль данных факторов подтверждена многочисленными исследованиями, в том числе опубликованы

работы, в которых определен порог терапевтического вмешательства в зависимости от имеющихся факторов риска [7–9].

Отчетливо понимая, что окончательно данные вопросы могут прояснить лишь дальнейшие крупные многоцентровые исследования, мы полагаем, что любые исследования по изучению взаимосвязи факторов риска и наличия ОП у пациентов с РА являются актуальными. Несмотря на широкую распространенность ОП среди населения и высокий процент инвалидизации пациентов, медработники первичного врачебного звена не всегда уделяют должное внимание профилактике осложнений и превентивному выделению пациентов групп риска. Привлечение внимания практикующих врачей к данной проблеме является одной из задач данной публикации.

Цель исследования – изучить взаимосвязь между факторами риска и наличием ОП у пациентов с РА.

Материал и методы

Под нашим наблюдением находилось 110 пациентов с верифицированным диагнозом РА. Средний возраст больных 56 [47–63] лет. Диагноз РА ставился на основании клинической классификацией EULAR/ACR 2010 г. (European League Against Rheumatism / American College of Rheumatology). Базисная терапия больных РА соответствовала клиническим рекомендациям. С активностью 0 ($DAS28 < 2,6$) было 26 (23,64 %) пациентов, с низкой степенью активности I ($2,6 < DAS28 < 3,2$) – 27 (24,55 %), со средней степенью активности II ($3,2 < DAS28 < 5,1$) – 42 (38,18 %), с высокой степенью активности III ($DAS28 > 5,1$) – 15 (13,64 %).

Пациенты включались в исследование только после подписания информированного согласия.

Протокол его проведения одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной ревматологии им. А.Б. Зборовского» от 29.04.2022, протокол № 1.

Диагноз ОП выставлялся согласно Российским клиническим рекомендациям [10] при наличии патологических переломов крупных костей скелета и высокой индивидуальной 10-летней вероятности основных патологических переломов. Оценка минеральной плотности костной ткани (МПКТ) осуществлялась методом двухэнергетической рентгеновской денситометрии (Dual Energy X-ray Absorptiometry, DEXA) в поясничном отделе позвоночника, шейке бедренной кости, области Варда и большого вертела. Диагноз ОП ставился при снижении МПКТ на 2,5 и более стандартных отклонений (SD) по Т-критерию в области бедра и/или в поясничных позвонках (L1-L4, L2-L4) у женщин в постменопаузе и мужчин старше 50 лет. Женщинам в перименопаузальном периоде диагноз ОП ставился с использованием критерия Z при наличии факта низкоэнергетических переломов костей согласно рекомендациям международного общества клинической денситометрии [11]. Женщинам в постменопаузальном периоде, получающим ГКС длительностью более 3 месяцев в дозе 7,5 мг преднизолона и более, диагноз ОП выставлялся с учетом Российских клинических рекомендаций [10]. Мы разделили всех больных РА на две группы: с наличием ОП (53 человека) и без признаков ОП (57 человек).

Всем пациентам проводилось стандартное клинико-лабораторное обследование, дополнительно определялся уровень 25-ОН витамина D, С-концевого телопептида коллагена I типа (СТХ-1), N-терминального пропептида проколлагена I (P1NP) в крови, соотношение содержания кальция и креатинина в моче.

Статистическая обработка данных включала определение нормальности распределения данных методом анализа гистограмм, проведения теста Колмогорова – Смирнова и Лиллиефорса. При нормальном распределении показатели представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратического отклонения, а также 95%-го доверительного интервала ($M \pm SD$ (95 % ДИ)), при распределении, отличном от нормального – в виде медианы и межквартильных интервалов $Me [Q1-Q3]$, для оценки различий использовали соответственно *t*-критерий Стьюдента и критерий Манна – Уитни (*Z*, а не *U*, в связи с большим количеством пациентов). Значимость различий номинальных данных определяли с помощью критерия χ^2 .

Результаты и их обсуждение

Из данных табл. 1 следует, что у пациентов с РА, страдающих ОП, чаще встречаются эрозивные изменения в суставах, для них характерны более длительное течение заболевания и меньшая масса тела.

Таблица 1. Взаимосвязь ОП с клиническими характеристиками пациентов

Table 1. Relationship of osteoporosis with clinical characteristics of patients

| Показатель | ОП, n = 53 | Без ОП, n = 57 | <i>p</i> |
|---|-------------------------|-------------------------|----------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Возраст, лет | 57,2 [50,0–60,1] | 52,3 [44,7–60,4] | 0,093 |
| Масса тела, кг | 69,6 ± 14,6 (69,4–76,5) | 76,5 ± 14,7 (68,9–77,8) | 0,014 |
| Рост, см | 160,0 [156,0–163,5] | 160,0 [158,5–165,0] | 0,601 |
| Количество мужчин | 2 | 3 | 0,933 |
| Длительность РА, лет | 14,0 [7,0–18,0] | 6,0 [3,0–15,0] | 0,024 |
| Наличие ревматоидного фактора: | | | 0,182 |
| да | 43 (39,1 %) | 40 (36,4 %) | |
| нет | 10 (9,1 %) | 17 (15,4 %) | |
| Наличие антител к циклическому цитруллинированному пептиду: | | | 0,051 |
| да | 40 (36,4 %) | 33 (30,0 %) | |
| нет | 13 (11,8 %) | 24 (21,8 %) | |
| Наличие эрозий: | | | 0,014 |
| да | 43 (39,1 %) | 34 (30,9 %) | |
| нет | 10 (9,1 %) | 23 (20,9 %) | |
| Функциональный класс: | | | 0,098 |
| 1 | 16 (14,5 %) | 20 (18,2 %) | |
| 2 | 31 (28,2 %) | 36 (32,7 %) | |
| 3 | 6 (5,4 %) | 1 (0,9 %) | |

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|-----------------------|-------------|-------------|-------|
| DAS28, степень: | | | |
| ремиссия | 12 (10,9 %) | 14 (12,7 %) | 0,918 |
| низкая | 12 (10,9 %) | 15 (13,6 %) | |
| умеренная | 22 (20,0 %) | 20 (18,2 %) | |
| высокая | 7 (6,4 %) | 8 (7,3 %) | |
| Рентгеновская стадия: | | | |
| 1 | 1 (0,9 %) | 6 (5,4 %) | 0,126 |
| 2 | 20 (18,2 %) | 25 (22,7 %) | |
| 3 | 29 (26,4 %) | 25 (22,7 %) | |
| 4 | 3 (2,7 %) | 1 (0,9 %) | |
| Коморбидность: | | | |
| да | 43 (39,1 %) | 44 (40,0 %) | 0,879 |
| нет | 10 (9,1 %) | 13 (11,8 %) | |

Влияние длительности заболевания РА на состояние костной ткани на сегодняшний день остается предметом дискуссий. Ряд авторов отмечает отсутствие связи между длительностью заболевания РА и наличием ОП [12, 13], в других работах показано, что риск развития ОП возрастает с увеличением продолжительности стажа РА [14, 15]. В какой-то степени данные противоречия можно объяснить, если предположить, что длительность заболевания не является одним из главных триггеров развития ОП на фоне РА, скорее всего, данный фактор не обладает прямым разрушающим воздействием на МПКТ. Тем не менее, определяя индивидуальные риски у конкретного пациента, данный фактор риска необходимо учитывать. Напротив, наличие эрозивных изменений в суставах признается абсолютным большинством авторов как облигатный фактор риска развития ОП у пациентов с РА [13, 16]. Полученные нами результаты коррелируют с литературными данными и позволяют утверждать, что пациенты с РА, имеющие эрозивные изменения в суставах, должны выделяться в группу риска развития ОП.

В нашем исследовании установлена отрицательная корреляция между массой тела пациентов и частотой ОП. В ряде литературных источников [14, 17] также обнаружена взаимосвязь

между низкой МПКТ и ИМТ, однако данная зависимость выявлена далеко не во всех работах. Таким образом, данный вопрос требует дальнейшего изучения. Механизмы влияния массы тела пациента на развитие ОП также пока не ясны. Возможно, какую-то роль играют адипокины – биологически активные вещества, вырабатываемые жировой тканью и обладающие как про-, так и противовоспалительным действием. В таком случае можно предположить, что главную роль играет не количество жировой ткани, а баланс адипокинов, который может смещаться как в про-, так и в противовоспалительную сторону. В любом случае фактор веса не является ведущим фактором риска и играет лишь второстепенную роль.

Изучив взаимосвязь между наличием ОП и приемом ГКС (табл. 2), мы обнаружили, что пациенты с РА, у которых развился ОП, принимали ГКС более длительно, имеют большую кумулятивную дозу в анамнезе и большую дозу ГКС, принимаемую в настоящий момент. В ряде работ прошлых лет [12, 14] не было выявлено связи между приемом ГКС и развитием ОП у пациентов с РА. Однако на сегодняшний день большинство авторов подтверждают негативное влияние ГКС на костную массу. Можно сделать предпо-

Таблица 2. Взаимосвязь между приемом ГКС и наличием ОП у пациентов с РА

Table 2. Relationship between glucocorticosteroids and the presence of osteoporosis in patients with RA

| Показатель | ОП, n = 53 | Без ОП, n = 57 | p |
|--------------------------------|------------------|-----------------|----------|
| Прием ГК более 3 мес.: | | | |
| да | 45 (40,9 %) | 27 (24,5 %) | < 0,0001 |
| нет | 8 (7,3 %) | 30 (27,3 %) | |
| Длительность приема ГК, мес. | 37,0 [23,0–97,0] | 11,0 [1,0–36,5] | 0,0005 |
| Кумулятивная доза ГКС, г | 6,5 [1,2–13,5] | 3,26 [0,15–7,2] | 0,002 |
| Доза ГКС в настоящее время, мг | 8,0 [5,0–10,0] | 1,5 [0,0–7,5] | 0,0006 |

Таблица 3. Взаимосвязь ОП с некоторыми биохимическими показателями

Table 3. Relationship of osteoporosis with some biochemical parameters

| Показатель | ОП, n = 53 | Без ОП, n = 57 | p |
|---|------------------|------------------|-------|
| Содержание кальция в крови, ммоль/л | 2,42 [2,32–2,68] | 2,44 [2,32–2,51] | 0,713 |
| Содержание кальция в моче, ммоль/сут | 2,01 [0,88–3,55] | 2,26 [1,03–4,51] | 0,165 |
| Содержание 25-ОН витамина D, нмоль/л | 43,9 [30,5–7,2] | 58,2 [45,6–64,4] | 0,001 |
| Активность щелочной фосфатазы, усл. ед. | 57,1 [53,5–75,0] | 61,9 [51,4–79,3] | 0,640 |
| Содержание СТХ-1, нг/мл | 0,55 [0,43–0,75] | 0,59 [0,40–0,78] | 0,907 |
| Содержание P1NP, нг/мл | 52,7 [44,4–71,2] | 45,3 [39,2–52,1] | 0,002 |
| Кальций/креатинин мочи | 0,15 [0,08–0,23] | 0,12 [0,08–0,21] | 0,876 |

ложение, что повышает риск развития ОП не сам факт приема ГКС, а его длительность (более трех месяцев) и высокая кумулятивная доза. Также имеет определенное значение величина дозы ГКС, принимаемая в последнее время (настоящий момент). Результаты нашего исследования косвенно подтверждают это предположение.

Согласно приведенным в табл. 3 данным, у пациентов с ОП выявлено более низкое содержание 25-ОН витамина D и более высокий уровень P1NP. Полученные данные требуют дальнейших исследований, практические выводы делать преждевременно.

Заключение

Системное воспаление, возникающее на фоне большинства ревматических заболеваний (в том числе и РА), характеризуется повреждением самых различных структур организма, в том числе оказывает негативное влияние на состояние костной ткани, приводя к снижению ее прочности и разрушению. Выделение групп риска пациентов, угрожаемых по развитию ОП, имеет важное практическое значение. Несмотря на очевидные успехи в изучении значимости различных факторов риска в развитии ОП на фоне РА, на сегодняшний день остается достаточное количество неясных моментов, что требует дальнейшего проведения мультицентровых проспективных исследований. Однако уже сейчас существует достаточное количество научных данных для эффективной профилактики развития ОП. В нашей работе получены данные о зависимости частоты ОП у пациентов с РА от следующих факторов: длительности заболевания, эрозивных изменений в суставах, низкой массы тела, а также длительности приема и дозы ГКС. Следовательно, мы имеем возможность в какой-то степени предотвратить и, как минимум, уменьшить негативное воздействие вышеперечисленных факторов. Например, выявление групп риска по развитию ОП среди пациентов с РА необходимо осуществлять уже на ранних

стадиях заболевания, проводить более агрессивную противовоспалительную терапию (с целью предотвращения развития эрозивных изменений). Также следует стремиться к более коротким курсам ГКС, меньшим кумулятивным дозам. Отдельно отметим необходимость регулярного динамического наблюдения у пациентов групп риска за состоянием МПКТ, особенно у пациентов, имеющих факторы риска. Таким образом, исходно цель наших мероприятий должна состоять не только в лечении имеющихся нарушений, но, в первую очередь, в профилактике развития потенциальных патологических состояний.

Список литературы / References

- Hernlund E., Svedbom A., Ivergard M., Compston J., Cooper C., Stenmark J., McCloskey E.V., Jönsson B., Kanis J.A. Osteoporosis in the European Union: Medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch. Osteoporos.* 2013;8(1):136. doi: 10.1007/s11657-013-0136-1
- Akkawi I., Zmerly H. Osteoporosis. *Current Concepts. Joints.* 2018;6(2):122–127. doi: 10.1055/s-0038-1660790
- Солодовников А.Г., Лесняк О.М., Усенко К.П., Добровольская О.В., Зоткин Е.Г., Белова К.Ю., Ершова О.В., Меньшикова Л.В., Варавко Ю.А., Голубев Г.С., ... Кочиш А.Ю. Качество жизни пациентов, перенесших остеопоротический перелом позвонков. *Научно-практ. ревматол.* 2018;56(1):48–54. doi: 10.14412/1995-4484-2018-48-54
- Solodovnikov A.G., Lesnyak O.M., Usenko K.P., Dobrovolskaya O.V., Zotkin E.G., Belova K.Yu., Ershova O.B., Menshikova L.V., Varavko Yu.A., Golubev G.S., ... Kochish A.Yu. Quality of life of patients with osteoporotic fracture of the vertebrae. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2018;56(1):48–54. [In Russian]. doi: 10.14412/1995-4484-2018-48-54

4. Al Anouti F., Taha Z., Shamim S., Khalaf K., Al Kaabi L., Alsafar H. An insight into the paradigms of osteoporosis, from genetics to biomechanics. *Bone Rep.* 2019;11:100216. doi: 10.1016/j.bonr.2019.100216
5. Adami G., Fassio A., Rossini M., Caimmi C., Giollo A., Orsolini G., Viapiana O., Gatti D. Osteoporosis in rheumatic diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(23):5867. doi: 10.3390/ijms20235867
6. Никитина Н.М., Афанасьев И.А., Ребров А.П. Коморбидность у больных ревматоидным артритом. *Научно-практ. ревматол.* 2015;53(2):149–154. doi: 10.14412/1995-4484-2015-149-154
7. Gladkova E.N., Lesnyak O.M., Ershova O.B., Skripnikova I.A., Anoshenkova O.N., Akhverdyan Yu.R., Belova K.Yu., Belousova I.B., Bolshakova E.V., Dreval A.V., ... Shavaliyeva L.R. Risk pereloma proksimal'nogo otdela bedra kak osnova dlya razrabotki poroga terapevticheskogo vmeshatel'stva na baze modeli FRAX v Rossiyskoy populyatsii. *Osteoporoz i osteopatii.* 2020;23(1):82–83.
8. Gladkova E.N., Lesnyak O.M., Ershova O.B., Skripnikova I.A., Anoshenkova O.N., Akhverdyan Yu.R., Belova K.Yu., Belousova I.B., Bolshakova E.V., Dreval A.V., ... Shavaliyeva L.R. Proximal femur fracture risk as a basis for the development of therapeutic intervention threshold based on FRAX model in the Russian population. *Osteoporoz i osteopatii = Osteoporosis and Bone Diseases.* 2020;23(1):82–83. [In Russian].
9. Gladkova E.N., Lesnyak O.M., Ershova O.B., Skripnikova I.A., Anoshenkova O.N., Akhverdyan Yu.R., Belova K.Yu., Belousova I.B., Bolshakova E.V., Dreval A.V., ... Shavaliyeva L.R. Fixed thresholds for therapeutic intervention based on the FRAX model in the Russian population. *Osteoporoz i osteopatii = Osteoporosis and Bone Diseases.* 2020;23(1):78–79 [In Russian].
10. Таскина Е.А., Алексеева Л.И., Дыдыкина И.С., Подворотова М.М., Дыдыкина П.С., Петрова Е.В., Раскина Т.А., Мурадянц А.А., Жугрова Е.С., Пешехонов Д.В., ... Насонов Е.Л. Факторы риска развития остеопороза у больных ревматоидным артритом (предварительные результаты по материалам многоцентровой программы «Остеопороз при ревматоидном артрите: диагностика, факторы риска, переломы, лечение»). *Научно-практ. ревматол.* 2014;52(4):393–397.
11. Taskina E.A., Alekseeva L.I., Dydykina I.S., Podvorotova M.M., Dydykina P.S., Petrova E.V., Raskina T.A., Muradyants A.A., Zhugrova E.S., Peshekhonov D.V., ... Nasonov E.L. Risk factors for osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis (preliminary results according to the materials of the multicenter program «Osteoporosis in rheumatoid arthritis: Diagnosis, risk factors, fractures, treatment»). *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya = Rheumatology Science and Practice.* 2014;52(4):393–397. [In Russian].
12. Беляя Ж.Е., Белова К.Ю., Бирюкова Е.В., Дедов И.И., Дзеранова Л.К., Драпкина О.М., Древаль А.В., Дубовицкая Т.А., Дудинская Е.Н., Ершова О.Б., ... Якушевская О.В. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза. *Osteoporoz i osteopatii.* 2021;24(2):4–47. doi: 10.14341/osteol2930
13. Belaya Zh.E., Belova K.Yu., Biryukova E.V., Dedov I.I., Dzeranova L.K., Drapkina O.M., Dreval A.V., Dubovitskaya T.A., Dudinskaya E.N., Ershova O.B., ... Yakushevskaya O.V. Federal clinical guidelines for diagnosis, treatment and prevention of osteoporosis. *Osteoporoz i osteopatii = Osteoporosis and Bone Diseases.* 2021;24(2):4–47. [In Russian]. doi: 10.14341/osteol2930
14. Binkley N., Bilezikian J.P., Kendler D.L., Leib E.S., Lewiecki E.M., Petak S.M., International Society for Clinical Densitometry. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2005 Position Development Conference. *J. Clin. Densitom.* 2006;9(1):4–14. doi: 10.1016/j.jocd.2006.05.002
15. Mobini M., Kashi Z., Ghobadifar A. Prevalence and associated factors of osteoporosis in female patients with rheumatoid arthritis. *Caspian J. Intern. Med.* 2012;3(3):447–450.
16. Hafez E.A., Mansour H.E., Hamza S.H., Mofiah S.G., Younes T.B., Ismail M.A. Bone mineral density changes in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Clin. Med. Insights. Arthritis Musculoskelet. Disord.* 2011;4:87–94. doi: 10.4137/CMAMD.S7773
17. Sarkis K.S., Salvador M.B., Pinheiro M.M., Silva R.G., Zerbini C.A., Martini L.A. Association between osteoporosis and rheumatoid arthritis in women: a cross-sectional study. *Sao Paulo Med. J.* 2009;127(4):216–222. doi: 10.1590/S1516-31802009000400007
18. Wijbrandts C.A., Klaasen R., Dijkgraaf M.G., Gerlag D.M., van Eck-Smit B.L.F., Tak P.P. Bone mineral density in rheumatoid arthritis patients 1 year after adalimumab therapy: arrest of bone loss. *Ann. Rheum. Dis.* 2009;68(3):373–376. doi: 10.1136/ard.2008.091611

16. Sugiguchi S., Goto H., Inaba M., Nishizawa Y. Preferential reduction of bone mineral density at the femur reflects impairment of physical activity in patients with low-activity rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol.* 2010;20(1):69–73. doi: 10.1007/s10165-009-0242-5

17. van der Goes M.C., Jacobs J.W., Jurgens M.S., Bakker M.F., van der Veen M.J., van der Werf J.H.,

Welsing P.M.J., Bijlsma J.W.J. Are changes in bone mineral density different between groups of early rheumatoid arthritis patients treated according to a tight control strategy with or without prednisone if osteoporosis prophylaxis is applied? *Osteoporos. Int.* 2013;24(4):1429–1436. doi: 10.1007/s00198-012-2073-z

Сведения об авторах:

Юрий Рубенович Ахвердян, к.м.н., ORCID: 0000-0001-8010-6777, e-mail: doctor_2001@mail.ru

Евгений Васильевич Папичев, к.м.н., ORCID: 0000-0002-8799-2991, e-mail: e_papichev@mail.ru

Борис Валерьевич Заводовский, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-8864-9570, e-mail: pebma@mail.ru

Юлия Васильевна Полякова, к.м.н., ORCID: 0000-0002-3022-4166, e-mail: jpolyakova@yandex.ru

Лариса Евгеньевна Сивордова, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0965-6060, e-mail: seeword@mail.ru

Information about the authors:

Yuri R. Akhverdyan, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-8010-6777, e-mail: doctor_2001@mail.ru

Evgeny V. Papichev, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8799-2991, e-mail: e_papichev@mail.ru

Boris V. Zavodovsky, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-8864-9570, e-mail: pebma@mail.ru

Julia V. Polyakova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3022-4166, e-mail: jpolyakova@yandex.ru

Larisa E. Seewordova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0965-6060, e-mail: seeword@mail.ru

Поступила в редакцию 17.06.2022

После доработки 21.07.2022

Принята к публикации 26.08.2022

Received 17.06.2022

Revision received 21.07.2022

Accepted 26.08.2022

Эффективность применения β_2 -агониста короткого действия для купирования острого холодового бронхоспазма у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей

А.Г. Приходько, Ю.М. Перельман

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

Резюме

Чрезмерная чувствительность респираторного тракта к физико-химическим триггерам окружающей среды может варьировать по многим причинам, уменьшая эффективность проводимой терапии больному бронхиальной астмой (БА). **Цель исследования** – изучить эффективность применения бронхолитика короткого действия у больных БА для купирования острого холодового бронхоспазма после пробы изокапнической гипервентиляции холодным воздухом (ИГХВ). **Материал и методы.** У 281 (161 женщина, 120 мужчин, $p > 0,05$) больного БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (ХГДП) оценивали изменение проходимости дыхательных путей (ОФВ₁), жизненную емкость легких (ЖЕЛ) и эффективность применения короткодействующих β_2 -агонистов (КДБА) после 3-минутной изокапнической гипервентиляции холодным ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) воздухом. **Результаты.** По клиническим данным больные имели персистирующую БА, средний возраст 35 (26; 44) лет (медиана (нижний квартиль; верхний квартиль)), 49 % пациентов курили, АСТ 16 (12; 20) баллов (количественная оценка симптомов БА по вопроснику Asthma Control Test), ОФВ₁ $90,0 \pm 1,0$ % должного, ОФВ₁/ЖЕЛ $71,4 \pm 0,6$ %, прирост ОФВ₁ ($\Delta\text{ОФВ}_{1\beta}$) после ингаляции КДБА составил 11,1 (5,1; 20,5) %. Изменение ОФВ₁ на пробу ИГХВ варьировало в пределах -16 ($-22,0$; $-12,0$) %. Применение КДБА после пробы ИГХВ показало разную эффективность препарата у больных при купировании приступа холодового бронхоспазма. Значение $\Delta\text{ОФВ}_{1\beta}$ после ИГХВ составило 21,1 (11,6; 33,3) % с размахом от $-48,6$ до 108,2 %. В общей группе прослеживалась прямая связь между уровнем контроля астмы в баллах АСТ и исходной величиной ОФВ₁ (коэффициент корреляции Спирмена $R_s = 0,17$; $p = 0,007$), средней объемной скоростью при выдохе от 25 до 75 % ФЖЕЛ (СОС_{25-75}) ($R_s = 0,18$; $p = 0,008$), $\Delta\text{ОФВ}_{1\beta}$ ($R_s = -0,17$; $p = 0,0104$), а также выраженностью реакции бронхов на пробу ИГХВ ($R_s = 0,15$; $p = 0,014$). Последняя, в свою очередь, коррелировала с $\Delta\text{ОФВ}_{1\beta}$ после ИГХВ ($R_s = -0,28$; $p < 0,0001$). **Заключение.** Существует дифференцированный ответ дыхательных путей на КДБА после острой холодовой бронхопровокации. Полученные результаты могут служить важным инструментом фенотипирования больных БА с ХГДП с целью эффективной медикаментозной коррекции холодового бронхоспазма.

Ключевые слова: бронхиальная астма, бронхиальная проходимость, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, β_2 -агонист короткого действия.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Приходько А.Г., e-mail: prih-anya@yandex.ru

Для цитирования: Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Эффективность применения β_2 -агониста короткого действия для купирования острого холодового бронхоспазма у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(5):81–92. doi: 10.18699/SSMJ20220511

Efficiency of using a short-acting β_2 -agonist for the relief of acute cold bronchospasm in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness

A.G. Prikhodko, J.M. Perelman

Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration
675000, Blagoveshchensk, Kalinin str., 22

Abstract

Excessive sensitivity of the respiratory tract to physical and chemical environmental triggers can vary for many reasons, reducing the therapy effectiveness in a patient with asthma. Aim of the study was to investigate the effectiveness of a short-acting bronchodilator in patients with asthma for the relief of acute cold bronchospasm after a test of isocapnic cold air hyperventilation (ICHV). **Material and methods.** In 281 (161 women; 120 men, $p > 0.05$) asthma patients with cold airway hyperresponsiveness (CAHR), the change in airway patency (FEV_1) and the efficacy of short-acting β_2 -agonists (SABA) after a 3-minute isocapnic hyperventilation with cold (-20°C) air. **Results.** According to clinical data, patients had persistent asthma, mean age 35 (26; 44) years, 49 % of patients smoked, ACT 16 (12; 20) points, FEV_1 90.0 ± 1.0 % predicted, FEV_1/VC 71.4 ± 0.6 %, the increase in FEV_1 after inhalation of SABA ($\Delta FEV_{1\beta}$) was 11.1 (5.1; 20.5) %. The change in FEV_1 for the ICHV varied within -16 (-22.0 ; -12.0) %. The use of SABA after the ICHV showed different efficacy for relief of an attack of cold bronchospasm. The median value of $\Delta FEV_{1\beta}$ after ICHV was 21.1 (11.6; 33.3) %, with a range of -48.6 to 108.2 %. In the general group, there was a direct relationship between the level of asthma control in terms of ACT points and the baseline FEV_1 ($R_s = 0.17$; $p = 0.007$), MEF_{25-75} ($R_s = 0.18$; $p = 0.008$), $\Delta FEV_{1\beta}$ in response to SABA ($R_s = -0.17$; $p = 0.0104$), as well as the severity of the bronchial response to the ICHV ($R_s = 0.15$; $p = 0.014$). The latter, in turn, correlated with $\Delta FEV_{1\beta}$ after ICHV ($R_s = -0.28$; $p < 0.0001$) after HCl. **Conclusions.** There is a differentiated airway response to SABA after acute cold bronchoprovocation. The results obtained can serve as an important tool for phenotyping of asthma patients with CAHR for the medication correction of cold bronchospasm.

Key words: asthma, bronchial patency, cold airway hyperresponsiveness, short-acting β_2 -agonist.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Prikhodko A.G., e-mail: prih-anya@yandex.ru

Citation: Prikhodko A.G., Perelman J.M. Efficiency of using a short-acting β_2 -agonist for the relief of acute cold bronchospasm in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2022;42(5):81–92. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220511

Введение

Патофизиологические механизмы обструкции дыхательных путей при бронхиальной астме (БА) связаны с чрезмерной активацией гладкой мускулатуры, утолщением стенок дыхательных путей вследствие хронического воспаления, наличием плазматической и/или клеточной инфильтрации, а также с процессами ремоделирования в условиях длительно существующего заболевания и отсутствия адекватной противовоспалительной терапии. Гиперплазия, отек и ремоделирование напрямую коррелируют с текущим бронхиальным воспалением, требующим постоянной длительной терапии кортикостероидами. Для расслабления гладкой мускулатуры с целью купирования острого бронхоспазма в качестве препаратов первой линии используют короткодействующие β_2 -агонисты (КДБА) [1], частота использования которых служит одним из основных показателей потери контроля над БА и персистенции воспаления.

В реальной жизни больной астмой сталкивается с действием большого числа провоцирующих факторов физико-химической природы, например, холода, высокой влажности и т.д., которые способны вызывать острый бронхоспазм. Вне зависимости от верифицируемого триггера неизбежно встает вопрос о неотложной эффективной

терапии возникшего бронхоспазма [2, 3]. Одним из распространенных непрямых стимулов, вызывающих бронхоспазм у больных БА, является холодный воздух. В исследовательской и клинической практике он используется для проведения бронхопровокационной пробы изокапнической гипervентиляции холодным воздухом (ИГХВ) с целью выявления холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП). Одним из показаний для проведения данной пробы является наличие у больного клинических симптомов дисфункции дыхательных путей при контакте с холодным воздухом окружающей среды [2]. Критерием положительной пробы ИГХВ служит появление бронхоспазма, объективно верифицируемого по степени падения объема форсированного выдоха за 1 с ($ОФВ_1$) более чем на 10 % от исходного. В зависимости от степени ХГДП реакция на ИГХВ может варьировать от легкой до резко выраженной, которая требует медикаментозного вмешательства. Возможности купирования острой холодовой бронхоконстрикции при помощи аэрозольной ингаляции КДБА недостаточно ясны.

Цель исследования заключалась в изучении эффективности применения бронхолитика короткого действия у больных БА для купирования острого холодового бронхоспазма после ИГХВ.

Материал и методы

Клиническое исследование выполнено с соблюдением Федерального закона «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», международных этических принципов проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) на основании полученного разрешения локального комитета по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания. Функциональные тесты проводились по единым стандартам в соответствии с существующими международными протоколами [4, 5].

Критерии включения больных: возраст старше 18 и до 70 лет, документально подтвержденный клинический диагноз БА, наличие клинических симптомов реакции дыхательных путей на холодный воздух, $ОФВ_1$ более 70 % должной величины на момент обследования, отсутствие фоновых заболеваний, оказывающих влияние на проведение функциональных тестов, подписанное информированное согласие. Критерии исключения: наличие холодовой аллергии, документально подтвержденной аллергологом, острые респираторные заболевания, перенесенные в течение предшествующих четырех недель. Особое внимание перед исследованием уделялось больным с вегетососудистыми реакциями на саму бронхопровокацию либо на многократное форсированное дыхание, с патологией сердечно-сосудистой системы, у которых гипервентиляция холодным воздухом могла провоцировать кратковременный спазм коронарных сосудов и сосудов головного мозга.

Исследование носило ретроспективный наблюдательный характер среди больных БА, прошедших клинико-функциональное обследование в промежутке 2010–2020 гг. Все исследования выполнены в лаборатории функциональной диагностики под наблюдением медицинского персонала, на добровольной основе.

Клинико-функциональный раздел работы включал в себя первичную объективизацию симптомов БА с их количественной оценкой в баллах по вопроснику Asthma Control Test (ACT, Quality Metric Inc., 2002), тестирование больных по ранее разработанной анкете [2], позволяющей оценить характер реагирования на низкую температуру воздуха в повседневной жизни, с отбором пациентов для дальнейшего инструментального обследования и выполнения бронхопровокационной пробы. В тот же день проводилось спирометрическое исследование с целью оценки

вентиляционной функции легких, дополненное бронходилатационной пробой с КДБА. Второй день обследования включал в себя выполнение бронхопровокационной пробы 3-минутной ИГХВ под контролем параметров бронхиальной проходимости, после которой повторно вводился КДБА.

Вентиляционная функция легких оценивалась путем проведения спирометрии на аппаратах Flowscreen (Erich Jaeger, Германия), Easy on-PC (ndd Medizintechnik AG, Швейцария) с регистрацией параметров кривой «поток-объем» форсированного выдоха (жизненная емкость легких (ЖЕЛ), форсированная ЖЕЛ (ФЖЕЛ), $ОФВ_1$, максимальная объемная скорость при выдохе 50 % ФЖЕЛ ($МОС_{50}$) и 75 % ФЖЕЛ ($МОС_{75}$), средняя объемная скорость при выдохе от 25 до 75 % ФЖЕЛ ($СОС_{25-75}$) в % от должного значения по стандартной методике [4, 5], после чего выполнялась бронходилатационная проба с целью выявления скрытого функционального компонента обструкции ($\Delta ОФВ_{1p}$) путем введения аэрозоля КДБА (сальбутамол 200 мкг) при помощи дозированного ингалятора. Повторная регистрация параметров бронхиальной проходимости проводилась через 15 минут после ингаляции препарата. Попутно больным диагностировали повышенную гиперчувствительность к компонентам КДБА в плане появления нежелательных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы.

Инструментальное бронхопровокационное тестирование больных выполнялось с использованием установки для охлаждения воздуха до -20 °С, присоединенной к комплексной системе для кардиореспираторных исследований (Erich Jaeger), путем 3-минутной ИГХВ на уровне 60 % должной максимальной вентиляции легких. Спирометрический контроль осуществлялся непосредственно перед началом провокации, на 1-й и 5-й минуте восстановительного периода после ИГХВ [2]. Клиническими критериями прекращения пробы служили: удушье или отчетливое затруднение дыхания с появлением дистанционных хрипов, сильный приступообразный кашель, выраженная вегетативная реакция (головная боль, головокружение и т.д.), аллергическая реакция на ингаляцию холодного воздуха с резким покраснением кожи лица, чувством распирания, отечностью. Проба считалась положительной, если после ингаляции холодного воздуха $ОФВ_1$ уменьшался ($\Delta ОФВ_1$, %) более чем на 10 % от исходной величины или через 5 минут после ингаляции – более чем на 15 % [2].

По завершении процедуры тестирования с целью купирования бронхоконстрикции всем больным вводился КДБА (сальбутамол 200 мкг)

и через 15 минут регистрировался ОФВ₁. Далее рассчитывалась разница между максимально низким абсолютным значением показателя ОФВ₁, полученным после пробы ИГХВ, и абсолютным значением ОФВ₁ после введения бронхолитика с последующим делением полученной разницы на абсолютное значение ОФВ₁ после пробы ИГХВ и умножением на 100 ($\Delta\text{ОФВ}_{1\beta\text{ИГХВ}}$, %).

Для того чтобы исключить влияние циркадных ритмов, тестирование проводилось в первую половину дня, за 1,5–2 часа ограничивался прием горячей пищи и напитков, запрещалась физическая нагрузка, контакт с холодом, аэрополлютантами, проведение любых ингаляций, изменение местонахождения. На период обследования больных просили воздерживаться от приема бронхолитических препаратов и комбинированных ингаляционных противовоспалительных средств (ингаляционных глюкокортикостероидов и длительно действующих β -агонистов, ИГКС/ДДБА) за 12–24 часов до предполагаемой инструментальной процедуры [6]. По окончании пациент оставался под наблюдением медицинского персонала не менее 2–4 часов и мог покинуть лабораторию только в случае, если показатели бронхиальной проходимости улучшились до значений $\text{ОФВ}_{1} > 90$ % от исходного, а также получения соответствующих рекомендаций в случае появления рецидива бронхоспазма в последующие 24 часа после бронхопровокационного тестирования.

Статистический анализ полученного материала проводили с использованием программы «Автоматизированная система диспансеризации» [7] на основе стандартных методов вариационной статистики. Оценка соответствия признака закону нормального распределения проводили при помощи критериев Колмогорова – Смирнова, Пирсона – Мизеса. При нормальном типе распределения использовали критерий t (Стьюдента), при распределении данных, отличных от нормального, применяли критерии Колмогорова – Смирнова и Манна – Уитни, парный критерий Уилкоксона. Описательная статистика количественных признаков представлена с помощью среднего арифметического, стандартной ошибки среднего арифметического ($M \pm m$), а также медианы и квартилей (Me (Q_1 ; Q_3)). Анализ распространенности признака в сравниваемых группах (частота альтернативного распределения) проводили по критерию χ^2 Пирсона для четырехпольной таблицы. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами выполняли корреляционный анализ, рассчитывали коэффициент корреляции по Спирмену (R_s). Для всех

величин принимались во внимание уровни значимости $p < 0,05$.

Результаты

В анализе принял участие 281 больной персистирующей БА (161 женщина и 120 мужчин, $p > 0,05$) с выявленной ХГДП по данным пробы ИГХВ. Средний возраст по группе 35 (26; 44) лет, рост 170 (163; 176) см, вес 75 (64; 87) кг, 49 % от общего числа обследованных курили, АСТ составил в среднем 16 (12; 20) баллов. По результатам анкетирования все пациенты в той или иной мере отмечали появление симптомов при вдыхании холодного воздуха, самым специфичным симптомом для 51 % больных было удушье и/или затруднение дыхания, испытываемое в повседневной жизни в зимний период года. Базовое значение ОФВ_{1} составило $90,0 \pm 1,0$ % должной, $\text{ОФВ}_{1}/\text{ЖЕЛ} - 71,4 \pm 0,6$ %. Клинически значимым приростом ОФВ_{1} после пробы с КДБА считали увеличение показателя более чем на 12 % от исходного (или более 200 мл) [8]. Данный прирост был достигнут у 50 % пациентов, в 46 % случаев реакция на бронхолитик не превышала 12 % (рис. 1). Обращает на себя внимание тот факт, что у 4 % больных регистрировалось уменьшение ОФВ_{1} за пределы нижней границы нормального диапазона, свидетельствовало о парадоксальном ухудшении бронхиальной проходимости, возможно, связанном с кратковременной десенситизацией β -адренорецепторов и существующим холин- и адренергическим дисбалансом. Другой причиной могла служить активация мускариновых рецепторов и провоспалительных медиаторов, что в свою очередь приводило к повышению внутриклеточной концентрации протеинкиназы С и снижению чувствительности β_2 -адренорецепторов. В целом по группе значение $\Delta\text{ОФВ}_{1\beta}$ составило 11,1 (5,1; 20,5) %.

Все больные выполнили навязываемую им 3-минутную вентиляционную нагрузку холодным воздухом, досрочного прекращения бронхопровокации не было, также никто из пациентов не имел аллергической реакции на холод в виде отека и покраснения лица, вегетативных нарушений. По данным инструментального исследования, после пробы ИГХВ величина $\Delta\text{ОФВ}_{1}$ составляла -16 ($-22,0$; $-12,0$) % с максимальным снижением показателя до -70 % (рис. 2).

Тяжесть состояния больных оценивалась от легкого бронхоспазма (71,5 % случаев) до бронхоспазма средней тяжести (16,4 %) и тяжелого (12,1 %), определяемого в соответствии с классификацией степени тяжести ХГДП (табл. 1) [9], при этом пациенты с тяжелым бронхоспазмом

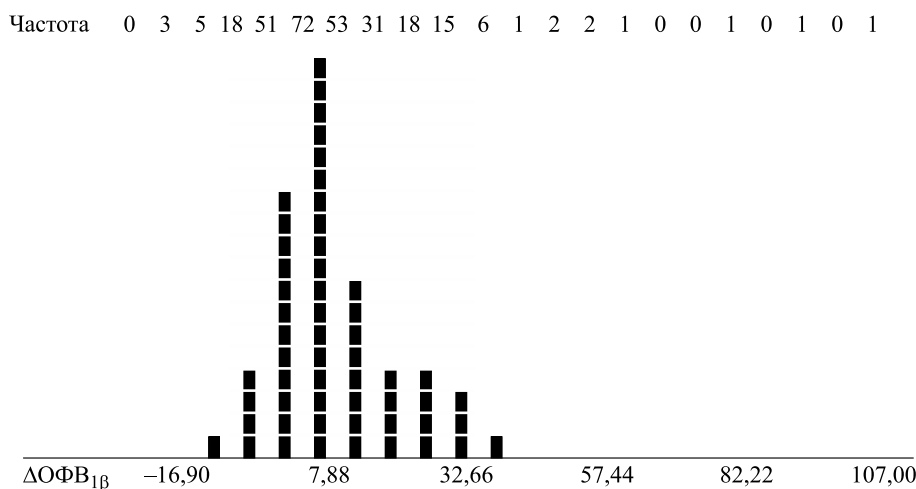


Рис. 1. Разброс значений $\Delta O\Phi B_{1\beta}$ (%) и частота его встречаемости при пробе с КДБА (число случаев)
Fig. 1. Scatter plot of $\Delta FEV_{1\beta}$ values (%) and frequency of its occurrence during the SABA test (number of cases)

имели более низкий контроль заболевания и базовые значения скоростных показателей по отношению к лицам с легким бронхоспазмом на пробу ИГХВ (см. табл. 1). По общей группе прослеживалась прямая связь между количеством набранных баллов больными при ответе на вопросы теста по контролю над астмой (АСТ), базовой величиной $O\Phi B_1$, COC_{25-75} ($R_s = 0,17$; $p = 0,007$; $R_s = 0,18$; $p = 0,008$), приростом $\Delta O\Phi B_{1\beta}$ на КДБА ($R_s = -0,17$; $p = 0,0104$), а также выраженностью реакции бронхов ($\Delta O\Phi B_1$) на пробу ИГХВ ($R_s = 0,15$; $p = 0,014$). Последнее, в свою очередь, коррелировало с последующей реакцией бронхов ($\Delta O\Phi B_{1\beta \text{ ИГХВ}}$) на КДБА ($R_s = -0,28$; $p < 0,0001$).

Применение короткодействующего бронхолитика после пробы ИГХВ показало разную эффективность препарата у больных при купировании приступа бронхоспазма. В целом по группе

прирост величины $\Delta O\Phi B_{1\beta \text{ ИГХВ}}$ составил 21,1 (11,6; 33,3) % с колебаниями от -48,6 до 108,2 % (рис. 3), что свидетельствовало о специфичности формирующихся патофизиологических ответов при развитии холодового бронхоспазма. Больные со среднетяжелым и тяжелым бронхоспазмом, при исходно равной реакции бронхов на бронходилатационную пробу по-разному реагировали на введение препарата после ингаляции холодного воздуха (см. табл. 1).

Ответ на КДБА при легкой и тяжелой бронхоконстрикции был значимо выше, чем у лиц со средней степенью тяжести, в сравнении с исходной реакцией дыхательных путей на бронхолитик, измеренной ранее (см. табл. 1). В случае тяжелого бронхоспазма величины $\Delta O\Phi B_{1\beta \text{ ИГХВ}}$ практически в два раза превышали $\Delta O\Phi B_{1\beta}$. Однако следует подчеркнуть, что во всех группах фактическое значение показателя $O\Phi B_1$, полу-

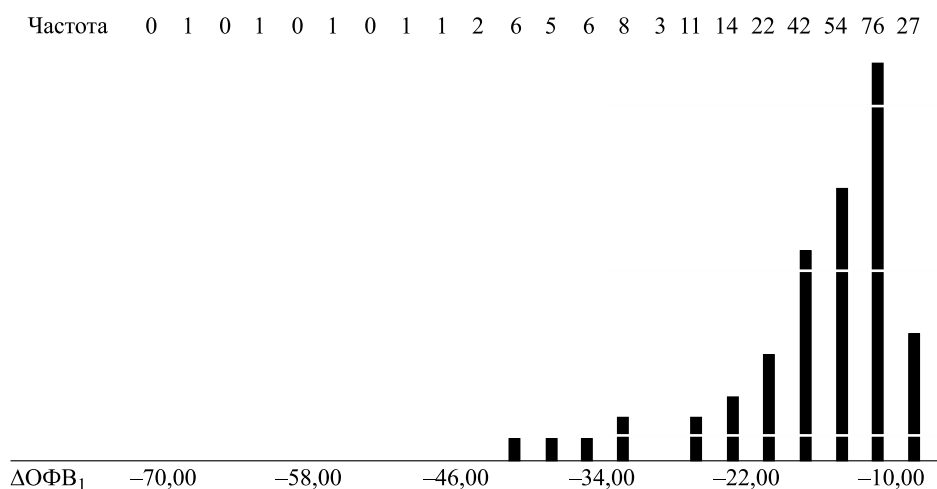


Рис. 2. Разброс значений $\Delta O\Phi B_1$ (%) и частота его встречаемости при пробе ИГХВ (число случаев)
Fig. 2. Scatter plot of ΔFEV_1 values (%) and frequency of its occurrence during the ICHV test (number of cases)

Таблица 1. Основные клинические и функциональные параметры у больных БА, распределенных в группы по выраженности реакции дыхательных путей на пробу ИГХВ

Table 1. The main clinical and functional indicators in patients with asthma, distributed in groups according to the severity of the airway response to the ICHV

| Параметр | Легкий бронхоспазм (1) | Бронхоспазм средней тяжести (2) | Тяжелый бронхоспазм (3) | p_{1-2} | p_{1-3} | p_{2-3} |
|--|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Возраст, лет | 37,0 ± 0,8 | 32,0 ± 1,4 | 36,0 ± 2,0 | 0,008 | > 0,05 | > 0,05 |
| Пол (число мужчин / число женщин), % | 44/56 | 39/61 | 38/62 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Курящие лица, % | 46 | 54 | 55 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| АСТ, баллы | 16,0 (13,0; 20,0) | 16,5 (11,0; 20,0) | 12,0 (11,0; 19,0) | > 0,05 | 0,022 | > 0,05 |
| ОФВ ₁ / ЖЕЛ, % | 72,1 ± 0,7 | 71,1 ± 1,5 | 68,3 ± 1,7 | > 0,05 | 0,002 | > 0,05 |
| ФЖЕЛ, % должного | 104,3 ± 1,1 | 103,0 ± 2,3 | 101,7 ± 2,4 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| ОФВ ₁ , % должного | 91,7 ± 1,2 | 87,6 ± 2,4 | 83,3 ± 2,8 | > 0,05 | 0,005 | > 0,05 |
| МОС ₅₀ , % должного | 63,8 ± 1,5 | 59,0 ± 3,0 | 51,3 ± 3,2 | > 0,05 | 0,002 | > 0,05 |
| МОС ₇₅ , % должного | 55,1 ± 1,6 | 52,1 ± 3,8 | 43,8 ± 3,5 | > 0,05 | 0,008 | > 0,05 |
| СОС ₇₅₋₇₅ , % должного | 63,1 ± 1,6 | 59,7 ± 3,5 | 51,7 ± 3,7 | > 0,05 | 0,005 | > 0,05 |
| Δ ОФВ _{1β} , % | 9,6 (4,9; 16,2) | 20,6 (11,0; 29,3) | 18,0 (9,9; 33,7) | 0,0001 | 0,0003 | > 0,05 |
| Δ ОФВ ₁ , % | -13,7 (-16; 11) | -23,5 (-26; -21) | -39 (-42; -33) | <0,0001 | <0,0001 | > 0,05 |
| Δ ОФВ _{1β ИГХВ} , % | 20,3 (11,3; 29) $p < 0,0001$ | 16,9 (11,0; 41,5) $p > 0,05$ | 43,8 (23,7; 68,4) $p = 0,043$ | 0,021 | <0,0001 | 0,013 |

Примечание. p – значимость различий между показателями Δ ОФВ_{1 β} и Δ ОФВ_{1 β ИГХВ} (парный критерий Уилкоксона).

ченное после применения бронхолитика для купирования бронхоспазма, спровоцированного холодным воздухом, не достигало исходной величины, при этом у больных с тяжелой бронхоконстрикцией процесс восстановления бронхиальной проходимости после пробы ИГХВ был более длительным (рис. 4).

Был проведен индивидуальный анализ значений переменных Δ ОФВ_{1 β} , Δ ОФВ₁, Δ ОФВ_{1 β ИГХВ}

для выявления особенностей реагирования на короткодействующий симпатомиметик и холодной триггер у каждого больного. 68 % обследованных (группа 1) имели высокую скорость восстановления бронхиальной проходимости в ответ на ингалируемый бронхолитик после острой холодной провокации, что указывало на спазм гладкой мускулатуры как основную причину сужения дыхательных путей (табл. 2). В данной группе

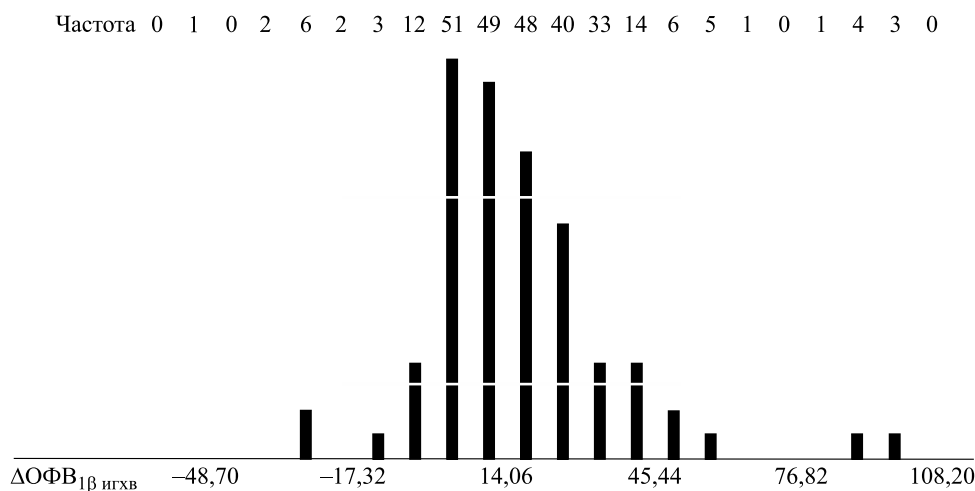


Рис. 3. Разброс значений Δ ОФВ_{1 β ИГХВ} (%) и частота его встречаемости после пробы ИГХВ (число случаев)
Fig. 3. Scatter plot of Δ FEV_{1 β ИГХВ} values (%) and frequency of its occurrence during the ICHV test (number of cases)

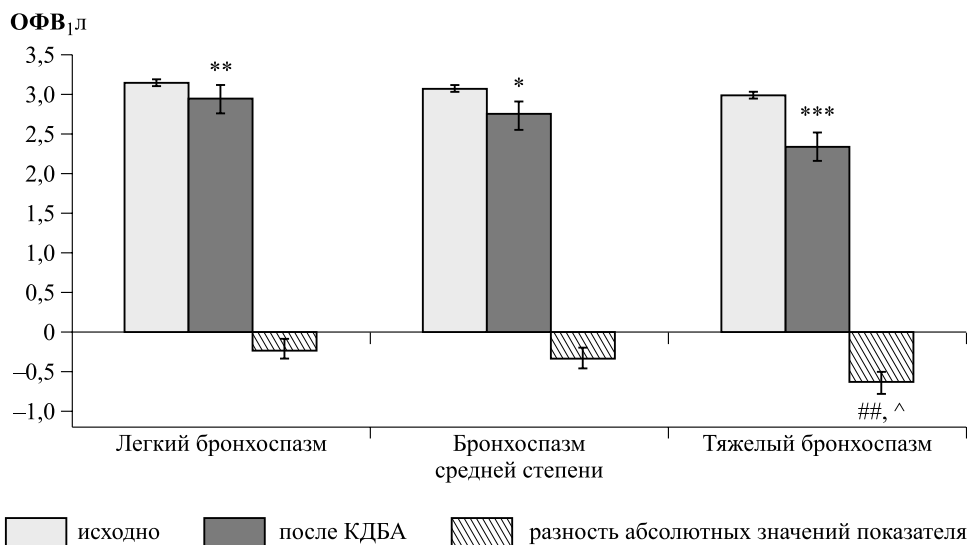


Рис. 4. Фактическое значение $ОФВ_1$ исходно и через 15 мин после применения КДБА при пробе ИГХВ у больных БА, распределенных в группы по степени тяжести бронхоконстрикторной реакции. Обозначены статистически значимые отличия от исходной величины $ОФВ_1$ (* – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$, парный критерий), $ОФВ_1$ пациентов с легким бронхоспазмом (## $p < 0,01$) и бронхоспазмом средней степени тяжести (^ $p < 0,05$)

Fig. 4. The actual value of FEV_1 at baseline and 15 minutes after the use of SABA during the ICHV in patients with asthma, divided into groups according to the severity of the bronchoconstrictor reaction. Statistically significant differences from the initial value of FEV_1 are indicated (* – at $p < 0.05$, ** – at $p < 0.01$, *** – at $p < 0.001$, paired criterion), FEV_1 of patients with mild (## $p < 0.01$) and moderate bronchospasm (^ $p < 0.05$)

медианная реакция бронхов на бронходилататор превышала реакцию, полученную на ингаляцию холодного воздуха, взятую по модулю (28,4 и 15,0 % соответственно). Почти треть больных (27 %, группа 2) от общего числа с холодным бронхоспазмом слабо отвечала на ингаляцию КДБА после пробы ИГХВ, в группе также регистрировался прирост показателя $\Delta ОФВ_{1\beta}$ ИГХВ, но он был значимо меньше, чем изменение $ОФВ_1$ в ответ на триггер (10,6 и 17,0 %, соответственно). По сути, в данной группе не происходило полного восстановления бронхиальной проходимости до исходных значений. Третья группа (5 % больных) была представлена лицами, которые после ингаляции КДБА ответили дальнейшим ухудшением проходимости дыхательных путей, им требовалась терапия кортикостероидами (см. табл. 2).

При анализе реакции дыхательных путей ($\Delta ОФВ_{1\beta}$) на КДБА до ИГХВ мы не нашли значимых статистических различий между сравниваемыми группами (см. табл. 2). Больные в исследуемых группах достоверно не различались по уровню контроля над заболеванием и исходным значениям показателей, характеризующих бронхиальную проходимость. Тем не менее в первой группе, в отличие от остальных, обнаружена тесная корреляционная связь между $\Delta ОФВ_{1\beta}$ и ответом бронхов ($\Delta ОФВ_1$) на

ИГХВ ($R_s = -0,30$; $p = 0,0001$), а также последней величиной и уровнем контроля астмы по баллам АСТ ($R_s = 0,18$; $p = 0,016$).

Обсуждение

Проведенные нами ранее исследования показали, что непрямые бронхопровокационные стимулы, такие как холодный воздух, имеют достаточно высокую чувствительность и специфичность в плане выявления гиперреактивности дыхательных путей [2]. Однако степень ее выраженности, быстрота восстановления при купировании приступа бронхоспазма после контакта с триггером будут зависеть от многих факторов, прежде всего, от характера воспалительного процесса в респираторном тракте больного БА. Для астматиков, страдающих ХГДП, в большей степени характерен смешанный (эозинофильно-нейтрофильный) тип бронхиального воспаления с высоким содержанием нейтрофилов в мокроте [10]. Существуют сведения о более высокой плотности распределения воспалительных клеток в стенках малых дыхательных путей по отношению к клеткам, инфильтрирующим слизистую оболочку крупных и средних бронхов [11]. Такие больные менее эффективно поддаются стандартной противовоспалительной терапии ИГКС/

Таблица 2. Основные клинические и функциональные параметры у больных БА, распределенных в группах по выраженности реакции дыхательных путей на КДБА после пробы с холодным воздухом

Table 2. The main clinical and functional indicators in patients with asthma, distributed in groups according to the severity of the airway response to the SABA after ICHV

| Параметр | Группа 1 | Группа 2 | Группа 3 | P_{1-2} | P_{1-3} | P_{2-3} |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Возраст, лет | 34,5 ± 0,85 | 39,5 ± 1,3 | 38,9 ± 3,1 | 0,002 | > 0,05 | > 0,05 |
| Пол (число мужчин / число женщин), % | 44/56 | 43/57 | 29/71 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| Курящие лица, % | 46 | 59 | 58 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| АСТ, баллы | 16,0 (12,0; 20,0) | 17,0 (12,0; 21,0) | 16,0 (13,0; 22,5) | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| ОФВ ₁ / ЖЕЛ, % | 71,4 ± 0,7 | 71,3 ± 1,0 | 71,5 ± 1,8 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| ФЖЕЛ, % должного | 104,0 ± 1,1 | 101,0 ± 1,7 | 112,9 ± 3,4 | > 0,05 | 0,039 | 0,008 |
| ОФВ ₁ , % должного | 89,6 ± 1,2 | 89,8 ± 1,7 | 96,7 ± 3,2 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| МОС ₅₀ , % должного | 61,1 ± 1,5 | 61,7 ± 2,6 | 65,0 ± 4,0 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| МОС ₇₅ , % должного | 53,3 ± 1,8 | 52,6 ± 2,6 | 55,6 ± 4,5 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| СОС ₂₅₋₇₅ , % должного | 59,9 ± 1,6 | 61,3 ± 2,8 | 66,5 ± 4,3 | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| ΔОФВ _{1β} , % | 12,1 (6,0; 23,8) | 9,6 (5,1; 19,0) | 12,4 (5,0; 24,7) | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| ΔФЖЕЛ, % | -9,0 (-12,3; -5,8) | -10,0 (-16,5; -6,8) | -8,2 (-22,0; -5,4) | 0,013 | > 0,05 | > 0,05 |
| ΔОФВ ₁ , % | -15,0 (-19,0; -12,0) | -17,0 (-25; -11,75) | -17,5 (-25,0; -13,0) | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| ΔСОС ₂₅₋₇₅ , % | -26,1 (-34,0; -17,0) | -28,0 (-26,3; -18,8) | -30,2 (-43,0; -22,0) | > 0,05 | > 0,05 | > 0,05 |
| ΔОФВ _{1β ИГХВ} , % | 28,4 (20,6; 41,9) | 10,6 (8,0; 13,8) | -20,5 (-25,0; -11,3) | 0,0001 | 0,0001 | 0,0001 |

Примечание. p – значимость различий между показателями ΔОФВ_{1β} и ΔОФВ_{1β ИГХВ} (парный критерий Уилкоксона).

ДДБА в зимнее время вследствие активации нейтрофилии, что способствует потере контроля над заболеванием [10]. Следует подчеркнуть, что даже при легком течении болезни, несмотря на получаемую базисную терапию, лица с ХГДП чаще испытывают дыхательный дискомфорт и высокую потребность в использовании КДБА в холодное время года, имеют более низкие значения ОФВ₁, СОС₂₅₋₇₅ по отношению к астматикам с отсутствием реакции дыхательных путей на холодный стимул [11]. В данном исследовании в общей группе больных прослеживалась прямая связь уровня контроля над астмой, по данным АСТ, с исходными значениями ОФВ₁, СОС₂₅₋₇₅, их приростом на КДБА, а также с выраженностью реакции бронхов на пробу ИГХВ.

Как правило, одним из факторов неконтролируемого течения у этих пациентов служит вовлечение в патологический процесс дистальных бронхов вследствие персистенции воспаления, что сопровождается явлениями раннего их закрытия [11]. Для них характерна большая гетерогенность бронхиальной обструкции, связанная с появлением региональных структурно-функциональных дефектов вентиляции в нижних зонах легких, формирование «воздушных ловушек», создающих картину мозаичности нарушений

у лиц с ХГДП [12]. Кроме того, морфометрические данные компьютерной томографии, зональной денситометрии, позитронно-эмиссионной и магнитно-резонансной томографии показали сложные изменения, происходящие в трахеобронхиальном дереве в ответ на сам термический стимул, неравномерность бронхоспастической реакции с преимущественной локализацией на сегментарном уровне с разной степенью сужения просвета проводящих дыхательных путей, парадоксальным сочетанием сужения и расширения бронхов [12–15].

Не следует забывать, что даже незначительные нарушения бронхиальной проходимости, связанные с воспалительным процессом, постоянной и/или флюктуирующей обструкцией, ухудшают гемодинамику малого круга кровообращения, переводя всю кардиореспираторную систему в режим гиперфункции. Полученные нами данные свидетельствуют о высокой сосудистой лабильности у больных БА с ХГДП. Ряд медиаторов (гистамин, брадикинин, лейкотриены, тромбоцитарноактивирующий фактор, простагландин Е₂, аденозин, окись азота и т.д.), играющих основную роль в астматическом воспалении, также способствуют расширению сосудов бронхиального дерева [2, 16], что, в свою очередь, способ-

но изменять эффективность КДБА после бронхопровокационной пробы.

Интенсивное высушивание слизистой оболочки дыхательных путей холодным воздухом приводит к гиперосмолярности респираторного эпителия, способной усиливать нарушения в мембранно-рецепторном комплексе клеток-мишеней с выбросом биологически активных веществ, тем самым увеличивая бронхиальное воспаление. Происходящее вследствие холодового воздействия повреждение эпителиального слоя стимулирует ирритантные рецепторы блуждающего нерва и рецепторы гладкой мускулатуры бронхов, находящиеся в подэпителиальном слое, повышая их активность [2]. Кроме того, экспериментальным путем показано, что гиперосмолярность нижних дыхательных путей также вызывает расширение бронхиальных сосудов посредством холинергической и адренергической регуляции [17, 18]. Вполне допустимо, что в данной ситуации эффективность КДБА у части больных с ХГДП может быть недостаточной в преодолении бронхоспастической реакции, вплоть до парадоксального сужения бронхов после введения препарата вследствие превалирования холинергических механизмов, присутствующей региональной неравномерности и асимметрии бронхоконстрикторного ответа [1, 12, 14, 15]. В данной ситуации немаловажное значение имеет существующая дисфункция адренергического звена: повышение активности α -адренорецепторной чувствительности и снижение активности β -адренорецепторной чувствительности, поскольку у больных БА с ХГДП отмечается сниженный эффект терапии ИГКС/ДДБА, связанный с недостаточностью (частичной блокадой) клеточной β_2 -адренорецепции в сочетании с угнетением активности гипофизарно-надпочечниковой системы [19, 20]. Так, у больных БА с ХГДП регистрируется снижение концентрации цАМФ в лимфоцитах периферической крови исходно и после ИГХВ по сравнению с астматиками, не реагирующими на холодовую пробу [19, 20]. Доказано, что носительство гено типа Arg16Arg у астматиков ассоциировано с трехкратным увеличением риска формирования ХГДП и при действии холодового триггера может служить дополнительным неблагоприятным фактором потери контроля над заболеванием [21–23].

Кроме того, существующие у больных БА с ХГДП нарушения в регуляции афферентных нервов дыхательных путей приводят к хроническому нейрогенному воспалению [24]. Реализация холодового бронхоспазма опосредуется термосенсорными катионными каналами с транзиторным

рецепторным потенциалом TRPM8 [25], сигнал от которых проводится по ветвям блуждающего нерва, из которых 75 % составляют немиелинизированные ноцицептивные С-волокна легких. TRPM8 экспрессируются как нейрональными клетками, так и клетками дыхательных путей: бронхиальным эпителием, эндотелием, гладкомышечными клетками, немиелинизированными ноцицептивными С-волоконками легких [26]. Следует подчеркнуть, что TRPM8 обнаружены не только в нижних отделах респираторного тракта, но и в нейронах тройничного, блуждающего нервов, иннервирующих носовую полость [27, 28], где они способны опосредовать секрецию многих воспалительных интерлейкинов и муцина MUC5AC [29–31]. Доказано, что подавление гена *TRPM8* ослабляет индуцированное холодом воспаление, уменьшает дисбаланс Th1/Th2 и оказывает положительное влияние на ремоделирование дыхательных путей [27].

Все вышеуказанные факторы могут представлять собой фармакологический барьер, который должен быть преодолен короткодействующим β_2 -адреномиметиком. Не следует забывать об индивидуальной гетерогенности тонуса дыхательных путей, более значимой у больных БА с ХГДП, связанной с патофизиологическими особенностями течения болезни и присутствующей у этих больных меньшей эффективностью базисной противовоспалительной терапии ИГКС/ДДБА [10, 11, 32, 33]. Показано, что больные с продолжающимся вялотекущим воспалением имеют более значимые дефекты вентиляции, которые сохраняются после введения бронходилататора, относительно лиц с адекватным контролем воспаления [1, 11, 34].

Проведенное исследование имеет ряд ограничений, связанных с оценкой доставки КДБА через дозированный ингалятор. Фактически мы не могли учесть точное количество введенного активного вещества после ИГХВ, а также оценить распределение и осаждение аэрозоля препарата в дыхательных путях и учесть структурные особенности текущей бронхоспастической реакции. Это требует дополнительных исследований.

Заключение

Существует дифференцированный ответ дыхательных путей на β_2 -адреномиметик короткого действия после острой холодовой бронхопровокации. Полученные результаты могут служить важным инструментом фенотипирования больных БА с ХГДП с целью эффективной медикаментозной коррекции холодового бронхоспазма.

Список литературы / References

1. Geier E.T., Theilmann R.J., Prisk G.K., Sá R.C. Regional airflow obstruction after bronchoconstriction and subsequent bronchodilation in subjects without pulmonary disease. *J. Appl. Physiol.* 2019;127(1):31–39. doi: 10.1152/jappphysiol.00912.2018
2. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011. 204 с.
Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka, 2011. 204 p. [In Russian].
3. Anderson S.D. Indirect challenge tests: Airway hyperresponsiveness in asthma: its measurement and clinical significance. *Chest.* 2010;138(2):25–30. doi: 10.1378/chest.10-0116
4. Pellegrino R., Viegi G., Brusasco V., Crapo R.O., Burgos F., Casaburi R., Coates A., van der Grinten C.P.M., Gustafsson P., Hankinson J., ... Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur. Respir. J.* 2005;26(5):948–968. doi: 10.1183/09031936.05.00035205
5. Sylvester K.P., Clayton N., Cliff I., Hepple M., Kendrick A., Kirkby J., Miller M., Moore A., Rafferty G.F., O'Reilly L., ... Butterfield K. ARTP statement on pulmonary function testing 2020. *BMJ Open Respir. Res.* 2020;7(1):e000575. doi: 10.1136/bmjresp-2020-000575
6. Sterk P.J., Fabbri L.M., Quanjer Ph.H., Cockcroft D.W., O'Byrne P.M., Anderson S.D., Juniper E.F., Malo J.L. Airway responsiveness : standardized challenge testing with pharmacological, physical and sensitizing stimuli in adults. *Eur. Respir. J.* 1993;6(16):53–83.
7. Ульянычев Н.В. Системность научных исследований в медицине. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014. 140 с.
Ul'yanychev N.V. Systematic research in medicine. Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2014. 140 p. [In Russian].
8. Johannessen A., Lehmann S., Omenaas E.R., Eide G.E., Bakke P.S., Gulsvik A. Post-bronchodilator spirometry reference values in adults and implications for disease management. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006;173(12):1316–1325. doi: 10.1164/rccm.200601-023OC
9. Перельман Ю.М., Наумов Д.Е., Приходько А.Г., Колосов В.П. Механизмы и проявления осмотической гиперреактивности дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2016. 240 с.
Perelman J.M., Naumov D.E., Prikhodko A.G., Kolosov V.P. Mechanisms and manifestations of osmotic airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka, 2016. 240 p. [In Russian].
10. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Ульянычев Н.В. Профиль воспаления бронхов и особенности течения легкой бронхиальной астмы. *Бюл. физиол. и патол. дыхания.* 2018;(70):8–14. doi: 10.12737/article_5c1261aedeb84.53569846
11. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Н.Л., Афанасьева Е.Ю., Кочегарова Е.Ю., Ошур Л.Ю., Перельман Ю.М. Возможности достижения контроля бронхиальной астмы при базисной терапии экстрамелкодисперсным беклометазоном/формотеролом: открытое наблюдательное проспективное исследование. *Фарматека.* 2020;27(10):80–87. doi: 10.18565/pharmateca.2020.10.80-87
12. Ильин А.В., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Леншин А.В. Взаимосвязь проходимости и реактивности мелких бронхов с гиперинфляцией легких у больных бронхиальной астмой с холодной гиперреактивностью дыхательных путей. *Дальневост. мед. ж.* 2014;(3):18–22.
Il'in A.V., Perelman J.M., Prikhodko A.G., Lenshin A.V. Interrelation of potency and reactivity of small bronchi with lung hyperinflation in patients with bronchial asthma and cold airway hyperresponsiveness. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal = Far East Medical Journal.* 2014;(3):18–22. [In Russian].
13. Kotaru C., Coreno A., Skowronski M., Muswick G., Gilkeson R.C., McFadden E.R. Jr. Morphometric changes after thermal and methacholine bronchoprovocations. *J. Appl. Physiol.* 2005;98(3):1028–1036. doi: 10.1152/jappphysiol.01186.2003
14. Winkler T., Venegas J.G. Complex airway behavior and paradoxical responses to bronchoprovocation. *J. Appl. Physiol.* 2007;103(2):655–663. doi:10.1152/jappphysiol.00041.2007
15. Winkler T., Venegas J.G., Harris R.S. Mathematical modeling of ventilation defects in asthma. *Drug Discovery Today: Disease Models.* 2015;15:3–8. doi:10.1016/j.ddmod.2014.02.008
16. Paredi P., Kharitonov S.A., Barnes P.J. Correlation of exhaled breath temperature with bronchial blood flow in asthma. *Respir. Res.* 2005;6(1):15. doi: 10.1186/1465-9921-6-15
17. Zimmerman M.P., Pisarri T.E. Bronchial vasodilation evoked by increased lower airway osmolarity in dogs. *J. Appl. Physiol.* 2000;88(2):425–432. doi: 10.1152/jappl.2000.88.2.425
18. Pisarri T.E., Giesbrecht G.G. Reflex tracheal smooth muscle contraction and bronchial vasodilation evoked by airway cooling in dogs. *J. Appl.*

- Physiol.* 1997;82(5):1566–1572. doi: 10.1152/jap-physiol.1997.82.5.1566
19. Пирогов А.Б., Наумов Д.Е., Ушакова Е.В. Роль показателей концентрации циклического аденозинмонофосфата и кортизола плазмы крови в прогнозировании вероятности развития холодовой бронхоконстрикции у больных бронхиальной астмой. *Бюл. физиол. и патол. дыхания.* 2012;(46):25–29.
- Pirogov A.B., Naumov D.E., Ushakova E.V. Predictive role of cyclic adenosinemonophosphate and plasma cortisol in the development of cold air induced bronchoconstriction in asthmatics *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration.* 2012;(46):25–29. [In Russian].
20. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М. Взаимосвязь ИФН- γ , ИЛ-4, гипофизарно-тиреоидной и гипофизарно-адренкортикальной систем при холодовой гиперреактивности дыхательных путей у пациентов с бронхиальной астмой. *Иммунология.* 2021;42(5):480–489. doi: 10.33029.0206-4952-2021-42-5-480-489
- Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Perelman J.M. Interrelationship of IFN- γ , IL-4, pituitary-thyroid and pituitary-adrenocortical systems in cold airway hyperresponsiveness in patients with asthma. *Immunologiya.* 2021;42(5):480–489. [In Russian]. doi: 10.33029.0206-4952-2021-42-5-480-489
21. Naumov D.E., Perelman J.M., Kolosov V.P., Maksimov V.N., Voevoda M.I., Zhou X., Li Q. Influence of ADRB2 gene polymorphism on cold air hyperresponsiveness and asthma control depending on inhaled glucocorticoids use. *Eur. Respir. J.* 2012;40(56):481.
22. Naumov D.E., Perelman J.M., Maksimov V.N., Kolosov V.P., Zhou X.D., Li Q. Effect of ADRB2 polymorphism on the airway response to cold air in asthmatics. *Eur. Respir. J.* 2011;38(Suppl. 55):440.
23. Naumov D.E., Perelman J.M., Maksimov V.N., Kolosov V.P., Voevoda M.I., Zhou X.D., Li Q. Role of β_2 adrenoreceptor gene polymorphism in the formation of cold hyperreactivity of the airways in asthmatics. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012;154(1):73–76 doi: 10.1007/s10517-012-1878-2
24. Kytikova O.Y., Novgorodtseva T.P., Antonyuk M.V., Gvozdenko T.A. The role of regulatory neuropeptides and neurotrophic factors in asthma pathophysiology. *Russ. Open Med. J. Ther.* 2019;8(4):402. doi: 10.15275/rusomj.2019.0402
25. de Logu F., Patacchini R., Fontana G., Gepetti P. TRP functions in the broncho-pulmonary system. *Semin. Immunopathol.* 2016;38(3):321–329. doi: 10.1007/s00281-016-0557-1
26. Kytikova O.Y., Novgorodtseva T.P., Denisenko Y.K., Gvozdenko T.A., Naumov D.E., Perelman J.M. Thermosensory transient receptor potential ion channels and asthma. *Biomedicines.* 2021;9(7):816. doi: 10.3390/biomedicines9070816
27. Plevkova J., Kollarik M., Poliacsek I., Brozmanova M., Surdenikova L., Tatar M., Mori N., Canning B.J. The role of trigeminal nasal TRPM8-expressing afferent neurons in the antitussive effects of menthol. *J. Appl. Physiol.* 2013;115(2):268–274. doi: 10.1152/jap-physiol.01144.2012
28. Xing H., Ling J.X., Chen M., Johnson R.D., Tominaga M., Wang C.Y., Gu J. TRPM8 mechanism of autonomic nerve response to cold in respiratory airway. *Mol. Pain.* 2008;(4):22. doi: 10.1186/1744-8069-4-22
29. Liu H., Liu Q., Hua L., Pan J. Inhibition of transient receptor potential melastatin 8 alleviates airway inflammation and remodeling in a murine model of asthma with cold air stimulus. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)* 2018;50(5):499–506. doi: 10.1093/abbs/gmy033
30. Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Килимиченко К.Ф., Афанасьева Е.Ю., Шелудько Е.Г., Колосов В.П. Особенности экспрессии рецептора TRPM8 в респираторном тракте больных бронхиальной астмой. *Бюл. физиол. и патол. дыхания.* 2018;(69):19–24 doi: 10.12737/article_5b96073c5711b1.83866044
- Naumov D.E., Gassan D.A., Kilimichenko K.F., Afanas'eva E.Yu., Sheludko E.G., Kolosov V.P. Peculiarities of TRPM8 receptor expression in the respiratory tract of asthma patients. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration.* 2018;(69):19–24 [In Russian]. doi: 10.12737/article_5b96073c5711b1.83866044
31. Наумов Д.Е., Котова О.О., Гассан Д.А., Афанасьева Е.Ю., Шелудько Е.Г. Взаимосвязь экспрессии гена катионных каналов TRPM8 с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей у больных бронхиальной астмой. *Бюл. физиол. и патол. дыхания.* 2019;(72):33–38 doi: 10.12737/article_5d09d6a0d75552.76525437
- Naumov D.E., Kotova O.O., Gassan D.A., Afanas'eva E.Yu., Sheludko E.G. Correlation of cation channel TRPM8 gene expression with cold-induced airway hyperresponsiveness in asthma patients. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of physiology and pathology of respiration.* 2019;(72):33–38 [In Russian]. doi: 10.12737/article_5d09d6a0d75552.76525437
32. Brown R.H., Toghiani A. Measurement of intraindividual airway tone heterogeneity and its importance in asthma. *J. Appl. Physiol.* 2016;121(1):223–232. doi: 10.1152/jap-physiol.00545.2015
33. Svenningsen S.L., Eddy R., Capaldi D.P., Kjarsgaard M., Radford K., Parraga G., Nair P. Effect of anti-Th2 therapy on MRI ventilation heterogeneity in prednisone-dependent asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2018;197:A6393.
34. Svenningsen S., Eddy R.L., Lim H., Nair P., Parraga G. Inflammatory and non-inflammatory contributions to ventilation heterogeneity in severe poorly-controlled asthmatics. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017;195:A2665.

Сведения об авторах:

Анна Григорьевна Приходько, д.м.н., ORCID: 0000-0003-2847-7380, e-mail: prih-anya@ya.ru
Юлий Михайлович Перельман, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-9411-7474,
e-mail: jperelman@mail.ru

Information about the authors:

Anna G. Prihodko, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2847-7380, e-mail: prih-anya@ya.ru
Juliy M. Perelman, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0002-9411-7474,
e-mail: jperelman@mail.ru

Поступила в редакцию 25.05.2022

Принята к публикации 07.09.2022

Received 25.05.2022

Accepted 07.09.2022

Подготовка верхних отделов пищеварительного тракта при кровотечениях

А.Я. Ильканич¹, В.В. Дарвин¹, М.Г. Рыжиков², А.В. Оганян²

¹ Сургутский государственный университет

628412, г. Сургут, ул. Ленина, 1

² Нижневартовская окружная клиническая больница

628412, г. Нижневартовск, ул. Ленина, 18

Резюме

Эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) является главным способом диагностики кровотечений из верхних отделов ЖКТ. Диагностическая точность исследования зависит от подготовки. **Цель исследования** – оценить подготовку верхних отделов пищеварительного тракта при эзофагогастродуоденальных кровотечениях. **Материал и методы.** Проведен ретроспективный анализ 2570 историй болезни. В основной группе (1299 пациентов) выполнялось промывание желудка через назогастральный зонд, в контрольной группе (1271 пациент) подготовка к первичной ЭГДС не проводилась. Выполнено сравнение количества выполненных ЭГДС и выявление источника кровотечения в контрольной и основной группах, а также периода исследования до момента определения источника кровотечения. **Результаты.** Проведение ЭГДС без подготовки верхних отделов ЖКТ при кровотечениях и установление диагноза возможно у 85,6 % пациентов. Подготовка верхних отделов ЖКТ к проведению ЭГДС удлиняет период исследования на 30–60 минут, но позволяет установить диагноз в 93,7 % случаев, что на 8,1 % больше, чем без подготовки.

Ключевые слова: промывание желудка, эзофагогастродуоденоскопия, эндоскопический гемостаз, гастродуоденальное кровотечение.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Рыжиков М.Г., e-mail: orcchief@yandex.ru

Для цитирования: Ильканич А.Я., Дарвин В.В., Рыжиков М.Г., Оганян А.В. Подготовка верхних отделов пищеварительного тракта при кровотечениях. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2022;42(5):93–98. doi: 10.18699/SSMJ20220512

Preparing the upper gastrointestinal tract for an esophagogastroduodenoscopy to identify the source of acute bleeding

A.Ya. Ilkanich¹, V.V. Darwin¹, M.G. Ryzhikov², A.V. Oganian²

¹ Surgut State University

628412, Surgut, Lenin str., 1

² Nizhnevartovsk District Clinical Hospital

628412, Nizhnevartovsk, Lenin str., 18

Abstract

Esophagogastroduodenoscopy (EGDS) is the main way to diagnose bleeding from the upper gastrointestinal tract. Diagnostic accuracy of the study depends on the preparation. Aim of the study was to evaluate the preparation of the upper parts of the digestive tract in case of esophagogastroduodenal bleeding. **Material and methods.** The retrospective analysis of 2570 case histories was carried out. Gastric lavage through nasogastric tube was carried out in the main

group (1299 patients). Preparation for the primary EGDS was not carried out in the control group (1271 patients). A comparison of the number of EGDS performed and the detection of the bleeding source in the control and the main groups as well as the period of investigation up to the detection of the bleeding source were performed. **Results.** EGDS without preparation of the upper gastrointestinal tract in case of acute bleeding and determination of the diagnosis is possible in 85,6 % of patients. Preparation of the upper gastrointestinal tract for EGDS prolongs the study period by 30–60 minutes, but allows establishing the diagnosis in 93.7 % of cases that is by 8.1 % more than without preparation.

Key words: gastric lavage, esophagogastroduodenoscopy, endoscopic hemostasis, gastroduodenal bleeding.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Ryzhikov M.G., e-mail: orcchief@yandex.ru

Citation: Ilkanich A. Ya., Darvin V.V., Ryzhikov M.G., Oganian A.V. Preparing the upper gastrointestinal tract for an esophagogastroduodenoscopy to identify the source of acute bleeding. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2022;42(5):93–98. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20220512

Введение

Острые кровотечения из верхних отделов ЖКТ остаются сложной проблемой неотложной хирургии с частотой распространенности до 109 случаев на 100 000 городского населения в год. В странах Европы и Северной Америки она составляет 78 случаев на 100 000 населения, являясь причиной 7,7 % экстренных госпитализаций в год [1–4], 4,2 % случаев госпитальной смертности в Российской Федерации, от 2,1 до 2,5 % в США и от 3,4 до 14 % в странах Европы [5–9].

Эзофагогастродуоденоскопия (ЭГДС) на сегодняшний день является главным способом диагностики и определения хирургической тактики лечения при кровотечениях. Диагностическая точность исследования зависит от подготовки и поведения пациента, используемого оборудования, квалификации эндоскописта, качества подготовки к эндоскопическому исследованию и составляет 81–98 % [2, 10–13]. Однако поиск источника кровотечения у данной категории больных часто затруднен большим количеством содержимого и крови в просвете верхних отделов ЖКТ, что не позволяет выявить источник кровотечения в 6 % случаев [14]. Неинформативная первичная ЭГДС значительно удлинит диагностический процесс и отодвигает время, когда пациент начнет получать специализированное лечение.

Исходя из этого сохраняется актуальность оценки мероприятий, направленных на улучшение визуализации источника кровотечения при первичном эндоскопическом исследовании. Поскольку эндоскопическая диагностика играет ведущую роль в достижении благоприятного исхода при эпизоде острого кровотечения из верхних отделов ЖКТ, необходимо уделять повышенное внимание вопросам ее своевременности и информативности.

Цель исследования – оценить подготовку верхних отделов пищеварительного тракта при эзофагогастродуоденальных кровотечениях.

Материал и методы

Проведено ретроспективное сплошное когортное исследование 2570 случаев острого кровотечения из верхних отделов ЖКТ. Критерии включения: признаки остро развившегося эзофагогастродуоденального кровотечения у лиц обоего пола старше 18 лет, поступивших в приемное отделение Нижневартовской окружной клинической больницы в 2015–2020 гг. Пациенты были разделены на две группы. 1271 (49,5 %) пациент, которым не проводилась подготовка к первичной ЭГДС в виде промывания желудка, составили контрольную группу. В основную группу были включены 1299 (50,5 %) больных, которым для подготовки к исследованию выполнялось промывание желудка через назогастральный зонд.

В отечественной практике отсутствуют рекомендации по лечению острых кровотечений из верхних отделов ЖКТ в зависимости от этиологии кровотечения. Объем диагностики и лечения пациентов с признаками острого кровотечения из верхних отделов ЖКТ проводится согласно клиническим рекомендациям Российского общества хирургов по лечению больных с язвенными гастродуоденальными кровотечениями [15]. Данной категории больных рекомендуется проведение неотложного эндоскопического исследования в течение двух часов с момента поступления в приемное отделение.

В приемном отделении каждый пациент заполнял информированное добровольное согласие на медицинское вмешательство, а непосредственно перед обследованием – на эндоскопическое исследование и оперативное лечение. При невозможности оформления согласия из-за тяжелого состояния пациента решение о проведении вмешательств принимал консилиум из трех врачей. ЭГДС выполнялась видеогастроскопами Pentax EG29-i10 (Pentax, Япония) с терапевтическими инструментальными каналами 3,2 мм на видео-

процессорах ЕРК-і7010 и ЕРК-і5000 (Pentax) с инсуффляцией CO₂.

Патологические находки при ЭГДС описывались в соответствии с минимальной стандартной терминологией гастроинтестинальной эндоскопии версии 3.0, принятой Всемирной организацией эндоскопии пищеварительной системы (Organisation Mondiale d'Endoscopie Digestive – OMEД) [16–19]. Кровотечения язвенного характера описывались по классификации J.A. Forrest [20].

Подготовка пациента к проведению исследования включала осмотр врачом-хирургом в условиях приемного отделения, оценку уровня сознания, измерение пульса, частоты сердечных сокращений и дыхательных движений, забор крови для проведения лабораторных исследований, в том числе общего и биохимического анализа крови, группы крови и резус-фактора. Если состояние больного было тяжелым, то все мероприятия проводились в условиях протившоковой палаты, где до выполнения ЭГДС пациенту оказывались реанимационные мероприятия и интенсивная терапия для стабилизации состояния. По готовности результатов лабораторных исследований и стабилизации состояния в контрольной группе проводилась первичная ЭГДС без дополнительной подготовки, а в основной группе – промывание желудка.

Промывание желудка выполнялось после предварительной беседы с пациентом, во время которой ему разъяснялись цель, ход процедуры, возможные осложнения. Промывание желудка проводилось в помещении, оборудованном согласно стандартам нестерильной манипуляционной, в непосредственной близости от уборной. Пациент укладывался на кушетку в положение на правом боку, к головному концу кушетки устанавливалась емкость для сбора воды. Если у больного имелись съемные зубные протезы, их снимали, упаковывали в герметичную упаковку с описанием и хранили до окончания диагностического этапа. Оператор экипировался в фартук и перчатки, распаковывал назогастральный зонд 30 Fr, определял расстояние, на которое будет введен зонд, путем измерения расстояния от кончика носа до мочки уха и далее до мечевидного отростка. Для облегчения проведения зонда в желудок его дистальный конец обрабатывался смесью медицинского геля средней вязкости и 10%-го раствора лидокаина. Для профилактики введения зонда в бронхолегочную систему выполнялась «воздушная проба» (с помощью шприца Жане в зонд вводилось 100–150 мл воздуха с одновременной аускультацией передней брюшной стенки в проекции желудка: при верном расположе-

нии зонда выслушивались «булькающие» звуки). Особенно важно было тщательное выполнение проверки положения зонда у лиц со спутанным или отсутствующим сознанием. Шприцем Жане в желудок вводили 500 мл воды. Содержимое поступало из желудка через зонд самостоятельно или с помощью аспирации тем же шприцем. Для большего поступления содержимого зонд периодически смещали в оральном и каудальном направлении. Общий объем вводимой жидкости колебался от 5 до 10 л. Эффективность зондового промывания желудка оценивалось по исчезновению в аспирате частиц пищи и сгустков крови. Если после введения 5 л жидкости в аспирате продолжала присутствовать алая кровь, промывание прекращалось, а пациент транспортировался на экстренную ЭГДС. По окончании промывания зонд извлекался сквозь салфетку, обработанную дезинфицирующим раствором, и вместе со шприцем Жане утилизировался в емкость для отходов класса Б. Среднее время, затраченное на процедуру, составляло 30–60 мин в зависимости от комплаентности пациента.

Проводилось сравнение количества выполненных ЭГДС и выявления источника кровотечения в контрольной и основной группах, а также периода исследования до момента определения источника кровотечения. Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений (*n*) и относительных частот (%). Для проверки однородности выборок были использованы критерии Колмогорова – Смирнова и критерий χ^2 . Для оценки различий номинальных данных применяли точный критерий Фишера и критерий χ^2 . Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (*p*) принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

В анализируемых группах значимых расхождений в распределении выборок по возрасту и полу не выявлено (табл. 1). По этиологии наи-

Таблица 1. Возрастной и половой состав анализируемых групп, *n* (%)

Table 1. Age and sex composition of the analyzed groups, *n* (%)

| Показатель | Контрольная группа (<i>n</i> = 1271) | Основная группа (<i>n</i> = 1299) | <i>p</i> |
|-------------------|--|---------------------------------------|----------|
| Возраст | 52,4 ± 15,6 | 53 ± 14,3 | 0,538 |
| Количество мужчин | 877 (69 %) | 939 (72,3 %) | 0,306 |
| Количество женщин | 394 (31 %) | 360 (27,7 %) | |

Таблица 2. Этиология кровотечений в анализируемых группах

Table 2. Etiology of bleeding in the analyzed groups

| Этиология | Контрольная группа (n = 1271) | Основная группа (n = 1299) | <i>p</i> |
|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------|
| Язвенные кровотечения | 591 (46,5 %) | 633 (48,7 %) | 0,258 |
| Эрозивный гастрит/дуоденит | 198 (15,6 %) | 210 (16,1 %) | 0,683 |
| Эрозивный эзофагит | 170 (13,4 %) | 150 (11,5 %) | 0,161 |
| Синдром Маллори – Вейсса | 117 (9,2 %) | 108 (8,3 %) | 0,424 |
| Варикозное расширение вен пищевода | 120 (9,4 %) | 99 (7,6 %) | 0,098 |
| Неоплазии | 69 (5,4 %) | 87 (6,7 %) | 0,178 |
| Ангиодисплазии | 6 (0,5 %) | 12 (1,1 %) | 0,170 |

более часто встречались язвенные кровотечения, значимых расхождений также не обнаружено (табл. 2).

Большое количество содержимого в желудке затрудняет диагностику и поиск источника кровотечения при первичном исследовании. В связи с этим можно выделить три варианта подготовки к проведению ЭГДС. Первый вариант – зондовое промывание желудка до ЭГДС, широко используемое для улучшения визуализации источника кровотечения. Существуют рекомендации, указывающие на то, что кровавое содержимое в назогастральном аспирате является показанием для срочной эндоскопии [21, 22]. S.B. Laursen et al. в рамках датского национального консенсуса 2014 г. указывает, что чистый назогастральный аспират не исключает кровотечение из верхних отделов ЖКТ и не является аргументом для отсрочки эндоскопического исследования [22]. В то же время проведены исследования, в которых назогастральная интубация не повлияла на результаты лечения [23, 24]. Так, в рандомизированном контролируемом исследовании она не изменила прогностические способности врача, не улучшила результаты лечения пациентов и имела осложнения [24].

Второй вариант – проведение ЭГДС без промывания желудка. В некоторых рекомендациях отсутствуют указания по поводу необходимости промывания желудка перед эндоскопией [25, 26]. Ряд авторов предлагает использовать данный метод у определенных групп пациентов для диагностических и прогностических целей [27, 28]. Так, E.J. Gong et al. предлагают использовать промывание желудка у пациентов с суммой баллов 11 и менее по шкале Glasgow – Blatchford, в то время как у больных с суммой баллов более 11 существенной разницы в результатах лечения не выявлено [29].

Третий вариант – выполнение первичной ЭГДС без промывания желудка, и если осмотр

невозможен из-за содержимого в желудке, то проводится его промывание, затем повторная ЭГДС.

S. Karakonstantis et al. проанализировали имеющиеся публикации и заключили, что промывание желудка, предшествующее эндоскопическому исследованию, улучшает визуализацию без значительного улучшения результатов лечения [30].

В нашем исследовании при анализе данных контрольной группы установлено, что при первичном ЭГДС выявить источник кровотечения удалось в 1089 случаях (85,7 %). Неудачи диагностической ЭГДС были связаны с ограничением визуализации пищевыми массами и сгустками крови, не позволившими обнаружить источник кровотечения. В 182 случаях (14,3 %) потребовались промывание желудка и дополнительная диагностическая эндоскопия: 165 пациентам (13 %) было выполнено две ЭГДС, 17 (1,3 %) – три. В основной группе источник кровотечения при первичной ЭГДС был визуализирован в 1217 случаях (93,7 %). Большое количество содержимого в желудке не позволило выполнить исследование у 82 пациентов (6,3 %), им повторно было выполнено промывание желудка и ЭГДС.

Таким образом, в результате внедрения рутинного зондового промывания желудка перед первичной ЭГДС информативность первичного эндоскопического исследования у пациентов с признаками ОКВ ЖКТ выросла на 8,1 % ($p = 0,000$). Его применение позволило снизить нагрузку на эндоскопическое и приемное отделение, а также сократить период диагностики, позволяя быстрее приступить к лечению пациента. Однако у зондового промывания желудка в качестве подготовки к первичной ЭГДС имеется ряд недостатков. Промывание желудка – это продолжительная процедура, занимающая приблизительно 30–60 минут, что удлиняет период ожидания пациентом получения неотложной эндоскопической помощи.

Заключение

Проведение ЭГДС без подготовки верхних отделов ЖКТ при кровотечениях и установление диагноза возможно у 85,6 % пациентов. Подготовка удлиняет период исследования на 30–60 минут, но позволяет установить диагноз в 93,7 % случаев.

Список литературы / References

1. Чередников Е.Ф. Диагностика и лечение больных с гастродуоденальными кровотечениями в специализированном центре: методические рекомендации. Воронеж, 2014. 35 с.

Cherednikov E.F. Diagnosis and treatment of patients with gastroduodenal bleeding in a specialized center: guidelines. Voronezh, 2014. 35 p. [In Russian].

2. Валеев М.В., Тимербулатов Ш.В. Гастродуоденальные кровотечения. Анализ результатов лечения в условиях районной больницы. *Вестн. Нац. мед.-хирург. центра им. Н.И. Пирогова*. 2020;15(1):39–42, doi: 0.25881/BPNMSC.2020.61.63.007

Valeev M.V., Timerbulatov Sh.V. Gastroduodenal bleedings. Upper gastrointestinal bleeding. Analysis of the results of treatment in a district hospital. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tsentra imeni Nikolaya Ivanovicha Pirogova = Bulletin of Pirogov National Medical and Surgical Center*. 2020;15(1):39–42. [In Russian]. doi: 10.25881/BPNMSC.2020.61.63.007

3. Barkun A.N., Almadi M., Kuipers E.J., Laine L., Sung J., Tse F., Leontiadis G.I., Abraham N.S., Calvet X., Chan F.K.L., ... Bardou M. Management of nonvariceal upper gastrointestinal bleeding: guideline recommendations from the International Consensus Group. *Ann. Intern. Med.* 2019;171(11):805–822. doi: 10.7326/M19-1795

4. Stanley A.J., Laine L. Management of acute upper gastrointestinal bleeding. *Bmj.* 2019;364 :l536. doi: 10.1136/bmj.l536

5. Усов В.В., Обыденникова Т.Н., Тыртышная О.В., Шрамко Г.И., Шмыков А.В. Опыт лечения больных с гастродуоденальными кровотечениями. *Вопросы науки и образования*. 2019;(4):160–164. doi: 10.24411/2542-081X-2019-10402

Usov V.V., Obydennikova T.N., Tyrtysnaja O.V., Shramko G.I., Shmykov A.V. Patients with gastroduodenal bleeding treatment experience. *Voprosy nauki i obrazovaniya = Science and Education Issues*. 2019;(4):160–164. [In Russian]. doi: 10.24411/2542-081X-2019-10402

6. Лаврешин П.М., Бруснев Л.А., Горбунков В.Я., Волостников Е.В., Эбзеев А.Х., Ефимов А.В., Жерносенко А.О. Опыт лечения гастродуоденальных кровотечений язвенной этиологии в условиях городской больницы. *Вестн. Нац. мед.-хирург. центра им. Н.И. Пирогова*. 2019;14(2):42–44.

Lavreshin P.M., Brusnev L.A., Gorbunkov V.Ya., Volostnikov E.V., Jebzeev A.H., Efimov A.V., Zhernosenko A.O. Experience in the treatment of gastroduodenal bleeding ulcer etiology in a city hospital. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tsentra imeni Nikolaya Ivanovicha Pirogova = Bulletin of Pirogov National Medical and Surgical Center*. 2019;14(2):42–44. [In Russian].

7. Gralnek I.M., Dumonceau J.M., Kuipers E.J., Lanas A., Sanders D.S., Kurien M., Rotondano G., Hucl T., Dinis-Ribeiro M., Marmo R., ... Hassan C. Diagnosis and management of nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy*. 2015;47(10):a1–46. doi: 10.1055/s-0034-1393172

8. Kim J.J., Sheibani S., Park S., Buxbaum J., Laine L. Causes of bleeding and outcomes in patients hospitalized with upper gastrointestinal bleeding. *J. Clin. Gastroenterol.* 2014;48(2):113–118. doi: 10.1097/MCG.0b013e318297fb40

9. Nelms D.W., Pelaez C.A. The acute upper gastrointestinal bleed. *Surg. Clin. North Am.* 2018;98(5):1047–1057. doi: 10.1016/j.suc.2018.05.004

10. Hearnshaw S.A., Logan R.F., Lowe D., Travis S.P., Murphy M.F., Palmer K.R. Acute upper gastrointestinal bleeding in the UK: patient characteristics, diagnoses and outcomes in the 2007 UK audit. *Gut*. 2011;60(10):1327–1335. doi: 10.1136/gut.2010.228437

11. Holster I.L., Kuipers E.J. Management of acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding: current policies and future perspectives. *World J. Gastroenterol.* 2012;18(11):1202–1207. doi: 10.3748/wjg.v18.i11.1202

12. Khamaysi I., Gralnek I.M. Nonvariceal upper gastrointestinal bleeding: timing of endoscopy and ways to improve endoscopic visualization. *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* 2015;25(3):443–448. doi: 10.1016/j.giec.2015.03.002

13. Yip B.C.H., Sajjad H.S., Wang J.X., Anastassiades C.P. Endoscopic treatment modalities and outcomes in nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *World J. Gastrointest. Endosc.* 2020;12(2):72–82. doi: 10.4253/wjge.v12.i2.72

14. Королев М.П. Гастродуоденальные кровотечения как проблема urgentной хирургии. *Вестн. хирургии*. 2011;170(2): 52–54.

Korolev M.P. Gastroduodenal bleeding as a problem of emergency surgery. *Vestnik khirurgii imeni Ivana Ivanovicha Grekova = Grekov's Bulletin of Surgery*. 2011;170(2):52–54. [In Russian].

15. Российское общество хирургов. Язвенные гастродуоденальные кровотечения. Клинические рекомендации. М.; Воронеж, 2014. 9 с.

Russian Society of Surgeons. Acute bleeding in peptic ulcer disease. Clinical practice guidelines. Moscow; Voronezh, 2014. 9 p. [In Russian].

16. Субботин А.М., Кузин М.Н., Ефимова Е.И., Мухин А.С. Стандартизация эндоскопической

терминологии. Оформление протокола диагностической эзофагогастродуоденоскопии и колоноскопии (на основе МСТ 3.0 гастроинтестинальной эндоскопии). Нижний Новгород: Изд-во НГМА, 2016. 105 с.

Subbotin A.M., Kuzin M.N., Efimova E.I., Muhin A.S. Standardization of endoscopic terminology. Formalization of the protocol of diagnostic esophagogastroduodenoscopy and colonoscopy (based on MST 3.0 gastrointestinal endoscopy). Nizhniy Novgorod, 2016. 112 с. [In Russian].

17. Mařatka Z. Terminology, definitions and diagnostic criteria in digestive endoscopy: OMED nomenclature of digestive endoscopy. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* 1984;103:1–74.

18. Crespi M., Delvaux M., Schaprio M., Venables C., Zwiebel F. Working Party Report by the Committee for Minimal Standards of Terminology and Documentation in Digestive Endoscopy of the European Society of Gastrointestinal Endoscopy. Minimal standard terminology for a computerized endoscopic database. Ad hoc Task Force of the Committee. *Am. J. Gastroenterol.* 1996;91(2):191–216.

19. Aabakken L., Rembacken B., LeMoine O., Kuznetsov K., Rey J.F., Rösch T., Eisen G., Cotton P., Fujino M. Minimal standard terminology for gastrointestinal endoscopy—MST 3.0. *Endoscopy.* 2009;41(8):727–728. doi: 10.1055/s-0029-1214949

20. Forrest J.A.H., Finlayson N.D.C., Shearman D.J.C. Endoscopy in gastrointestinal bleeding. *Lancet.* 1974;2(7877):394–397. doi: 10.1016/s0140-6736(74)91770-x

21. Laine L., Jensen D.M. Management of patients with ulcer bleeding. *Am. J. Gastroenterol.* 2012;107(3):345–360. doi: 10.1038/ajg.2011.480

22. Laursen S.B., Jørgensen H.S., Schaffalitzky de Muckadell O.B., Danish Society of Gastroenterology and Hepatology. National consensus on management of peptic ulcer bleeding in Denmark 2014. *Dan. Med. J.* 2014;61(11):C4969.

23. Machlab S., Garcia-Iglesias P., Martínez-Bauer E., Campo R., Calvet X., Brullet E. Diagnostic util-

ity of nasogastric tube aspiration and the ratio of blood urea nitrogen to creatinine for distinguishing upper and lower gastrointestinal tract bleeding. *Emergencias.* 2018;30(6):419–423.

24. Rockey D.C., Ahn C., de Melo S.W. Randomized pragmatic trial of nasogastric tube placement in patients with upper gastrointestinal tract bleeding. *J. Invest. Med.* 2017;65(4):759–764. doi: 10.1136/jim-2016-000375

25. Gralnek I.M., Stanley A.J., Morris A.J., Camus M., Lau J., Lanas A., Laursen S.B., Radaelli F., Papanikolaou I.S., Gonçalves T.C., ... van Hooft J.E. Endoscopic diagnosis and management of nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage (NVUGIH): European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline—Update 2021. *Endoscopy.* 2021;53(03):300–332. doi: 10.1055/a-1369-5274

26. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Acute upper gastrointestinal bleeding in over 16s: management. Clinical guideline [CG141]. 2012.

27. Fujishiro M., Iguchi M., Kakushima N., Kato M., Sakata Y., Hoteya S., Kataoka M., Shimaoka S., Yahagi N., Fujimoto K. Guidelines for endoscopic management of non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *Digestive Endoscopy.* 2016;28(4):363–378. doi: 10.1111/den.12639

28. Strate L.L., Gralnek I.M. Management of patients with acute lower gastrointestinal bleeding. *Am. J. Gastroenterol.* 2016;111(4):459–474. doi: 10.1038/ajg.2016.41

29. Gong E.J., Hsing L.-C., Seo H., Seo M., Jun B.G., Park J.K., Lee S.J., Han K.H., Kim Y.D., Jeong W.J., Cheon G.J., Kim M.J. Selected nasogastric lavage in patients with nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *BMC Gastroenterol.* 2021;21(1):113. doi: 10.1186/s12876-021-01690-z

30. Karakonstantis S., Tzagkarakis E., Kalemaki D., Lydakis C., Paspatis G. Nasogastric aspiration/lavage in patients with gastrointestinal bleeding: a review of the evidence. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2018;12(1):63–72. doi: 10.1080/17474124.2018.1398646

Сведения об авторах:

Андрей Яношевич Ильканич, д.м.н., ORCID: 0000-0003-2293-136X, e-mail: ailkanich@yandex.ru

Владимир Васильевич Дарвин, д.м.н. проф., ORCID: 0000-0002-1121-9636, e-mail: dvv@mf.surgu.ru

Михаил Григорьевич Рыжиков, ORCID: 0000-0003-2192-8396, e-mail: orcchief@yandex.ru

Армен Валерьевич Оганян, ORCID: 0000-0003-0917-9994, e-mail: niak1994@mail.ru

Information about the authors:

Andrey Ya. Ilkanich, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2293-136X, e-mail: ailkanich@yandex.ru

Vladimir V. Darvin, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-1121-9636, e-mail: dvv@mf.surgu.ru

Mikhail G. Ryzhikov, ORCID: 0000-0003-2192-8396, e-mail: orcchief@yandex.ru

Armen V. Oganian, ORCID: 0000-0003-0917-9994, e-mail: niak1994@mail.ru

Поступила в редакцию 14.04.2022

После доработки 14.07.2022

Принята к публикации 29.07.2022

Received 14.04.2022

Revision received 14.07.2022

Accepted 29.07.2022

КАРПОВ Ростислав Сергеевич (к 85-летию со дня рождения)



8 сентября 2022 г. исполнилось 85 лет Ростиславу Сергеевичу Карпову, доктору медицинских наук, профессору, академику РАН, Заслуженному деятелю науки РФ, научному руководителю НИИ кардиологии и руководителю научного направления Томского НИМЦ.

Академик РАН Р.С. Карпов – ведущий отечественный ученый-терапевт-кардиолог, получивший заслуженное признание в России и за рубежом. За его плечами достойная школа жизни, богатый опыт врачебной, научной и педагогической деятельности, мудрого руководства и наставничества – более 60 лет служения добру, передовым идеям медицинской науки и врачевания, своим пациентам, ученикам и коллегам. С именем Ростислава Сергеевича связано развитие кардиологии в Сибири и становление одного из крупнейших научно-исследовательских институтов в России.

Родился в 1937 г. в Томске в семье преподавателей Томского медицинского института. Его отец, академик АМН СССР Сергей Петрович Карпов, был выдающимся учёным, основателем Сибирской школы микробиологов и вирусологов. Мать, Мария Ивановна, работала доцентом кафедры эпидемиологии и инфекционных заболеваний. В 1960 г. Ростислав Сергеевич с отличием окончил Томский медицинский институт по специальности «лечебное дело» и остался работать в родном вузе, пройдя путь от врача-ординатора до заведующего кафедрой (1979–2018 гг.) факультетской терапии с курсом клинической фармако-

логии ГБОУ ВПО Сибирского государственного медицинского университета Минздрава России.

С 1980 г. его профессиональная деятельность неразрывно связана с НИИ кардиологии, который создавался при его непосредственном участии как Сибирский филиал Всесоюзного кардиологического научного центра АМН СССР (ныне НИИ кардиологии Томского НИМЦ). В НИИ кардиологии Ростислав Сергеевич начинал в должности заместителя директора по научной работе (1980–1985 гг.), в течение 30 лет был бессменным его директором (1985–2015 гг.), с 30 июня 2015 г. по настоящее время работает в должности научного руководителя института. Несмотря на огромную занятость на административной работе, он в течение многих лет возглавлял отделение атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца (1980-2019 гг.) и никогда не переставал заниматься клинической медициной.

Профессиональный путь Р.С. Карпова – яркий пример беззаветного служения науке и медицине, преданности избранному делу, любви к людям, искреннего почитания своего Учителя и безмерной ему благодарности. До сих пор академик Дмитрий Дмитриевич Яблоков во многом остается для Ростислава Сергеевича примером отношения к жизни, делу, людям и, прежде всего, своим пациентам; с ним он мысленно сверяет сложные и ответственные решения и поступки на своем жизненном пути.

Научные труды академика РАН Р.С. Карпова направлены на решение наиболее сложных социально-значимых проблем современной медицины, он автор более 1000 научных трудов, в том числе 38 монографий, 43 патентов на изобретения. Основные направления его научных исследований – ревматология, кардиология, клиническая фармакология, клиническая и популяционная эпидемиология. Р.С. Карповым воспитано не одно поколение врачей и ученых – под его руководством выполнено и защищено 42 докторских и 81 кандидатская диссертации.

Проблемно-ориентированные научные направления, взвешенная кадровая политика, высокие профессионализм и требовательность, широкое сотрудничество с отечественными и зарубежными коллегами позволили научной школе академика РАН Р.С. Карпова занять одно из ведущих мест среди научно-исследовательских учреждений России по проблемам кардиологии, а также завоевать непререкаемый научный авторитет среди российских и иностранных специали-

стов. Продолжая славные дела и традиции своих учителей и предшественников, он смог приумножить научный потенциал сибирской науки, о достижениях которой сегодня знают во всем мире.

Р.С. Карпов известен и как крупный организатор науки и здравоохранения. При его непосредственном участии созданы: НИИ кардиологии в Томске, Тюменский кардиоцентр – филиал Томского НИМЦ, Томский научный центр СО РАМН. Он выступил одним из инициаторов организации Томского НИМЦ. Под его руководством в Томске был открыт первый за Уралом кардиологический диспансер, впервые в России разработана модель мобильного автоматизированного консультативно-диагностического центра на базе теплохода «Кардиолог» для оказания кардиологической помощи рассредоточенно проживающему населению сибирского региона, внедрена сеть аритмологических центров в регионе Сибири и Дальнего Востока. Он является инициатором создания в Сибири специализированной кардиологической помощи детям: в НИИ кардиологии открыто первое за Уралом отделение детской кардиологии.

Ростислав Сергеевич Карпов ведет большую общественную работу. В течение многих лет (2003–2019 гг.) выполнял обязанности главного внештатного специалиста-кардиолога Сибирского федерального округа. Является членом редакционной коллегии более двадцати научных журналов, главным редактором научно-практи-

ческого рецензируемого медицинского издания «Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины». Он член Президиума правления Российского кардиологического общества, Российского медицинского общества по артериальной гипертензии, председатель Томского отделения Российского кардиологического общества, председатель диссертационного совета на базе Томского НИМЦ по специальностям «кардиология» и «лучевая диагностика» (медицинские науки).

Его профессиональная и общественная деятельность отмечена многочисленными наградами разного уровня.

Человек с широким кругозором и эрудицией, выдающимся интеллектом, активной жизненной позицией, он продолжает и сегодня трудиться на благо здоровья людей. Профессионализм, полная самоотдача в работе, доброжелательность и требовательность – этими и другими профессиональными и человеческими качествами Ростислав Сергеевич щедро делится со своими коллегами и учениками.

Дирекция и коллектив НИИ кардиологии выражают Ростиславу Сергеевичу свою искреннюю признательность, глубочайшее уважение и почтение за самоотверженный труд, талант и мастерство, за верность высокому призванию, внимание и любовь к людям.

ПАМЯТИ
ТРУФАКИНА ВАЛЕРИЯ АЛЕКСЕЕВИЧА
(07.09.1939—04.10.2022)



Президиум Сибирского отделения Российской академии наук, Объединенный ученый совет СО РАН по медицинским наукам глубоко скорбят в связи с кончиной выдающегося ученого и организатора науки, профессора, Заслуженного деятеля науки РФ, академика РАН Валерия Алексеевича Труфакина.

Большая часть жизни В.А. Труфакина была отдана служению медицинской науке и практике здравоохранения.

На протяжении многих лет Валерий Алексеевич руководил выполнением уникальных исследований мирового уровня в области изучения структурных основ иммунологических реакций и регуляции иммунологических процессов. Им создано новое научное направление по изучению анатомо-физиологической организации иммунной системы, постулирующее ведущую роль оптимального соотношения популяций иммунокомпетентных клеток, поддерживаемого комплексом процессов пролиферации дифференцировки, кооперации, миграции и апоптоза, их сбалансированности по времени и уровню и обусловленных оптимальным уровнем нейроэндокринной регуляции.

В течение 19 лет Валерий Алексеевич возглавлял Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины, а в 1991–2011 гг. являлся Председателем Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. В эти же годы был главным редактором журнала «Бюллетень СО РАМН» (с 2014 г. «Сибирский научный медицинский журнал»).

Под его руководством проведено реформирование структуры Сибирского отделения, а благодаря активной деятельности Валерия Алексеевича и его незаурядным способностям ученого и организатора Сибирское отделение всегда сохраняло высокий рейтинг в структуре Академии наук.

Деятельность Валерия Алексеевича главным образом была направлена на развитие научных исследований медико-биологического профиля в Сибири и на Дальнем Востоке, внедрение их результатов в клиническую практику с целью повышения уровня здоровья населения этих регионов, проведение кооперативных исследований, взаимодействие с администрациями регионов Сибири и Дальнего Востока.

Научные труды В.А. Труфакина известны во всем мире. Его весомый вклад в науку отмечен высокими наградами Правительства РФ.

Мы с чувством огромного уважения будем помнить Валерия Алексеевича, выдающегося ученого, человека высокой культуры и нравственности, до конца оставшегося преданным своему делу.

Мы разделяем скорбь коллег и боль родных Валерия Алексеевича.

Светлая память о Валерии Алексеевиче навсегда останется в наших сердцах.

Председатель СО РАН академик РАН,
 В.Н. Пармон
 Председатель ОУС СО РАН по медицинским наукам, академик РАН

С.В. Попов

Подписаться на журнал можно по объединенному каталогу «Пресса России»
и каталогу «Урал-Пресс», индекс 11224

Подписано в печать 26.10.2022. Выход в свет 31.10.2022. Формат 60×84/8.
Усл. печ. л. 11,86. Уч.-изд. л. 10,6. Тираж 64 экз. Заказ № 326. Цена свободная.

Адрес издателя:
Сибирское отделение РАН
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 17

Адрес типографии:
Отпечатано в Сибирском отделении РАН
630090, Новосибирск, Морской просп., 2
Тел.: (383) 330-84-66
E-mail: e.lyannaya@sb-ras.ru