Обзоры

Агейкин А.В., Усенко Д.В., Горелов А.В., Мельников В.Л., Афтаева Л.Н., Милтых И.С., Ботова В.С., Кикичева А.А., Лопатина В.А., Долгачев М.В.
Особенности течения постковидного астеновегетативного синдрома: обзор литературы 6

Афтаева Л.Н., Мельников В.Л., Арехина А.В.
Филовирусные инфекции: наука и инновации 17

Дадашев А.Ш., Милтых И.С., Сукманова Д.А., Мишин В.А., Зенин О.К., Кафаров Э.С.
Органометрические параметры селезенки у лиц разного пола, возраста и телосложения: современные данные и перспективы исследования 32

Ибишева А.Х., Шахгиреева М.Р., Хильдихароева А.Б., Успанова Л.С., Шамсадова С.А., Джабраилова Л.В.-М.
Бронхиальная астма в эпоху персонализированной медицины 41

Игнатова Ю.С., Брюханов Я.И., Печерина Т.Б., Барбараш О.Л.
Проблемы управления приверженностью у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (обзор литературы) 48

Менщикова В.Е., Карцева Т.В., Рябиченко Т.И., Обухова О.О., Тимофеева Е.П., Космичева О.А.
Реабилитация при ожирении и избыточной массе тела как составная часть патогенетической терапии 57

Силизерцева О.А., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Гутник И.Н., Астахова Т.А., Колесникова Л.И.
Окислительный стресс и экзогенно-конституциональное ожирение 69

Финогенова Ю.А., Липенгольц А.А., Скрибицкий В.А., Шпакова К.Е., Смирнова А.В., Сычева Н.Н., Григорьева Е.Ю.
Особенности биораспределения наночастиц золота *in vivo* 83

Оригинальные исследования

Медико-биологические науки

Гусев И.А., Фоменко А.В., Сорочинская О.И., Сазонова Е.Н.
Состояние нуклео-нуклеолярного аппарата кардиомиоцитов половозрелых самцов белых крыс, подвергнутых внутриутробной гипоксии и неонатальному введению неопиатных аналогов лей-энкефалина 97

Колесникова А.А., Флейшман М.Ю., Малофей Ю.Б., Толстенок И.В., Дузенко Н.В., Сальников А.А.
Сравнение эффектов трех глипролинов при пятидневном внутрибрюшинном введении 105

Косман В.М., Романенко А.Ю., Карлина М.В., Фаустова Н.М., Мазукина Е.В., Кузовлев А.Н., Гречко А.В., Черпаков Р.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г.
Оценка безопасности и токсикокинетики препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях 114

Меньщикова Е.Б., Храпова М.В., Кожин П.М., Чечушков А.В., Петрова Е.С., Серых А.Е., Ромах Л.П., Кандалинцева Н.В.
Оригинальный синтетический монофенольный антиоксидант комбинированного действия угнетает рост опухоли *in vivo* 128

Молодых О.П., Синявская А.М., Троицкий А.В., Пальчикова Н.А., Кузьминова О.И., Деулин И.Ю., Селятицкая В.Г.
Влияние окисленного декстрана на морфологию семенников крыс Вистар при остром токсическом воздействии 138

Пыхтина М.Б., Мирошниченко С.М., Карпов М.А., Абышев А.А., Мосалев К.И., Котова М.В., Беклемишев А.Б., Князев Р.А.
Ранозаживляющие свойства химерной формы GM-CSF человека на модели ожоговой травмы у крыс 146

Сазонова Е.Н., Репа О.Г., Малофей Ю.Б.
Цитопротективный эффект неопиатных аналогов лей-энкефалина на фоне воздействия ингибитора орнитиндекарбоксилазы 155

Reviews

Ageykin A.V., Usenko D.V., Gorelov A.V., Melnikov V.L., Aftaeva L.N., Miltykh I.S.., Botova V.S., Kikicheva A.A., Lopatina V.A., Dolgachev M.V.
Dynamics of post-COVID asthenia: review 6

Aftaeva L.N., Melnikov V.L., Arekhina A.V.
Filovirus Infections: science and innovation 17

Dadashev A.S., Miltykh I.S., Sukmanova D.A., Mishin V.A., Zenin O.K., Kafarov E.S.
Organometric parameters of the spleen in persons of different genders, ages and physiques: current data and research prospects 32

Ibisheva A.Kh., Shakhgireeva M.R., Khildikharoeva A.B., Uspanova L.S., Shamsadova S.A., Dzhabrailova L.V.-M.
Bronchial asthma in the era of personalized medicine 41

Ignatova Yu.S., Bryukhanov Ya.I., Pecherina T.B., Barbarash O.L.
Challenges in managing adherence in patients with cardiovascular disease (review) 48

Menshchikova V.E., Kartseva T.V., Ryabichenko T.I., Obukhova O.O., Timofeeva E.P., Kosmicheva O.A.
Rehabilitation in overweight and obesity as an integral part of pathogenetic therapy 57

Silizertseva O.A., Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Gutnik I.N., Astakhova T.A., Kolesnikova L.I.
Oxidative stress and exogenous constitutional obesity 69

Finogenova Yu.A., Lipengolts A.A., Skribitsky V.A., Shpakova K.E., Smirnova A.V., Sycheva N.N., Grigorieva E.Yu.
Biodistribution of gold nanoparticles *in vivo* *83*

Research articles

Biomedical sciences

Gusev I.A., Fomenko A.V., Sorochinskaya O.I., Sazonova E.N.
The state of the nucleo-nucleolar apparatus of the mature albino rat males cardiomyocytes exposed to intrauterine hypoxia and neonatal administration of non-opiate analogues of leu-enkephalin 97

Kolesnikova A.A., Fleishman M.Yu., Malofey Yu.B., Tolstenok I.V., Duzenko N.V., Salnikov A.A.
Comparison of the effects of three glyprolines after five days of intraperitoneal administration 105

Kosman V.M., Romanenko A.Yu., Karlina M.V., Faustova N.M., Mazukina E.V., Kuzovlev A.N., Grechko A.V., Cherpakov R.A., Makarova M.N., Makarov V.G.
Evaluation of lithium chloride safety and toxicokinetics for injection in minipigs 114

Menshchikova E.B., Khrapova M.V., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Petrova E.S., Serykh A.E., Romakh L.P., Kandalintseva N.V.
Original synthetic monophenolic antioxidant with combined effect inhibits tumor growth *in vivo* 128

Molodykh O.P., Sinyavskaya A.M., Troitskiy A.V. Palchikova N.A., Kuzminova O.I., Deulin I.Yu., Selyatitskaya V.G.
The effect of oxidized dextran on the morphology of Wistar rat testes under acute toxic effects 138

Pykhtina M.B., Miroshnichenko S.M., Karpov M.A., Abyshev A.A., Mosalev K.I. Kotova M.V., Beklemishev A.B., Knyazev R.A.
Wound healing properties of a chimeric form of human GM-CSF in a rat burn injury model 146

Sazonova E.N., Repa O.G., Malofey Yu. B.
Cytoprotective effect of non-opiate leu-enkephalin analogues against the background of ornithine decarboxylase inhibitor exposure 155

Samoylova A.V., Gostyukhina A.A., Zharkova L.P., Bolshakov M.A., Doroshenko O.S., Tsygankov R.V., Zaitsev K.V., Rostov V.V.
Changes in the division rate of bone marrow cells in Wistar rats after exposure to nanosecond microwave pulses of different intensities 162

Самойлова А.В., Гостюхина А.А., Жаркова Л.П., Большаков М.А., Дорошенко О.С., Цыганков Р.В., Зайцев К.В., Ростов В.В.
Изменение скорости деления костномозговых клеток крыс Wistar после воздействия наносекундными микроволновыми импульсами разной интенсивности 162

Торопова А.А., Разуваева Я.Г., Халтагарова Е.Д., Оленников Д.Н.
Улучшение антиоксидантной защиты и энергопродукции при нейродегенеративных процессах в головном мозге, вызванных длительной алкоголизацией, под действием экстракта *Lophantus chinensis* Benth 171

Флейшман М.Ю., Сальников А.А., Колесникова А.А., Малофей Ю.Б.
Уровень апоптоза в клетках неокортекса и гиппокампа белых крыс после легкой черепно-мозговой травмы при введении глипролина 179

Клиническая медицина

Alzeeralhouseini A.F., Moisak G.I., Tkachenko E.A., Rzaev J.A.
Short and long term follow-up of microvascular decompression for the management of trigeminal neuralgia caused by venous compression 186

Винель П.К., Синицкий А.И., Царева В.В., Грунин А.В., Бабошко П.Г., Аглетдинов Э.Ф.
Изменения активности моноаминоксидазы кишечника у недоношенных и доношенных детей с хирургической патологией 197

Жуковец И.В., Андриевская И.А., Кривощекова Н.А., Наркевич А.Н., Устинов Е.М.
Оценка рисков гипертензивных и метаболических нарушений у беременных с COVID-19 203

Попов В.В., Станкевич Ю.А., Богомякова О.Б., Тулупов А.А.
Возможности метода бесконтрастной перфузионной МРТ в количественной оценке изменений церебрального кровотока 210

Севостьянова Е.В., Николаев Ю.А., Митрофанов И.М., Поляков В.Я., Селятицкая В.Г.
Кластеры факторов риска коморбидности у пациентов с соматической патологией 218

Столбиков Ю.Ю., Матюшин Г.В., Протопопов А.В., Самохвалов Е.В., Ищенко О.П., Кобаненко В.О.
Частота развития нарушений атриовентрикулярной проводимости и потребности в имплантации электрокардиостимулятора у пациентов после эндоваскулярного протезирования аортального клапана 225

Эверт Л.С., Терещенко С.Ю., Шубина М.В., Горбачева Н.Н., Костюченко Ю.Р.
Социально-психологические проблемы у подростков с неконтролируемым течением бронхиальной астмы 231

Профилактическая медицина

Алешина Ю.А., Новикова Т.А., Кочетова Н.А., Комлева Н.Е., Заикина И.В.
Распространенность поведенческих факторов риска болезней системы кровообращения у работников производства подшипников 242

Соснина С.Ф., Окатенко П.В., Сокольников М.Э.
Производственное облучение родителей: анализ общей смертности потомков 249

Организация здравоохранения

Манойлов А.Е., Маркина А.Ю., Малыхина О.П.
Причины неудовлетворительного качества диспансерного наблюдения участковыми врачами-терапевтами больных артериальной гипертонией 258

Toropova A.A., Razuvaeva Ya.G., Khaltagarova E.D., Olennikov D.N.
Improvement of antioxidant protection and energy production in neurodegenerative processes in the brain caused by long-term alcoholism under the influence of *Lophantus chinensis* Benth extract 171

Fleishman M.Yu., Salnikov A.A., Kolesnikova A.A., Malofey Yu.B.
The level of apoptosis in the cells of the neocortex and hippocampus of white rats after mild traumatic brain injury with the introduction of glyproline 179

Clinical medicine

Альзиралхусейни А.Ф., Мойсак Г.И., Ткаченко Е.А., Рзаев Д.А.
Ближайшие и отдаленные результаты микроваскулярной декомпрессии у пациентов с тригеминальной невралгией, обусловленной венозной компрессией 186

Vinel P.K., Sinitskii A.I., Tsareva V.V., Grunin A.V., Baboshko P.G., Agletdinov E.F.
Intestinal monoamine oxidase activity in premature and full-term infants with surgical pathology 197

Zhukovets I.V., Andrievskaya I.A., Krivoshchekova N.A., Narkevich A.N., Ustinov E.M.
Risk assessment of hypertensive and metabolic disorders in pregnant women with COVID-19 203

Popov V.V., Stankevich Yu.A., Bogomyakova O.B., Tulupov A.A.
The possibilities of the non-contrast MRI perfusion in the quantitative assessment of changes in cerebral blood flow 210

Sevostyanova E.V., Nikolaev Yu.A., Mitrofanov I.M., Polyakov V.Ya., Selyatitskaya V.G.
Clusters of risk factors for the development of comorbidity in patients with somatic pathology 218

Stolbikov Yu.Yu., Matyushin G.V., Protopopov A.V., Samokhvalov E.V., Ishchenko O.P., Kobanenko V. O.
Incidence of atrioventricular conduction disturbances and need for pacemaker implantation in patients after endovascular aortic valve replacement 225

Evert L.S., Tereshchenko S.Yu., Shubina M.V., Gorbacheva N.N., Kostyuchenko Yu.R.
Socio-psychological problems in adolescents with uncontrolled bronchial asthma 231

Preventive medicine

Aleshina Yu.A., Novikova T.A., Kochetova N.A., Komleva N.E., Zaikina I.V.
Prevalence of behavioral risk factors for circulatory system diseases among bearing production workers 242

Sosnina S.F., Okatenko P.V., Sokolnikov M.E.
Occupational exposure of the parents: general mortality among the offspring 249

Public health

Manoilov A.E., Markina A.Yu., Malykhina O.P.
Causes of unsatisfactory quality of follow-up of patients with arterial hypertension by district therapists 258

УДК 616.85-002 DOI: 10.18699/SSMJ20240601
Обзор литературы / Review article

Особенности течения постковидного астеновегетативного синдрома: обзор литературы

А.В. Агейкин[1], Д.В. Усенко[2], А.В. Горелов[2, 3], В.Л. Мельников[1], Л.Н. Афтаева[1], И.С. Милтых[1], В.С. Ботова[1], А.А. Кикичева[1], В.А. Лопатина[1], М.В. Долгачев[1]

[1] *Пензенский государственный университет*
440026, г. Пенза, ул. Красная, 40
[2] *Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора*
111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а
[3] *Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова*
1127006, г. Москва, ул. Долгоруковская, 4

Резюме

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) – высококонтагиозное респираторное заболевание, вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2. Для COVID-19 характерно действие как на дыхательную, так и на пищеварительную, выделительную и нервную системы. В настоящее время растет частота хронических последствий новой коронавирусной инфекции. Цель работы – рассмотреть эпидемиологию и компоненты постковидного астеновегетативного синдрома. **Материал и методы.** Материалом для исследования явились 63 посвященных SARS-CoV-2, MERS и COVID-19 литературных источника, которые были опубликованы с 2005 по 2023 г. и проиндексированы в базах данных PubMed, Киберленинка, РИНЦ, Semantic Scholar и Google Scholar. **Результаты.** В ходе проведенного исследования выявлено, что наиболее частыми симптомами астеновегетативного синдрома в период пост-COVID являются усталость, мышечная слабость, одышка, нарушения сна, тревога или депрессия, ухудшение памяти и когнитивных функций (ощущение «тумана» в голове), гипосмия, снижение работоспособности. Одним из специфических постковидных симптомокомплексов является астеновегетативный синдром, частота возникновения которого согласно данным метаанализа колеблется от 13,1 до 72,8 %, в совокупности – 45 ± 0,05 % (95%-й доверительный интервал 0,31–0,54). **Заключение.** В настоящее время вопрос о постковидном астеновегенативном синдроме стоит весьма остро. Для разработки адекватной стратегии борьбы с ним необходимо детально рассмотреть имеющиеся данные об эпидемиологии и симптомах.

Ключевые слова: постковидный астеновегетативный синдром, лонг-COVID, когнитивные нарушения, миалгия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Агейкин А.В., e-mail: AgeykinAV@yandex.ru
Для цитирования: Агейкин А.В., Усенко Д.В., Горелов А.В., Мельников В.Л., Афтаева Л.Н., Милтых И.С., Ботова В.С., Кикичева А.А., Лопатина В.А., Долгачев М.В. Особенности течения постковидного астеновегетативного синдрома: обзор литературы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):6–16. doi: 10.18699/SSMJ20240601

Dynamics of post-COVID asthenia: review

A.V. Ageykin[1], D.V. Usenko[2], A.V. Gorelov[2, 3], V.L. Melnikov[1], L.N. Aftaeva[1], I.S. Miltykh[1], V.S. Botova[1], A.A. Kikicheva[1], V.A. Lopatina[1], M.V. Dolgachev[1]

[1] *Penza State University*
440026, Penza, Krasnaya st., 40
[2] *Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor*
111123, Moscow, Novogireyevskaya st., 3a
[3] *A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry*
1127006, Moscow, Dolgorukovskaya st., 4

Abstract

Novel coronavirus infection (COVID-19) is a highly contagious respiratory disease caused by the SARS-CoV-2 coronavirus. COVID-19 is known to affect both the respiratory, digestive, excretory, and nervous systems. The incidence of chronic effects of the novel coronavirus infection is now on the rise. This paper is aimed to review the epidemiology, pathogenesis and components of post-COVID asthenia. **Material and methods.** Sixty-three references published between 2005 and 2023 and indexed in the PubMed, CyberLeninka, Russian Citation Index, Semantic Scholar, and Google Scholar databases were included in this review. **Results.** The study revealed the most common symptoms of post-COVID asthenia are fatigue, muscle weakness, shortness of breath, sleep disturbances, anxiety or depression, impaired memory and cognitive functions ("foggy brain"), hyposmia, and reduced work performance. One of the specific symptom complexes for post-COVID is asthenovegetative syndrome, the incidence of which according to the meta-analysis ranged from 13.1 to 72.8 %, with a cumulative percentage of 45 ± 0.05 % (95 % confidence interval 0.31–0.54). **Conclusions.** Nowadays, post-COVID asthenia is becoming extremely severe. It is necessary to review in detail the available data on the epidemiology and components of post-COVID asthenia in order to develop an adequate strategy for post-COVID management.

Key words: post-COVID asthenia, long-COVID, cognitive impairment, myalgia.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author: Ageykin A.V., e-mail: AgeykinAV@yandex.ru
Citation: Ageykin A.V., Usenko D.V., Gorelov A.V., Melnikov V.L., Aftaeva L.N., Miltykh I.S.., Botova V.S., Kikicheva A.A., Lopatina V.A., Dolgachev M.V. Dynamics of post-COVID asthenia: review. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):6–16. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240601

Введение

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) – высококонтагиозное респираторное заболевание, вызываемое коронавирусом SARS-CoV-2. Признано ВОЗ пандемией в марте 2020 г. [1]. По состоянию на 23.04.2024 в мире зарегистрировано более 775 млн случаев заражения и более 7 млн смертей [2]. Только в Российской Федерации диагностировано 24,1 млн случаев заболевания [3]. Наблюдается вариабельность клинической симптоматики среди пораженных COVID-19 [4, 5]. В некоторых случаях инфекция протекает бессимптомно, в то время как большинство заболевших испытывают симптомы, характерные для вирусных респираторных инфекций: лихорадка, кашель, одышка, головная боль и боль в горле [6–8]. Характерным признаком острой фазы заболевания является системное воздействие, в том числе желудочно-кишечные, почечные, гепатологические, ревматологические и неврологические симптомы и осложнения [9–11]. Различия в клинике исследователи напрямую связывают с штаммами вируса, которые делятся на основные и особо опасные. Основные штаммы объединяются в клады: GR, G, GH, O, S, L и V. Штамм L был обнаружен в китайском Ухане в декабре 2019 г., но классическая версия постепенно исчезает. Штаммы GR, G и GH распространены в разных частях мира с разной интенсивностью. Также выделяют такие штаммы, как британский, южноафриканский и индийский. В группу особо опасных включают бразильский штамм, который вызывает сильные боли в суставах, тошноту, рвоту, потерю слуха и гангрену из-за увеличенного риска тромбов. Менее угрожающие штаммы, такие как нигерийский (эта), американский (йота), индийский (каппа) и перуанский (лямбда), также вызывают беспокойство из-за их высокой заразности и скорости распространения [12]. В то же время среди исследователей растет интерес к хроническим последствиям новой коронавирусной инфекции, в особенности к неврологическим осложнениям [13].

Астеновегетативный синдром (АВС) имеет схожие клинические проявления, характерные для пациентов в постковидном (ПК) периоде [14]. АВС – это патологическое состояние, характеризующееся общей слабостью и повышенной утомляемостью различной степени выраженности, независимо от характера физической нагрузки, которое сопровождается широким спектром неспецифических жалоб со стороны пациента. Астения, будучи клиническим проявлением энергетического дефицита в организме, отличается несоответствием между степенью слабости, усталости и затраченными усилиями, а также невозможностью поддерживать прежний уровень функциональной активности (феномен непереносимости привычных действий) [15].

Цель работы – рассмотреть эпидемиологию, патогенез и другие компоненты постковидного астеновегетативного синдрома.

Материал и методы

Материалом для литературного обзора явились 63 литературных источника, опубликованных с 2005 по 2023 г. и проиндексированных в базах данных PubMed, Киберленинка, РИНЦ, Semantic Scholar и Google Scholar, посвященных SARS-CoV-2, MERS и COVID-19. При подготовке систематического обзора и метаанализа руководствовались рекомендациями PRISMA [16]. Отбор статей проводился двумя независимыми исследователями, в случае конфликтов привлекался третий. Поиск осуществлялся с применением поискового запроса: («post-COVID-19» OR «long covid» OR «post-acute sequelae» OR «long-term effects») AND «SARS-CoV-2». Результаты поиска и отбора статей представлены на рис. 1. Анализ проводился с использованием среды R (версия 4.1). Для расчета совокупных показателей применяли пакет metafor R [17]. Учитывая ожидаемую неоднородность данных исследований, для анализа использовалась модель случайных эффектов.

Эпидемиология АВС при ПК

Согласно данным A. Carfi et al., более 87 % пациентов продолжают испытывать хотя бы один симптом через два месяца после начала COVID-19 [18]. В то же время риск развития ПК не связан с тяжестью заболевания [19]. Этиология АВС при ПК остается неизвестной, некоторые исследователи связывают его с аутоиммунными расстройствами или гипервоспалительным состоянием после перенесенного острого COVID-19 [20–22]. Согласно определению ВОЗ, пост-COVID – это состояние после перенесенного COVID-19 с сохраняющимися ≥ 3 месяцев симптомами [23–25], которые не могут быть объяснены альтернативным диагнозом. Наиболее часто встречаются усталость [26–32], мышечная слабость [27, 28, 31, 33], одышка [26, 27, 32], нарушения сна [27, 28, 30], тревога или депрессия [27, 28, 31], ухудшение памяти и когнитивных функций (ощущение «тумана» в голове) [30, 31], гипосмия [11, 30], снижение работоспособности. Одним из специфических симптомокомплексов для ПК является АВС, частота возникновения которого колеблется от 13,1 до 72,8 % (таблица), в совокупности – 45 ± 0,05 % (95%-й доверительный интервал (36–54 %)). (рис. 2).

Когнитивные нарушения в составе АВС при ПК

Проблема когнитивного дефицита в ПК занимает одну из главенствующих позиций. Большинство перенесших COVID-19 в той или иной степени тяжести предъявляют жалобы на рассеянность, ухудшение памяти, уменьшение способности к обучению, повышенную утомляемость при привычных интеллектуальных нагрузках. Это существенно снижает качество их жизни, пациенты ощущают себя неполноценно как в профессиональной деятельности, так и просто при общении в социуме [44]. При оценке выраженности нарушений важно помнить, что когнитивные способности у здоровых людей могут существен-

Рис. 1. *Диаграмма PRISMA о ходе отбора работ для метаанализа*
Fig. 1. *PRISMA flow chart*

Частота проявления АВС при ПК

Incidence of asthenia in post-COVID

Характеристика пациентов	Место исследования	Общее число пациентов, *n*	Число пациентов с АВС, *n* (%)	Ссылка
Пациенты старше 18 лет с диагнозом COVID-19. Осмотр на 191-й день после диагноза	г. Удине, Италия	596	78 (13)	[34]
Пациенты с лабораторно подтвержденным COVID-19. Опрос после 3–9 месяцев после диагноза	г. Сиэтл, США	177	24 (14)	[35]
Пациенты от 20 до 80 лет, проходившие стационарное лечение. Телефонный опрос через 3 месяца после выписки	г. Ухань, КНР	538	152 (28)	[36]
Пациенты с положительным ПЦР-тестом на SARS-CoV-2	г. Аликанте, Испания	277	96 (35)	[37]
Сотрудники учебной больницы. Электронный опрос через 4 месяца после пика первой волны COVID-19	г. Уиган, Великобритания	138	54 (39)	[38]
Пациенты в возрасте от 11 до 17 лет, у которых лабораторный тест на COVID-19 был положительным с января по март 2021 г. Анкетирование через 3 месяца	Великобритания	3065	1195 (39)	[32]
Пациенты с пневмонией COVID-19	г. Халл, Великобритания	134	53 (40)	[27]
Пациенты с легкой формой COVID-19 в возрасте от 18 до 65 лет	г. Лахор, Пакистан	242	101 (42)	[39]
Пациенты с положительными ПЦР-тестом на SARS-CoV-2 с марта по май 2020 г. Визит через 6 недель после последнего обострения или выписки из стационара	г. Дублин, Ирландия	115	54 (47)	[40]
Пациенты с лабораторно подтвержденным COVID-19. Визит, в среднем, через 60 дней	г. Рим, Италия	143	76 (53)	[18]
Пациенты с COVID-19 старше 18 лет. Повторные визиты через 5 и 12 месяцев	г. Гейдельберг, Германия	96	54 (56)	[41]
Госпитализированные пациенты с COVID-19. Повторный визит через 6 месяцев	г. Ухань, КНР	1733	1092 (63)	[28]
Систематический обзор 25 исследований		5440	3536 (65)	[42]
Госпитализированные пациенты с COVID-19. Телефонный опрос или визит через 4–6 недель после выписки	г. Лондон, Великобритания	384	265 (69)	[19]
Пациенты с лабораторно подтвержденным COVID-19	Египет	287	209 (73)	[43]
Всего		13358	7037 (100)	

но различаться, поэтому о когнитивном дефиците можно говорить только в тех случаях, когда заболевание приводит к снижению способностей по сравнению с исходным уровнем.

Степень выраженности когнитивных нарушений связана с тяжестью инфекции в остром периоде [45]. На сегодняшний день не сформирована единая теория патогенетического механизма когнитивных нарушений в ПК периоде. Выделяют только отдельные факторы, к которым относят нейротропность и нейроинвазивность вируса SARS-CoV-2, системные воспалительные реакции, кислородное голодание, нарушения свертываемости крови и поражение эндотелия сосудов головного мозга. В подавляющем большинстве случаев неврологические проявления COVID-19 могут возникать при комбинировании вышеперечисленных факторов [46]. SARS-CoV-2, проникая в головной мозг, вызывает вирусиндуцированный врожденный иммунный ответ, увеличивая продукцию цитокинов и ухудшая функции нервной системы. Большему влиянию вируса подвержены

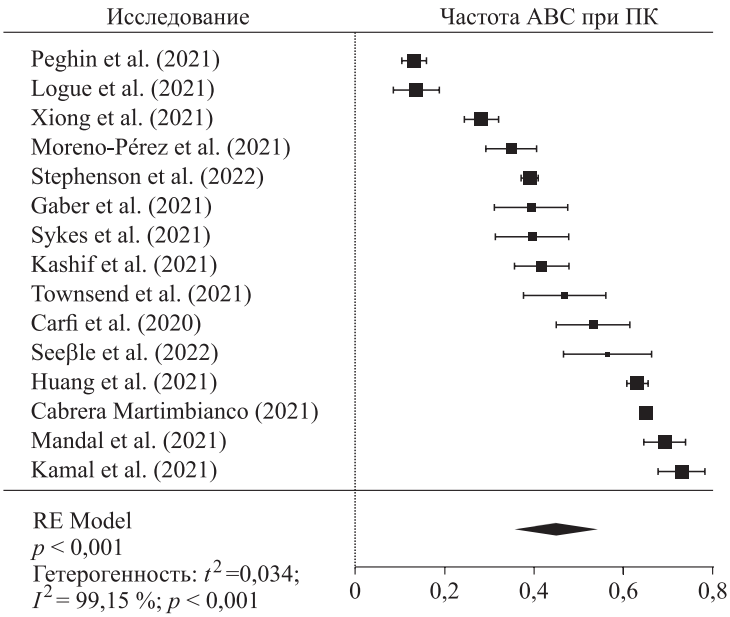


Рис. 2. *Совокупная доля проявления АВС при ПК*
Fig. 2. *Pooled proportion of post-COVID related asthenia incidence*

перициты (клетки Руже), макрофаги и микроглиальные клетки. COVID-19 также влияет на свертывающую систему крови, что сопровождается выраженным повышением уровня D-димеров и продуктов распада фибрина/фибриногена. Активация каскада свертывания крови к тому же связана с повреждением и дисфункцией эндотелиальных клеток, так как их гибель и нарушение целостности сосудов приводит к обнажению тромбогенной базальной мембраны. Активация путей коагуляции с возможным развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания является доказанным признаком тяжелой формы COVID-19. Гипоксия и гипоперфузия вследствие кардиореспираторного заболевания вызывают гипоксически-ишемическое повреждение головного мозга. Таким образом, возникающие дисрегуляторные механизмы способствуют изменениям в сознании и возникновению когнитивных нарушений [47].

Тревожно-депрессивные расстройства и нарушения сна в составе АВС при ПК

Высокий уровень заболеваемости и летальности во время пандемии COVID-19 послужили причиной стремительного роста тревоги и страха среди населения, что вполне предсказуемо в условиях постоянно меняющейся ситуации. Тревожные расстройства в ПК, по некоторым данным, составляют около 42 %, что также негативно влияет на трудовую деятельность переболевших. Частота развития депрессии среди людей, перенесших новую коронавирусную инфекцию, колеблется от 28 до 45 % [48]. Состояние тревожности обусловлено как внешними, так и внутренними факторами. Существуют биологические и психологические аспекты формирования тревожных расстройств. Согласно психоаналитической теории, тревога – это сигнал появления неприемлемой, запретной потребности или импульса, которые побуждают индивида бессознательно предотвращать их выражение. Тревога и, в частности, фобии изначально возникают в рамках условно-рефлекторной реакции на болезненные или пугающие стимулы [49]. В основе биологической теории лежит специфическое состояние мозгового субстрата. Данная модель подразумевает, что все тревожные расстройства являются следствием церебральных патологических изменений, таких как нарушения функционирования вегетативной нервной системы, лимбической системы, аутоиммунных процессов и наследственных факторов. К основным медиаторам, участвующим в их формировании, относятся ГАМК и серотонин [50].

SARS-CoV-2 может вызывать последствия со стороны психического здоровья в виде тревоги и депрессии вследствие воздействия вирусной инфекции на ЦНС. В исследованиях на животных и *in vitro* установлено, что вирус SARS-CoV-2 потенциально является нейротропным и способен вызывать повреждения нейронов. Психические расстройства могут быть следствием как «цитокинового шторма», возникающего при им-

мунном ответе на внедрение возбудителя, так и нейровоспаления. Также одним из ключевых патогенетических механизмов развития постковидной депрессии может являться дефицит уровня серотонина в головном мозге. Большая часть нейромедиатора находится в тромбоцитарных гранулах, откуда он и попадает в кровеносное русло. В остром периоде COVID-19 происходит гиперактивация и агрегация тромбоцитов, что способствует масштабному выбросу серотонина и снижению его количества в депо. Вследствие этого у пациентов, болеющих COVID-19, повышен уровень циркулирующего серотонина (5-гидрокситриптамин), вероятно, в результате усиления активации тромбоцитов и снижения их реактивации при легочном кровообращении [49]. Увеличение содержания серотонина в крови приводит к истощению его депо и дефициту в головном мозге.

В ПК все чаще наблюдается распространение нарушений сна среди различных возрастных групп населения. Частота встречаемости данной дисфункции широко варьирует, составляя от 2,3 до 76,6 % [51]. Нарушения сна во время пандемии COVID-19 принято называть феноменом «COVID-сомнии». Одиночество, беспокойство, страх, стресс, чрезмерная усталость, определенные социальные проблемы являются факторами нарушения регуляции сна, влияя на гомеостатический и циркадный компонент. Вирус SARS-CoV-2 поражает ЦНС, в том числе области, участвующие в регуляции сна: префронтальную кору, базальные ганглии и гипоталамус [52]. В контексте COVID-сомнии выделяют бессонницу (пресомнические нарушения) и синдром беспокойных ног. У людей, перенесших коронавирусную инфекцию, это может быть непосредственно связано с инфекцией, гипоксией, психическим состоянием. Изменения структуры сна во время инфекции являются компонентом реакции острой фазы, способствующей выздоровлению во время болезни, через механизмы, включающие цитокины и интерлейкины [53]. Реактивность сна предполагает, что реакция на стресс, а также на протекание заболевания у всех людей происходит по-разному. Ряд авторов считает, что ухудшение сна среди всех групп населения связано с изменениями в циркадной сети, сокращением амплитуды ритма мелатонина, который обладает противовоспалительным, антиоксидантным и иммунорегуляторным свойствами, что может повышать риск повторного заболевания [52, 54].

Мышечная слабость в составе АВС при ПК

Мышечная слабость и утомляемость в рамках АВС при ПК проявляется в 19,6–63 % случаев [27, 28, 37, 39]. Пациенты могут испытывать данные симптомы как в легкой, так и в тяжелой форме, как при рабдомиолизе [55]. Вспышка предыдущих коронавирусных инфекций также ассоциирована с миопатическими изменениями [56]. Миопатия может развиваться как непосредственно во время COVID-19, так и после выздоровления [57]. В ходе метаанализа выявлены основные факторы риска ее возникновения, к которым относятся женский пол, сепсис, гипергликемия, применение миорелаксантов в стационаре, длительное пребывание на искусственной вентиляции легких [58]. Для пациентов с ПК, имеющих в анамнезе избыточную массу тела или ожирение характерна большая потеря мышечной массы [59]. В острой фазе COVID-19 происходят активные катаболические процессы, которые приводят к потере мышечной массы из-за снижения анаболизма. Увеличивается продукция лептина и других провоспалительных цитокинов, фактор некроза опухоли-альфа и росттрансформирующий фактор бета активируют убиквитин-протеасомную систему, что приводит к ускоренному распаду мышечного белка и потере мышечной массы, при этом под действием инсулиноподобного фактора роста и в результате активации пути мишени рапамицина млекопитающих снижается синтез белка. Еще один потенциальный механизм разрушения мышечной ткани – дисфункция митохондрий под действием метаболического стресса, проводящая к истощению митохондриального пула АТФ и высвобождению свободных радикалов, что является непосредственной причиной протеолиза [60].

Патология пищеварительного тракта в составе АВС при ПК

Инфекция COVID-19 может проявляться поражениями органов ЖКТ, которые встречаются примерно у 25 % пациентов. Высказывается предположение, что развитие желудочно-кишечных симптомов в постковидном синдроме определяется такими факторами, как прямое влияние вируса на рецепторы ангиотензинпревращающего фермента II типа (АПФ-2) эпителиоцитов кишечной стенки, вирус-ассоциированное изменение состава кишечной микробиоты с развитием дисбиотических процессов, повреждение слизистых оболочек гипериммунной реакцией системного и местного характера, тромботические процессы, влияние антибактериальной терапии и других лекарственных препаратов, применяющихся при лечении COVID-19 [61]. Адгезия и вхождение в клетки-мишени коронавируса SARS-CoV-2 осуществляются через рецепторы АПФ-2, которые располагаются не только на слизистых оболочках верхних дыхательных путей и легких, но и на эпи-

телиоцитах полости рта и ЖКТ. После образования связи рецептора и распознающего его белка вируса последний путем эндоцитоза проникает в клетку хозяина, где и размножается. При этом в клинической картине заболевания наблюдаются симптомы со стороны ЖКТ, главными из которых являются анорексия (78,6 %) и диарея (34 %) [62].

Известно, что после перенесенной инфекции SARS-CoV-2 у пациентов с диареей повышен уровень кальпротектина в кале и серотонина в слизистых оболочках по сравнению с аналогичными показателями у пациентов без диареи, что позволяет предполагать развитие у данной группы пациентов воспаления слизистой оболочки кишечника, патогенетический механизм которого, в свою очередь, приводит к острому инфекционному гастроэнтериту, служащему прогностическим фактором постинфекционного функционального желудочно-кишечного расстройства [63]. Помимо этого проявления со стороны ЖКТ могут возникать из-за прямого цитопатического воздействия вируса на слизистую оболочку, а также нарушения всасывания, которое развивается вторично по отношению к инвазии энтероцитов, или из-за воспалительной реакции, связанной с инфильтрацией плазматических клеток и лимфоцитов в собственной пластинке кишечника [64].

На сегодняшний день в качестве основного фактора развития клинических симптомов расстройства ЖКТ все больше рассматривается нарушение состава микробиома кишечника, проявляющееся повышением численности условно-патогенных микроорганизмов и истощением полезных комменсалов. Представители условно-патогенной и патогенной кишечной микрофлоры при помощи факторов адгезии проникают в лимфоидные фолликулы и запускают каскад иммунных реакций, что приводит к активации иммунной системы, развитию неспецифического воспаления в кишечной стенке и дисфункции эпителия с изменением проницаемости слизистой оболочки кишечника. Изменение состава микрофлоры в свою очередь может быть как качественным, так и количественным, что лежит в основе избыточного бактериального роста в тонкой кишке и приводит к развитию абдоминального болевого синдрома. Эти изменения носят достаточно разнообразный характер и существенно усиливаются при применении антибиотиков [65].

Ограничения данного исследования

В рамках метаанализа распространенности АВС в ПК следует отметить определенные ограничения, которые необходимо учитывать при интерпретации результатов исследования. Во-первых, наблюдается высокая гетерогенность данных, так как включенные в него исследования охватывают различные популяции с разной возрастной структурой, степенью тяжести заболевания, а также с разным уровнем качества медицинской помощи. Такая гетерогенность может влиять на результаты, так как разные группы пациентов могут демонстрировать различные клинические исходы и реакции на лечение. Во-вторых, рассмотренные работы основываются на клинических и эпидемиологических данных без определения конкретного штамма вируса SARS-CoV-2. В связи с этим невозможно количественно оценить взаимосвязь между генетическими вариациями вируса и клиническими проявлениями послеинфекционного периода.

Заключение

В настоящее время вопрос об АВС в ПК стоит весьма остро. Для разработки адекватной стратегии борьбы с ним необходимо детально рассмотреть имеющиеся данные об эпидемиологии и клинике. Данные исследований могут стать фундаментом для организации ухода за пациентами и их реабилитации после перенесенной новой коронавирусной инфекции. Необходимо вести систематическое наблюдение, рассматривая как соматические, так и психические аспекты здоровья, внедрять специальные программы реабилитации для поддержания здорового образа жизни после заражения SARS-CoV-2.

Список литературы

1. Pollard C.A., Morran M.P., Nestor-Kalinoski A.L. The COVID-19 pandemic: a global health crisis. *Physiol. Genomics.* 2020;52(11):549–557. doi: 10.1152/physiolgenomics.00089.2020

2. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Available at: https://covid19.who.int

3. Стопкоронавирус.рф. Оперативные данные по распространению коронавируса. Статистика и карта распространения коронавирусной инфекции в Российской Федерации. Режим доступа: https://стопкоронавирус.рф

Stopcoronavirus.rf. Current data on the spread of coronavirus. Statistics and map of the spread of coronavirus infection in the Russian Federation. Available at: https://стопкоронавирус.рф [In Russian].

4. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., Xiang J., Wang Y., Song B., Gu X., … Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054–1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3

5. Yuki K., Fujiogi M., Koutsogiannaki S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin. Immunol.* 2020;215:108427. doi: 10.1016/j.clim.2020.108427

6. Tian S., Chang Z., Wang Y., Wu M., Zhang W., Zhou G., Zou X., Tian H., Xiao T., Xing J., … Wu T. Clinical characteristics and reasons for differences in duration from symptom onset to release from quarantine among patients with COVID-19 in Liaocheng, China. *Front. Med. (Lausanne).* 2020;7:210. doi: 10.3389/fmed.2020.00210

7. Li J., Huang D.Q., Zou B., Yang H., Hui W.Z., Rui F., Yee N.T.S., Liu C., Nerurkar S.N., Kai J.C.Y., … Nguyen M.H. Epidemiology of COVID-19: A systematic review and meta-analysis of clinical characteristics, risk factors, and outcomes. *J. Med. Virol.* 2021;93(3):1449–1458. doi: 10.1002/jmv.26424

8. di Gennaro F., Pizzol D., Marotta C., Antunes M., Racalbuto V., Veronese N., Smith L. Coronavirus diseases (COVID-19) current status and future perspectives: A narrative review. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020;17(8):2690. doi: 10.3390/ijerph17082690

9. Somani S., Agnihotri S.P. Emerging neurology of COVID-19. *Neurohospitalist*. 2020;10(4):281–286. doi: 10.1177/1941874420936096

10. Mao R., Qiu Y., He J.S., Tan J.Y., Li X.H., Liang J., Shen J., Zhu L.R., Chen Y., Iacucci M., … Chen M.H. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 2020;5(7):667–678. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30126-6

11. Бофанова Н.С., Милтых И.С., Зенин О.К. Вопросы патогенеза некоторых неврологических осложнений при новой коронавирусной инфекции (по данным зарубежной литературы). *Профилакт. мед.* 2022;25(8):98–104. doi: 10.17116/profmed20222508198

Bofanova N.S., Miltykh I.S., Zenin O.K. Pathogenesis of certain neurological complications of new coronavirus infection: a foreign literature review. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health*. 2022;25(8):98–104. [In Russian]. doi: 10.17116/profmed20222508198

12. Елинсон М.А., Бигильдина Э.Р. Ковид 2019: краткая классификация штаммов, особенности протекания болезни, статистика заболеваемости. *E-Scio.* 2022;(4):11.

Elinson M.A., Bigildina Je.R. Covid 2019: Brief classification of strains, features of the disease, morbidity statistics. *E-Scio*. 2022;4(4):11. [In Russian].

13. Sudre C.H., Murray B., Varsavsky T., Graham M.S., Penfold R.S., Bowyer R.C., Pujol J.C., Klaser K., Antonelli M., Canas L.S., … Steves C.J. Attributes and predictors of long COVID. *Nat. Med.* 2021;27(4):626–631. doi: 10.1038/s41591-021-01292-y

14. Мельников К.Н., Поверенновa И.Е., Качковский М.А., Кузьмина Т.М., Антонов А.И. Астеновегетативный синдром у перенесших COVID-19. *Сарат. науч.-мед. ж.* 2022;18(1):128–132.

Mel'nikov K.N., Poverennova I.E., Kachkovskiy M.A., Kuzmina T.M., Antonov A.I. Post-COVID-19 asthenic-vegetative syndrome. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal = Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2022;18(1):128–132. [In Russian]

15. Эбзеева Е.Ю., Остроумова О.Д., Кроткова И.Ф., Долдо Н.М., Халецкая А.И. Астенический синдром в амбулаторной практике (клинические наблюдения). *РМЖ.* 2023;(5):43–48.

Ebzeeva E.Yu., Ostroumova O.D., Krotkova I.F., Doldo N.M., Khaletskaya A.I. A asthenic syndrome in outpatient practice (clinical observations). *Russkiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*. 2023;(5):43–48. [In Russian].

16. Page M.J., McKenzie J.E., Bossuyt P.M., Boutron I., Hoffmann T.C., Mulrow C.D., Shamseer L., Tetzlaff J.M., Akl E.A., Brennan S.E., ... Moher D. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *J. Clin. Epidemiol.* 2021;134:178–189. doi: 10.1016/j.jclinepi.2021.03.001

17. Viechtbauer W. Conducting meta-analysis in R with the metafor package. *Journal of Statistical Software*. 2010;36:1–48. doi: 10.18637/jss.v036.i03

18. Carfì A., Bernabei R., Landi F., for the Gemelli Against COVID-19 Post-Acute Care Study Group. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19. *JAMA*. 2020;324(6):603–605. doi: 10.1001/jama.2020.12603

19. Mandal S., Barnett J., Brill S.E., Brown J.S., Denneny E.K., Hare S.S., Heightman M., Hillman T.E., Jacob J., Jarvis H.C., … Hurst J.R. 'Long-COVID': a cross-sectional study of persisting symptoms, biomarker and imaging abnormalities following hospitalisation for COVID-19. *Thorax*. 2021;76(4):396–398. doi: 10.1136/thoraxjnl-2020-215818

20. Altmann D.M., Boyton R.J. Decoding the unknowns in long covid. *BMJ.* 2021;(372):n132. doi: 10.1136/bmj.n132

21. Bektas A., Schurman S.H., Franceschi C., Ferrucci L. A public health perspective of aging: do hyper-inflammatory syndromes such as COVID-19, SARS, ARDS, cytokine storm syndrome, and post-ICU syndrome accelerate short- and long-term inflammaging? *Immun. Ageing.* 2020;17(1):23. doi: 10.1186/s12979-020-00196-8

22. Datta S.D., Talwar A., Lee J.T. A proposed framework and timeline of the spectrum of disease due to SARS-CoV-2 ifection: illness beyond acute infection and public health implications. *JAMA*. 2020;324(22):2251–2252. doi: 10.1001/jama.2020.22717

23. WHO. A Clinical Case Definition for Post Covid-19 condition in children and adolescents by expert consensus, 16 February 2023. Available at: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Post-COVID-19-condition-CA-Clinical-case-definition-2023-1

24. Brodin P. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. *Nat. Med*. 2021;27(1):28–33. doi: 10.1038/s41591-020-01202-8

25. Ortona E., Buonsenso D., Carfi A., Malorni W. Long COVID: an estrogen-associated autoimmune disease? *Cell Death Discovery*. 2021;7(1):1–3. doi: 10.1038/s41420-021-00464-6

26. Yong S.J. Long COVID or post-COVID-19 syndrome: putative pathophysiology, risk factors, and treatments. *Infect. Dis. (Lond).* 2021;53(10):737–754. doi: 10.1080/23744235.2021.1924397

27. Sykes D.L., Holdsworth L., Jawad N., Gunasekera P., Morice A.H., Crooks M.G. Post-COVID-19 symptom burden: What is long-COVID and how should we manage it? *Lung*. 2021;199(2):113–119. doi: 10.1007/s00408-021-00423-z

28. Huang C., Huang L., Wang Y., Li X., Ren L., Gu X., Kang L., Guo L., Liu M., Zhou X., … Cao B. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet*. 2021;397(10270):220–232. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32656-8

29. Sette A., Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 2021;184(4):861–880. doi: 10.1016/j.cell.2021.01.007

30. Guedj E., Campion J.Y., Dudouet P., Kaphan E., Bregeon F., Tissot-Dupont H., Guis S., Barthelemy F., Habert P., Ceccaldi M., … Eldin C. 18F-FDG brain PET hypometabolism in patients with long COVID. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2021;48(9):2823–2833. doi: 10.1007/s00259-021-05215-4

31. Mondelli V., Pariante C.M. What can neuroimmunology teach us about the symptoms of long-COVID? *Oxf. Open Immunol.* 2021;2(1):iqab004. doi: 10.1093/oxfimm/iqab004

32. Stephenson T., Pinto Pereira S.M., Shafran R., de Stavola B.L., Rojas N., McOwat K., Simmons R., Zavala M., O'Mahoney L., Chalder T., … Whittaker E. Physical and mental health 3 months after SARS-CoV-2 infection (long COVID) among adolescents in England (CLoCk): a national matched cohort study. *Lancet Child Adolesc. Health*. 2022;6(4):230–239. doi: 10.1016/S2352-4642(22)00022-0

33. Becker R.C. Autonomic dysfunction in SARS-COV-2 infection acute and long-term implications COVID-19 editor's page series. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2021;52(3):692–707. doi: 10.1007/s11239-021-02549-6

34. Peghin M., Palese A., Venturini M., Martino M.D., Gerussi V., Graziano E., Bontempo G., Marrella F., Tommasini A., Fabris M., … Tascini C. Post-COVID-19 symptoms 6 months after acute infection among hospitalized and non-hospitalized patients. *Clin. Microbiol. Infect*. 2021;27(10):1507–1513. doi: 10.1016/j.cmi.2021.05.033

35. Logue J.K., Franko N.M., McCulloch D.J., McDonald D., Magedson A., Wolf C.R., Chu H.Y. Sequelae in fdults at 6 months after COVID-19 infection. *JAMA Network Open.* 2021;4(2):e210830. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.0830

36. Xiong Q., Xu M., Li J., Liu Y., Zhang J., Xu Y., Dong W. Clinical sequelae of COVID-19 survivors in Wuhan, China: a single-centre longitudinal study. *Clin. Microbiol. Infect*. 2021;27(1):89–95. doi: 10.1016/j.cmi.2020.09.023

37. Moreno-Pérez O., Merino E., Leon-Ramirez J.M., Andres M., Ramos J.M., Arenas-Jiménez J., Asensio S., Sanchez R., Ruiz-Torregrosa P., Galan I., … Gil J. Post-acute COVID-19 syndrome. Incidence and risk factors: A Mediterranean cohort study. *J. Infect*. 2021;82(3):378–383. doi: 10.1016/j.jinf.2021.01.004

38. Gaber T.A.Z.K., Ashish A., Unsworth A. Persistent post-covid symptoms in healthcare workers. *Occup. Med. (Lond)*. 2021;71(3):144–146. doi: 10.1093/occmed/kqab043

39. Kashif A., Chaudhry M., Fayyaz T., Abdullah M., Malik A., Anwer J.M.A., Inam S.H.A., Fatima T., Iqbal N., Shoaib K. Follow-up of COVID-19 recovered patients with mild disease. *Sci. Rep*. 2021;11(1):13414. doi: 10.1038/s41598-021-92717-8

40. Townsend L., Dowds J., O'Brien K., Sheill G., Dyer A.H., O'Kelly B., Hynes J.P., Mooney A., Dunne J., Ni Cheallaigh C., … Bannan C. Persistent poor health after COVID-19 is not associated with respiratory complications or initial disease severity. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2021;18(6):997–1003. doi: 10.1513/AnnalsATS.202009-1175OC

41. Seeßle J., Waterboer T., Hippchen T., Simon J., Kirchner M., Lim A., Müller B., Merle U. Persistent symptoms in adult patients 1 year after coronavirus disease 2019 (COVID-19): A prospective cohort study. *Clin. Infect. Dis*. 2022;74(7):1191–1198. doi: 10.1093/cid/ciab611

42. Cabrera Martimbianco A.L., Pacheco R.L., Bagattini Â.M., Riera R. Frequency, signs and symptoms, and criteria adopted for long COVID-19: A systematic review. *Int. J. Clin. Pract*. 2021;75(10):e14357. doi: 10.1111/ijcp.14357

43. Kamal M., Abo Omirah M., Hussein A., Saeed H. Assessment and characterisation of post-COVID-19 manifestations. *Int. J. Clin. Pract*. 2021;75(3):e13746. doi: 10.1111/ijcp.13746

44. Соколова Л.П. Изменения когнитивного статуса и нарколептический синдром в рамках постковидных нарушений. *Поведенч. неврол.* 2021;(2):40–46. doi: 10.46393/2712-9675_2021_2_40_46

Sokolova L.P. Cognitive status changes and narcoleptic syndrome in postcovid. *Povedencheskaya nevrologiya = Behavioural Neuroscience*. 2021;(2):40–46. [In Russian]. doi: 10.46393/2712-9675_2021_2_40_46

45. Некрасова Ю.Ю., Горшков К.М., Колесов Д.В., Борисов И.В., Канарский М.М., Архангельский Я.А., Ветшева М.С., Петрова М.В. Нейрокогнитивные нарушения у пациентов, перенесших COVID-19: патогенез и направления реабилитации. *Труд. пациент.* 2021;19(6):8–17. doi: 10.224412/2074-1005-2021-6-8-17

Nekrasova Yu.Yu., Gorshkov K.M., Kolesov D.V., Borisov I.V., Kanarsky M.M., Arkhangelsky Ya.A., Vetsheva M.S., Petrova M.V. Neurocognitive impair-

ments in post-COVID patients: pathogenesis and rehabilitation methods. *Trudnyy patsient = Difficult Patient*. 2021;19(6):8–17. [In Russian]. doi: 10.224412/2074-1005-2021-6-8-17

46. Житкова Ю.В., Хасанова Д.Р. Опыт лечения постковидных когнитивных нарушений (клиническое наблюдение). *Мед. сов*. 2022;16(11): 102–107. doi: 10.21518/2079-701X-2022-16-11-102-107

Zhitkova Yu.V., Khasanova D.R. Treatment experience of post-COVID cognitive impairment (clinical observation). *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2022;16(11):102–107. [In Russian]. doi: 10.21518/2079-701X-2022-16-11-102-107

47. Кабыш С.С., Карпенкова А.Д., Прокопенко С.В. Когнитивные нарушения и COVID-19. *Сиб. мед. обозрение*. 2022;(2):40–48. doi: 10.20333/25000136-2022-2-40-48

Kabysh S.S., Karpenkova A.D., Prokopenko S.V. Cognitive impairment and COVID-19. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie = Siberian Medical Review*. 2022;(2):40–48. [In Russian]. doi: 10.20333/25000136-2022-2-40-48

48. Deng J., Zhou F., Hou W., Silver Z., Wong C.Y., Chang O., Huang E., Zuo Q.K. The prevalence of depression, anxiety, and sleep disturbances in COVID-19 patients: a meta-analysis. *Ann. NY Acad. Sci.* 2021; 1486(1):90–111. doi: 10.1111/nyas.14506

49. Бойнова И.В., Katorova A.B., Токарева Н.Г. Факторы риска развития тревожно-депрессивных расстройств у пациентов, перенесших COVID-19. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2022;(4):3–9. doi: 10.17513/spno.31797

Boynova I.V., Katorova A.V., Tokareva N.G. Risk factors for developing of mixed anxiety-depressive disorder in patients that recovered from COVID-19. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education.* 2022;(4):3–9. [In Russian]. doi: 10.17513/spno.31797

50. Корабельникова Е.А. Тревожные расстройства в условиях пандемии COVID-19. *Мед. вестн. Сев. Кавказа*. 2021;16(1):79–85. doi: 10.14300/mnnc.2021.16022

Korabelnikova E.A. Anxiety disorders in the context of the COVID-19 pandemic. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of the North Caucasus*. 2021;16(1):79–85. [In Russian]. doi: 10.14300/mnnc.2021.16022

51. Morin C.M., Carrier J. The acute effects of the COVID-19 pandemic on insomnia and psychological symptoms. *Sleep Med*. 2021;77:346–347. doi: 10.1016/j.sleep.2020.06.005

52. Гуменюк Л.Н., Касаева Г.Р., Максимова П.Е. Инсомния, вызванная пандемией COVID-19, как медико-социальная проблема. *Междунар. научно-исслед. ж*. 2022;(5):114–116. doi: 10.23670/IRJ.2022.119.5.021

Gumenyuk L.N, Kasaeva G.R., Maksimova P.E. Insomnia caused by the COVID-19 pandemic as a medical and social problem. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal = International Research Journal*. 2022;(5):114–116. [In Russian]. doi: 10.23670/IRJ.2022.119.5.021

53. Мелехин А.И. Нарушения сна в период пандемии COVID-19: специфика, психологическое обследование и психотерапия. *Вестн. Удм. ун-та.* 2021;31(1):27–38. doi: 10.35634/2412-9550-2021-31-1-27-38

Melekhin A.I. Sleep disorders during the COVID-19 pandemic: specifics, psychological examination and psychotherapy. *Vestnik Udmurtskogo universiteta = Bulletin of the Udmurt University*. 2021;31(1):27–38. [In Russian]. doi: 10.35634/2412-9550-2021-31-1-27-38

54. Bhat S., Chokroverty S. Sleep disorders and COVID-19. *Sleep Med.* 2022;91:253–261. doi: 10.1016/j.sleep.2021.07.021

55. Borku Uysal B., Ikitimur H., Yavuzer S., Islamoglu M.S., Cengiz M. Case report: A COVID-19 Patient presenting with mild rhabdomyolysis. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 2020;103(2):847–850. doi: 10.4269/ajtmh.20-0583

56. Leung T.W., Wong K.S., Hui A.C., To K.F., Lai S.T., Ng W.F., Ng H.K. Myopathic changes associated with severe acute respiratory syndrome: A postmortem case series. *Arch. Neurol*. 2005;62(7):1113. doi: 10.1001/archneur.62.7.1113

57. Bagnato S., Boccagni C., Marino G., Prestandrea C., D'Agostino T., Rubino F. Critical illness myopathy after COVID-19. *Int. J. Infect. Dis.* 2020;99:276–278. doi: 10.1016/j.ijid.2020.07.072

58. Yang T., Li Z., Jiang L., Wang Y., Xi X. Risk factors for intensive care unit-acquired weakness: A systematic review and meta-analysis. *Acta Neurol. Scand*. 2018;138(2):104–114. doi: 10.1111/ane.12964

59. Gualtieri P., Falcone C., Romano L., Macheda S., Correale P., Arciello P., Polimeni N., de Lorenzo A. Body composition findings by computed tomography in SARS-CoV-2 patients: Increased risk of muscle wasting in obesity. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(13):4670. doi: 10.3390/ijms21134670

60. Wandrag L., Brett S.J., Frost G.S., Bountziouka V., Hickson M. Exploration of muscle loss and metabolic state during prolonged critical illness: Implications for intervention? *PLoS One.* 2019;14(11):e0224565. doi: 10.1371/journal.pone.0224565

61. Шилов С.Н. Постковидный синдром: поражения системы пищеварения и возможности профилактики. *Наука и Социум:* сб. тр. конф. АНО ДПО «СИППППИСР», Новосибирск, 19 марта – 14 мая 2022 года. Новосибирск, 2022; 157–160. doi: 10.38163/978-5-6046740-7-9_2022_157

Shilov S.N. Post-COVID syndrome: digestive system defects and opportunities for prevention. *Science and Society:* proc. conf. "SIPPPSW", Novosibirsk, March 19 – May 14, 2022. Novosibirsk, 2022; 157–160. [In Russian]. doi: 10.38163/978-5-6046740-7-9_2022_157

62. Яковенко Э.П., Яковенко А.В., Иванов А.Н., Агафонова Н.А. Патология пищеварительного тракта и печени при COVID-19. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол*. 2020;(4):19–23. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-176-4-19-23

Yakovenko E.P., Yakovenko A.V., Ivanov A.N., Agafonova N.A. Pathology of the digestive tract and liver in COVID-19. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya. = Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;(4):19–23. [In Russian]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-176-4-19-23

63. Садретдинова Л.Д., Ганцева Х.Х., Галина И.И., Тюрин А.В. Длительность сохранения симптомов со стороны желудочно-кишечного тракта в разные периоды коронавирусной инфекции. *Альм. клин. мед.* 2022;50(6):392–399. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-025

Sadretdinova L.D., Gantseva Kh.Kh., Galina I.I., Tyurin A.V. The duration of gastrointestinal symptom persistence at various periods of coronavirus infection. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50(6):392–399. [In Russian].doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-025

64. Топчий Т.Б., Ардатская М.Д., Буторова Л.И., Масловский Л.В., Минушкин О.В. Особенности состояния кишечника на фоне новой коронавирусной инфекции. *Терапевт. арх.* 2022;94(7):920–926. doi: 10.26442/00403660.2022.07.201768

Topchy T.B., Ardatskaya M.D., Butorova L.I., Maslovsky L.V., Minushkin O.V. Features of the intestine conditions at patients with a new coronavirus infection. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*. 2022;94(7):920–926. doi: 10.26442/00403660.2022.07.201768 . [In Russian].

65. Налетов А.В., Масюта Д.И., Чалая Л.Ф. Патогенетические основы синдрома раздраженного кишечника у пациентов, перенесших COVID-19. *Мать и дитя в Кузбассе.* 2021;(4):12–16. doi: 10.24412/2686-7338-2021-4-12-16

Naletov A.V., Masyuta D.I., Chalay L.F. Pathogenetic basis of irritable bowel syndrome in patients who have undergone COVID-19. *Mat' i ditya v Kuzbasse = Mother and baby in Kuzbass*. 2021;(4):12–16. [In Russian]. doi: 10.24412/2686-7338-2021-4-12-16

Сведения об авторах:

Агейкин Алексей Викторович, к.м.н., ORCID: 0000-0001-5092-4744, e-mail: ageykinav@yandex.ru
Усенко Денис Валериевич, д.м.н., ORCID: 0000-0001-5232-7337, e-mail: dusenko@rambler.ru
Горелов Александр Васильевич, д.м.н., проф., акад. РАН, ORCID: 0000-0001-9257-0171, e-mail: agorelov_05@mail.ru
Мельников Виктор Львович, д.м.н., ORCID: 0000-0002-2175-5547, e-mail: meib@pnzgu.ru
Афтаева Лариса Николаевна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4308-9597, e-mail: l.aftaeva@mail.ru
Милтых Илья Сергеевич, ORCID: 0000-0002-9130-3255, e-mail: i.miltykh@pnzgu.ru
Ботова Валерия Сергеевна, ORCID: 0009-0003-5389-5100, e-mail: valeriabotova00@mail.ru
Кикичева Алина Альбертовна, ORCID: 0009-0008-1886-9579, e-mail: kikicheva18@gmail.com
Лопатина Владлена Александровна, ORCID: 0009-0000-5759-0484, e-mail: lopatina.vladlena@mail.ru
Долгачев Максим Витальевич, ORCID: 0009-0008-2008-1852, e-mail: dolgachev08@mail.ru

Information about the authors:

Alexey V. Ageykin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-5092-4744, e-mail: ageykinav@yandex.ru
Denis V. Usenko, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-5232-7337, e-mail: dusenko@rambler.ru
Alexandr V. Gorelov, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0001-9257-0171, e-mail: agorelov_05@mail.ru
Victor L. Melnikov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-2175-5547, e-mail: meib@pnzgu.ru
Larisa N. Aftaeva, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4308-9597, e-mail: l.aftaeva@mail.ru
Ilia S. Miltykh, ORCID: 0000-0002-9130-3255, e-mail: i.miltykh@pnzgu.ru
Valeria S. Botova, ORCID: 0009-0003-5389-5100, e-mail: valeriabotova00@mail.ru
Alina A. Kikicheva, ORCID: 0009-0008-1886-9579, e-mail: kikicheva18@gmail.com
Vladlena A. Lopatina, ORCID: 0009-0000-5759-0484, e-mail: lopatina.vladlena@mail.ru
Maxim V. Dolgachev, ORCID: 0009-0008-2008-1852, e-mail: dolgachev08@mail.ru

Поступила в редакцию 26.04.2024
После доработки 15.07.2024
Принята к публикации 30.09.2024

Received 26.04.2024
Revision received 15.07.2024
Accepted 30.09.2024

УДК 616.928.8 DOI: 10.18699/SSMJ20240602
Обзор литературы / Review article

Филовирусные инфекции: наука и инновации

Л.Н. Афтаева, В.Л. Мельников, А.В. Арехина

Пензенский государственный университет
440026, г. Пенза, ул. Лермонтова, 3

Резюме

Эпидемии филовирусных геморрагических лихорадок последних лет демонстрируют рост заболеваемости, сокращение интервалов между вспышками, возникновение риска распространения инфекции на неэндемичные территории. Инфекции, вызванные филовирусами, сопряжены с высокими значениями летальности по причине сложности патогенеза, многообразия путей распространения, тяжелыми и зачастую необратимыми клиническими проявлениями. В обзоре собраны сведения, отражающие современные представления о таксономии и устройстве генома филовирусов, эпидемиологии, патогенезе, клинической картине, диагностике, способах лечения и иммунопрофилактики геморрагических лихорадок. Согласно последнему пересмотру таксономии филовирусов Международным комитетом по таксономии вирусов (МКТВ), семейство включает восемь родов, 15 видов и 16 вирусов. Геном представлен отрицательной цепью РНК, которая включает семь генов, кодирующих семь структурных белков. В ареал инфекций входят Африка, Южная и Центральная Европа, Юго-Восточная Азия, Китай. Природным резервуаром филовирусов являются плодоядные млекопитающие крыланы. В основе инфекционного процесса лежит аберрантная выработка провоспалительных цитокинов. Заболевание протекает с последовательной сменой трех периодов: продромального, периода генерализации и терминального. Основным методом диагностики филовирусных инфекций признана ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Этиотропная терапия основана на применении моноклональных антител против вирусного гликопротеина. Представлены сведения о двух вакцинах, одобренных для применения ВОЗ, и о вакцинах, которые разработаны и зарегистрированы на территории Российской Федерации и Китая и разрешены к применению.

Ключевые слова: филовирусы, вирус Эбола, вирус Марбург, вирус Лловиу, таксономия, вирусный геном, репликация, эпидемиология, вакцинопрофилактика.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Афтаева Л.Н., e-mail: l.aftaeva@mail.ru
Для цитирования: Афтаева Л.Н., Мельников В.Л., Арехина А.В. Филовирусные инфекции: наука и инновации. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):17–31. doi: 10.18699/SSMJ20240602

Filovirus infections: science and innovation

L.N. Aftaeva, V.L. Melnikov, A.V. Arekhina

Penza State University
440026, Penza, Lermontova st., 3

Abstract

Epidemics of Filovirus Hemorrhagic Fevers demonstrate an increase in incidence, a reduction in the intervals between outbreaks, the emergence of a risk of infection spreading to non-endemic regions in recent years. Filovirus infections are associated with high mortality due to the complexity of pathogenesis, the variety of spread routes, and severe and often irreversible clinical manifestations. The review contains information reflecting modern ideas about the taxonomy and structure of the genome of filoviruses, epidemiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, methods of treatment and immunoprophylaxis of hemorrhagic fevers. According to the latest revision of family *Filoviridae* taxonomy by the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), the family includes eight genuses, 15 species and 16 viruses. The genome is represented by a negative RNA strand that includes seven genes encoding seven structural proteins. The area of infections includes Africa, South and Central Europe, Southeast Asia, China. The natural reservoir of filoviruses is the fruit-bats mammals. The infectious process is based on the aberrant production of proinflammatory cytokines. There are three periods of the disease: prodromal, generalization and terminal. The main method for diagnosing filovirus

infections is recognized as a reverse transcription-polymerase chain reaction in real time. Etiotropic therapy is based on the use of monoclonal antibodies against viral glycoprotein. The World Health Organization has approved two vaccines against Filovirus Infections for use. Several vaccines approved for use have been developed and registered on the territory of the Russian Federation and China.

Key words: filoviruses, Ebola virus, Marbur gvirus, Lloviu cuevavirus, taxonomy, viral genome, replication, epidemiology, vaccinal prevention.

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

Correspondence author: Aftaeva L.N., e-mail: l.aftaeva@mail.ru

Citation: Aftaeva L.N., Melnikov V.L., Arekhina A.V. Filovirus infections: science and innovation. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):17–31. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240602

Введение

Филовирусные геморрагические лихорадки представляют собой группу особо опасных инфекций, вызываемых РНК-содержащими оболочечными вирусами семейства Filoviridae [1]. Первая вспышка филовирусных инфекций произошла в 1967 г. в Югославии (Белград) и Германии (Франкфурт, Марбург). Р. Зигерт впервые выделил вирус в лаборатории г. Марбург. Впоследствии ограниченные вспышки болезни Марбург отмечались в Африке. В 1976 г. в Судане и Заире примерно в одно и то же время произошли две новые вспышки, выделенного возбудителя отнесли к новому виду филовирусов, по месту обнаружения обозначив вирусом Эбола. В декабре 2013 г. в Гвинее возникла эпидемия лихорадки Эбола, крайне стремительно распространившаяся на соседние страны. В 2014 г. ВОЗ объявила геморрагическую лихорадку Эбола международной угрозой общественному здоровью. Эпидемия завершилась только к 2016 г. [1–5]. В последние годы ВОЗ фиксирует вспышки филовирусных геморрагических лихорадок на разных территориях Африки (табл. 1).

Низкая обеспеченность препаратами для патогенетической терапии (из-за которой преимущество отдано симптоматическому лечению) обусловлена ограниченными возможностями для углубленных медико-биологических исследований в эндемичных странах. Более того, работа с высококонтагиозным вирусным материалом требует максимальных условий защиты, создание которых может быть затруднено [4, 13–15].

Таксономия

Семейство филовирусов является одним из восьми семейств, отнесенных к порядку Mononegavirales [16], и включает восемь родов и 15 видов для 16 вирусов. Последний вариант таксономии филовирусов утвержден в апреле 2023 г. (табл. 2) [17].

Структура вирусных частиц и геном филовирусов

Для вирионов филовирусов характерна нитчатая структура (от лат. filum – «нить»). Выделяют прямые, сферические, изогнутые конфигурации. Размер вирусной частицы достигает 14×80 нм [13]. В основе строения вирусного нуклеокапсида лежит принцип спиральной симметрии [13, 21].

Геном вирусов представлен отрицательной цепью РНК, которая включает семь генов, ответственных за кодировку семи структурных белков. Гены расположены в следующей последовательности [13, 22]: нуклеопротеин (NP), кофактор РНК-зависимой РНК-полимеразы (VP35), матричный белок (VP40), гликопротеин (GP), белок активации репликации-транскрипции (VP30), второстепенный матричный белок (VP24), РНК-зависимая РНК-полимераза (L). Геном достаточно длинный (≈19 Кб), содержит перекрывающиеся гены, уникальные сигналы инициации и терминации транскрипции, открытую рамку считывания, которая кодирует уникальный структурный белок – VP24, не имеющий гомологов в других вирусах, относящихся к мононегавирусам [16]. Геном ортоэболавирусов дополнен еще одним геном – *sGP*. Белок sGP представляет собой секретируемую неструктурную форму гликопротеина и служит своеобразным маркером лихорадки Эбола [4]. Еще одним важным свойством ортоэболавирусов является редактирование РНК, выступающее механизмом диверсификации вирусов и фактором вирулентности [23].

Механизмы внутриклеточной репродукции филовирусов

Проникновение филовирусов в клетки происходит в ходе последовательной смены трех фаз: прикрепления, эндоцитоза и слияния [2]. В настоящее время механизм прикрепления вируса к клетке не исследован во всей полноте. При этом

Таблица 1. *Вспышки филовирусных инфекций, зарегистрированные в период с февраля 2021 г. по июнь 2023 г.*

Table 1. *Outbreaks of filovirus infections reported between February 2021 and June 2023*

География распространения	Период	Возбудитель	Зарегистрированные случаи заболевания		
			Общее число случаев заболевания / подтвержденных / вероятных	Число случаев выздоровления	Число смертельных исходов (коэффициент летальности, %)
Демократическая Республика Конго. Медико-санитарные зоны: Биена, Музиенене, Катва, Бутембо (провинция Северное Киву) [6]	7.02.2021–03 2021	Ebola virus	12 / 11 / 1	6	6 (50)
Гвинейская Республика (префектура Нзерекоре, регион Нзерекоре) [7]	14.02.2021–19.06.2021	Ebola virus	23 / 16 / 7	11	12 (52)
Демократическая Республика Конго (Мбандак) [8]	23.04.2022	Ebola virus	Не уточнено / 2 / –	Не уточнено	2 (–)
Республика Гана (области Ашанти и Саванна, Западный регион) [9]	07.07.2022–16.09.2022	Marburg virus	3 / 3 / –	1	2 (67)
Республика Уганда (округа Буньягабу, Джинджа, Кагади, Кампала, Кассанда, Кьегегва, Масака, Мубенде и Вакисо) [10]	20.09.2022–11.01.2023	Sudan virus	164 / 142 / 22	87	77 (47)
Республика Экваториальная Гвинея [11]	13.02.2023–08.06.2023	Marburg virus	40 / 17 / 23	5	35 (75 среди подтвержденных)
Объединенная Республика Танзания (район Букоба области Кагера) [12]	21.03.2023–02.06.2023	Marburg virus	9 / 8 / 1 (индексный пациент)	3	6 (67)

установлено, что главным детерминантом восприимчивости клеток к филовирусной инфекции является белок NPC-1 (холестериновый транспортер Ниманна–Пика C1) [22, 24]. В реализации всех этапов проникновения филовирусов в клетку большую роль играет действие ферментных систем хозяина [2]. Связывание с поверхностными рецепторами клеток производит вирусный GP. Контакт гликопротеина с NPC-1 или HAVCR1/TIM-1 стимулирует активность эндосомальных цистеиновых протеаз хозяина, под действием которых GP расщепляется, и его фиксация к рецепторам укрепляется. Более того, действие ферментов способствует активации GP.

По завершении прикрепления к клетке вирионы подвергаются клеточному эндоцитозу. Предполагают, что протеолитическое расщепление вирусного GP1 происходит и внутри эндоцитозных пузырьков под действием ранее упомянутых ферментов. Далее вирусные геном и белки – NP, VP35, VP30, L – высвобождаются в клеточный цитозоль, инициируя репликацию. Активность VP35 и L приводит к образованию мРНК, служащей образцом для репликации РНК вирусов [13]. В эндоплазматическом ретикулуме синтезируется GP, который подвергается последовательным посттрансляционным преобразованиям. Аппарат Гольджи расщепляет вирионный GP, который транспортируется к мультивезикулярным телам и к мембране клетки для сборки новых вирионов [2]. Непосредственно сборку вирионов филовирусов и регуляцию их почкования производит матричный белок VP40. Второстепенный матричный белок VP24 также включается в процессы сборки, участвуя в построении нуклеокапсида и контролируя механизмы транскрипции и трансляции [13, 22]. Объединение синтезированных элементов воедино происходит на клеточной мембране [13]. Нуклеокапсиды готовых вирусных частиц внедряются в мембрану, подконтрольную VP40. Матричный белок стимулирует почкование вирионов, его усиливают белки

Таблица 2. *Таксономия семейства* Filoviridae

Table 2. *Taxonomy of* Filoviridae *family*

Название рода	Название вида	Название вируса (сокращение)
Orthoebolavirus	*Orthoebolavirus bombaliense*	Bombali virus (BOMV)
	Orthoebolavirus bundibugyoense	Bundibugyo virus (BDBV)
	Orthoebolavirus restonense	Reston virus (RESTV)
	Orthoebolavirus sudanense	Sudan virus (SUDV)
	Orthoebolavirus taiense	Tai Forest virus (TAFV)
	Orthoebolavirus zairense	Ebola virus (EBOV)
Orthomarburgvirus	*Orthomarburgvirus marburgense*	Marburg virus (MARV) Ravn virus (RAVV)
Cuevavirus	*Cuevavirus lloviuense*	Lloviu virus (LLOV)
Dianlovirus	*Dianlovirus menglaense*	Měngla virus (MLAV)
Striavirus	*Striavirus antennarii*	Xīlǎng virus (XILV)
Thamnovirus	*Thamnovirus kanderense*	Kander virus (KNDV)
	Thamnovirus percae	Fiwi virus (FIWIV)
	Thamnovirus thamnaconi	Huangjiāo virus (HUJV)
Tapjovirus	*Tapjovirus bothropis*	Tapajos virus (TAPV)
Oblavirus	*Oblavirus percae*	Oberland virus (OBLV)
Loebvirus	*Loebvirus percae*	Lotschberg virus (LTBV)

Примечание. Lloviu virus обнаружен в 2002 г. в пещере Куэва-де-Вилья-Лус в Испании у летучих мышей *Miniopterus schreibersii* [13, 16, 18] и считается не патогенным для человека [4, 19, 20]. Род *Loebvirus* предложен для рассмотрения летом 2023 г. и нуждается в оценке Международного комитета по таксономии вирусов [17].

NP, GP, VP24. Нуклеокапсиды ассоциируются с латеральной поверхностью клеточной мембраны, которая энкапсидирует их, после чего вирионы филовирусов высвобождаются на поверхность клетки и их выход завершается [2, 25].

Эпидемиология

Филовирусные лихорадки являются зоонозами. В ареал инфекций входят Африка, Южная и Центральная Европа, Юго-Восточная Азия, Китай. Важно отметить, что животное – резервуар вирусов – внешне абсолютно здорово, однако выступает вирусоносителем и вирусовыделителем [2, 19]. На сегодняшний день природным резервуаром филовирусов признаны представители отряда рукокрылых (Chiroptera) – крыланы. Ранее выдвинуто предположение, согласно которому резервуаром инфекции считали летучих мышей, отнесенных к этому же отряду. Однако высокая восприимчивость последних к филовирусным инфекциям, установленная относительно недавно, создает основание считать их временными хозяевами возбудителей, способными передавать инфекцию другим животным [19]. Определение антител к филовирусам у некоторых видов летучих мышей рода *Rousettus* стало причиной рассмотрения их в качестве резервуара инфекций [5]. У насекомоядных летучих мышей *Rousettus* и *Eonycteris* в Китае обнаружены генетически дивергентные филовирусы, продемонстрировавшие 61–99%-ю гомологию с родом *Dianlovirus* [2]. Крыланы – обитающие в тропических лесах плодоядные млекопитающие из семейства Pteropodidae (крылановые), внутри которого выделены три вида: *Hypsignathus monstrosus*, *Epomops franqueti* и *Myonycteris torquata* [4]. Параметры строения крыланов, в частности, длина тела до 40 см и масса до 1,5 кг, делают их мясо пригодным для использования в пищу, что служит значимым путем распространения инфекции [5]. Эти особенности создают разницу между летучими мышами и крыланами, поэтому последние отнесены к отдельному подотряду [19].

Крыланы и летучие мыши выделяют вирус в окружающую среду со слюной, мочой, испражнениями. Крыланы сбрасывают с деревьев недоеденные фрукты, подбираемые другими животными (например, антилопами), которых люди отлавливают на пропитание. Широкое распространение получает приготовление разнообразных блюд непосредственно из крыланов [4, 19]. Человек, высшие приматы (Anthropoidea), дикобразы, антилопы выступают промежуточными хозяевами вирусов. Подчеркивается, что заражение именно человека и приматов приводит к развитию геморрагической лихорадки, которая характеризуется высоким показателем летальности [2, 19]. В популяции приматов наибольшей чувствительностью к возбуди-

телю обладают представители человекообразных обезьян, в частности гориллы *Gorilla gorilla* и шимпанзе *Pan troglodytes* [5].

Выделяют следующие механизмы передачи филовирусных инфекций человеку: контактный, фекально-оральный и аспирационный. Механизм первичного инфицирования реализуется при контакте с выделениями зараженных животных или при употреблении в пищу их мяса [2]. Часто не представляется возможным определить условия, при которых произошло инфицирование самого первого больного [4]. В дальнейшем распространение инфекции среди людей происходит при непосредственном контакте с кровью и другими жидкостями и выделениями больного. Кроме того, заражению способствует контакт с предметами, контаминированными вирусом [4]. Установлено, что наиболее тяжелые быстропрогрессирующие формы лихорадок развиваются при использовании нестерильного медицинского инструментария [3]. Известно, что участие в традиционных похоронных ритуалах (особенно при условии пренебрежения мерами безопасности при захоронении) также способствует распространению инфекции ввиду высокой контагиозности тел умерших [3, 4]. К возможным путям распространения филовирусов отнесен воздушно-капельный [2, 3, 26]. К.В. Жданов и соавт. отмечают повышение вероятности заражения при выделении мокроты в ходе кашля и чихания на расстоянии примерно 1 м [4]. Большое значение в эпидемиологическом плане приобрело обнаружение вирионов филовирусов в слезной и семенной жидкостях, в ткани печени, полученной при биопсии, по истечении нескольких недель и даже месяцев после клинического выздоровления. Данная находка создает необходимость тщательного наблюдения за реконвалесцентами [2].

Интерес представляет систематизация вспышек филовирусных инфекций, представленная в исследовании М.Ю. Щелканова и соавт. Авторами выделены спелеологический, лесной, деревенский и городской типы вспышек [19]. Важной отличительной чертой эпидемий филовирусных лихорадок выступает способность возбудителя даже после однократного заражения человека спровоцировать масштабную вспышку ввиду реализации контактного пути распространения инфекции [5]. Д.В. Транквилевский и соавт. подчеркивают необходимость сплоченной деятельности государственных структур, направленной на эпидемиологический надзор и контроль [27].

Патогенез

Входными воротами инфекции служат поврежденная кожа (в том числе микротравмы), слизистая оболочка дыхательных путей, полости рта, глаз [2–4]. Макрофаги, моноциты и дендритные клетки являются первичными мишенями филовирусов. Именно эти клетки, по лимфатическим сосудам мигрируя в регионарные лимфатические узлы и высвобождая вирусы в систему кровообращения, инициируют диссеминацию и инфицирование резидентных макрофагов печени, селезенки, лимфатических узлов и других органов системы мононуклеарных фагоцитов [4, 28–30]. В названных органах происходят репликация и накопление филовирусов, после чего множество инфицированных клеток мигрирует в кровь с развитием виремии и проникновением вирусов в другие органы и ткани [4]. В селезенке и лимфоузлах возникают множественные некрозы фолликулов, зачастую сочетающиеся с гиперплазией элементов ретикулоэндотелия [2, 29]. К органам-мишеням «второго порядка», в клетки которых филовирусы поступают из крови, относятся печень, надпочечники, органы желудочно-кишечного тракта, скелетные мышцы, почки и головной мозг [28]. Наибольшим тропизмом филовирусы обладают к клеткам коркового слоя надпочечников и эндотелия сосудов, гепатоцитам, фибробластам, нескольким типам эпителиальных клеток [4]. Повреждение органов-мишеней проявляется в генерализованных очаговых некрозах с элементами воспаления, диффузными геморрагиями. В целом тип поражения, ассоциированного с филовирусами, можно обозначить как «разжижение» тканей [2, 4]. Поражение гепатоцитов приводит к нарушению белково-синтетической функции печени, в частности, к снижению выработки факторов свертывания крови, что проявляется коагулопатией. Инфицированные моноциты и макрофаги сверхэкспрессируют тканевый фактор, активируя каскад свертывания крови, что приводит к диссеминированному внутрисосудистому свертыванию (ДВС) крови [4, 31]. Некроз коркового вещества надпочечников обусловливает недостаток ферментов, необходимых для синтеза кортикостероидов. В результате сниженного синтеза глюко- и минералокортикоидов развиваются артериальная гипотензия, гипонатриемия и гиповолемия [4]. В терминальной стадии заболевания вследствие неуправляемого действия воспалительных цитокинов происходит повреждение эндотелиоцитов, что приводит к выходу жидкости из сосудистого русла и усугублению гиповолемии [42, 8].

Механизмы реализации иммунного ответа макроорганизма, приводящие к изменениям на молекулярном уровне, в настоящее время неизвестны. Однако установлено, что в основе инфекционного процесса, склонного к генерализации

с системным поражением, лежит аберрантная выработка провоспалительных цитокинов [28]. Патогенность филовирусов обусловлена их способностью к быстрой репликации, секрецией вирусного GP и лизисом клеток системы мононуклеарных фагоцитов. Цитокины (ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, хемокины), высвобождающиеся в кровь из фагоцитов, эндотелиальных и тучных клеток, разрушенных филовирусами, стимулируют иммунный ответ хозяина. Происходит активация системы Т-лимфоцитов, каскадно активируется система комплемента; в инфекционный процесс вовлекается свертывающая система крови [2]. Следует отметить, что клетки организма остаются жизнеспособными и функционально активными и после репликации в них вируса. Однако в ходе высвобождения новых вирионов из клеток вирусный GP фиксируется на наружной поверхности клеточной мембраны, становясь «мишенью» для Т-лимфоцитов. Последние атакуют GP, тем самым разрушая собственные клетки организма с формированием зон некроза и большей продукцией провоспалительных цитокинов [2].

Развивающийся на фоне иммунной дисрегуляции «цитокиновый шторм» способствует углублению нарушений на уровне микроциркуляции, гемодинамики, гемостаза и метаболизма [2, 29]. Активация Т-лимфоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов вновь приводит к нерегулируемому выбросу в кровь воспалительных цитокинов и других биологически активных веществ, способствуя тем самым становлению «порочного круга» патогенеза филовирусных лихорадок. Прогрессирует инфекционно-токсический шок [2]. Особая роль в патогенезе отведена ФНО-α. Как отмечено выше, именно лимфоидная ткань наиболее подвержена некрозу и истощению, поскольку инфицируется первой. Данная особенность обусловливает прогрессирующую лимфопению, однако лимфоциты не инфицируются. Снижение их количества обусловлено апоптозом. Предполагают, что ФНО-α, связанный с проапоптотическими лигандами, усиливает апоптоз [4, 21, 30]. Кроме того, обнаружено прямое угнетающее воздействие филовирусного гликопротеина на лимфоциты. Три параллельных процесса – апоптоз лимфоцитов некротизированной ткани, подавление функций лимфоцитов и активация сохранных лимфоцитов с выработкой цитокинов, развивающиеся одновременно, обусловливают несовершенство иммунного ответа [4].

Клиническая картина

В течении инфекционного процесса выделяют три периода [2, 28]: продромальный, или период инициации, период генерализации и терминальный период, или исход заболевания. Инкубационный период зависит от особенностей конкретного возбудителя и пути воздействия, достигает 3–21 суток, в среднем длится от 5–8 до 10 суток [2, 4, 28]. Продромальный период клинически неспецифичен и характеризуется возникновением гриппоподобного синдрома на 1–4-е сутки с момента заражения. К основным проявлениям относятся лихорадка и озноб, головная и мышечно-суставная боль, астения, анорексия. В 50–75 % случаев развиваются желудочно-кишечные симптомы, в частности, тошнота, рвота и диарея [2, 4, 28].

Второй период заболевания, обозначенный В.А. Маркиным как период генерализации, в работе L.C. Dupuy et al. условно подразделен на раннюю и позднюю фазы. В целом продолжается с 5-х по 13-е сутки [2, 28]. Ранняя фаза заболевания характеризуется усугублением желудочно-кишечных симптомов: появляется боль в животе, усиливаются рвота и диарея, что приводит к выраженной дегидратации. Возможны боль в груди, одышка, затрудненное глотание, судорожный синдром [28]. Поздняя фаза генерализации наступает по истечении первой недели с момента заболевания и отличается возникновением макуло-папулезной сыпи – характерного признака филовирусной инфекции. Сыпь покрывает кожу шеи, лица, верхних конечностей и склонна к шелушению. Развивается геморрагический синдром, проявляющийся петехиями и экхимозами, кровотечением из десен, субконъюнктивальным кровоизлиянием, меленой, кровавой рвотой или кашлем, мокнутием из мест венепункции. В ряде случаев возникает неврологическая симптоматика и изменяется психический статус пациента: характерны энцефалит, спутанность сознания, бред, раздражительность. Выражены лимфаденопатия и отечный синдром [2–4, 28].

Клиническая картина терминального периода филовирусных инфекций разворачивается с 13–14-х суток от начала заболевания. Характер иммунного ответа, тяжесть поражения функциональных систем и эффективность проводимого лечения определяют исход патологического процесса [2]. Характерны тяжелый ДВС-синдром, при котором одновременно возникают некупируемые носовые, маточные, желудочно-кишечные кровотечения, и прогрессирующий синдром полиорганной недостаточности. В крайне тяжелой ситуации развивается инфекционно-токсический шок, и смерть пациента наступает в течение 7–16 дней, наиболее часто – в течение 8–9-го дня [2–4, 28, 31].

В случае раннего и сильного иммунного ответа с нарастанием уровня специфических иммуноглобулинов классов M и G возможно выздоров-

ление пациента. Важным его признаком является прекращение лихорадки в период между 6-м и 11-м днем заболевания [4]. Период реконвалесценции может продолжаться 3–4 недели [3]. M.S. Bramble et al. удалось определить у выздоровевших от лихорадки Эбола сывороточные нейтрализующие антитела не только против видов рода *Orthoebolavirus*, но и против MARV [32].

Устойчивая и неконтролируемая активация иммунного ответа и воспаление, которые прогрессировали в период разгара заболевания, после устранения виремии оставляют отдаленные клинические последствия у реконвалесцентов [28]. К таким последствиям относятся астенический синдром, мышечно-суставная боль, алопеция, снижение слуха и шум в ушах, ухудшение памяти, тревожно-депрессивный синдром, сексуальная дисфункция. Наиболее частыми осложнениями филовирусных геморрагических лихорадок являются миелит, увеит, гепатит и психоз [3, 4, 28]. В исследовании P.C. Henwood et al. дана оценка характера течения филовирусных инфекций у беременных пациенток на примере заболевания лихорадкой Эбола. Ранее выдвинутое предположение о том, что беременные женщины подвергаются более высокому риску смерти, не подтверждено; среди 59 беременностей, протекавших с лихорадкой Эбола, 47 случаев (80 %) составили мертворождения или выкидыши; в 12 случаях (20 %) наблюдалось живорождение, однако все новорожденные умерли в течение первых 19 дней жизни [33].

Диагностика

Филовирусы отнесены к возбудителям I группы биологической опасности. В настоящее время ведется разработка методов быстрой доступной диагностики, которые должны быть воспроизводимы в полевых условиях [13, 34]. Главным методом диагностики филовирусных инфекций служит ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени. Метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью в идентификации вирусной РНК [13, 35].

В конце 2014 г. компания Altona GmbH представила набор для ОТ-ПЦР RealStar® Filovirus Screen RT-PCR Kit и набор для определения только вируса Заир – RealStar® Zaire Ebolavirus RT-PCR Kit, одобренные ВОЗ [31, 36]. Набор RealStar® Filovirus Screen RT-PCR Kit предназначен для определения широкого спектра филовирусов: EBOV, SUDV, TAFV, BOMV, RESTV, MARV, RAVV. РНК-вирусы отличаются значительной генетической изменчивостью, что затрудняет их обнаружение. Для решения данной проблемы применяются специфические праймеры, направленные на консервативную область вирусного гена *L* [13, 34]. T. Rieger et al. отмечают, что оба набора были апробированы в полевых условиях в период вспышки лихорадки Эбола в Западной Африке. Установлено, что наборы Filovirus Screen позволяют выявлять заявленные вирусы и демонстрируют высокую аналитическую чувствительность [34]. Зарегистрированы системы «Амплисенс EBOV(Zaire)-Fl» (2014 г.) и ОМ-Скрин-Эбола Заир/Эбола Судан/Марбург-РВ (2016 г.), продемонстрировавшие высокую диагностическую ценность [36]. Наряду с традиционной методикой ОТ-ПЦР возможно использование автоматической ОТ-ПЦР, которая позволяет производить анализ без участия оператора. К одобренным ВОЗ относятся система GeneExpert Ebola assay (США) и наборы FilmArray NGDS BT-E и FilmArray Biothreat-E test (США) [36].

В качестве метода, который способен продемонстрировать высокую эффективность в диагностике филовирусных инфекций, также рассматривался ИФА. Однако опытным путем отмечены ограничения его применения. Установлено, что IgM начинают выявляться у подавляющего числа пациентов на 10–29-е сутки после клинической манифестации. IgG определяются с 19-х суток и до 749-х суток после развития клинической картины, к моменту возможной смерти пациента. Подобные особенности иммунного ответа обусловливают необходимость постановки ИФА в оптимальное время с целью снижения доли ложноотрицательных результатов. Кроме того, исследование требует проведения работ в лабораториях с BSL-4 (Biosafety level 4), что крайне дорого для стран, эндемичных по филовирусным лихорадкам [36]. Исходя из особенностей применения ИФА, сегодня метод относят к скрининговым для изучения сероконверсии в популяции, применяют для подтверждения диагноза или при ретроспективной диагностике [36]. Однако в 2020 г. ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии (ГНЦ ВБ) “Вектор”» представил сведения о получении рекомбинантных плазмид, которые содержат гены, кодирующие главные антигенные детерминанты вируса Марбург – белки VP40, NP и GP. По мнению авторов, возможно применение полученных белков для создания препаратов моноклональных антител, необходимых для построения тест-систем для ИФА [37].

Особое значение придается вопросу поддержания и сохранения штаммов филовирусов, используемых для создания диагностических и медицинских иммунобиологических препаратов. На базе Республиканского научно-практического центра эпидемиологии и микробиологии (Белоруссия) восстановлен EBOV, который долгое вре-

мя хранился в Специализированной коллекции, с использованием перевиваемой культуры клеток Vero E6. При исследовании выделенного вируса установлены его инфекционная активность и аутентичность [38]. Исследование M.M. Neto et al. сконцентрировано на оценке лиофилизации как эффективного метода долговременного хранения филовирусов. Авторы отмечают, что лиофилизированные псевдотипические вирусы способны храниться в бытовом холодильнике не менее двух лет; возможно транспортировать вирусный материал при комнатной температуре даже в теплом климате. С такими вирусами безопасно обращаться при исследовании тропизма, при оценке вакцин или проведении серологического надзора. Кроме того, метод может заменить мощные морозильники (–70/80 °C) и дорогостоящую транспортировку [35].

Лечение

Терапия филовирусных инфекций традиционно подразделяется на этиотропную и патогенетическую. С целью ликвидации вирусного воздействия в последнее время применяются моноклональные антитела против вирусного GP. ВОЗ рекомендованы два препарата [13]: mAb114 (ансувимаб, эбанга) – полностью человеческое моноклональное антитело, связывающее рецепторы GP и блокирующее его контакт с рецепторами NPC-1; REGN-EB3 (инмазеб) – комбинация полностью человеческих моноклональных антител атолтивимаба (REGN3470), мафтивимаба (REGN3479) и одесивимаба (REGN34 7 1), направленных непосредственно против гликопротеина. A. Sprecher et al. сообщили, что комбинация MBP431 (коктейль из двух моноклональных тел) и ремдесивира обеспечивает защиту, которая превосходит любое лечение в отдельности [39]. В ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России получена панель моноклональных антител, специфически связывающихся с гликопротеином EBOV. В ходе проведения непрямого ИФА отобраны два наиболее перспективных клона последних – 2c8 и 6g3. Установлено, что внутривенное введение смеси указанных моноклональных антител в дозе 50 мг/кг через 24 ч после инфицирования обеспечивает 100%-ю выживаемость нечеловеческих приматов [40].

Противовирусной активностью обладает ряд природных субстанций, которые блокируют взаимодействие филовирусов с клеточной мембраной хозяина [41]. Н.Н. Беседнова и соавт. отмечают, что наибольшей активностью отличаются лектины из морских гидробионтов: циановирин-N (CVN), выделенный из цианобактерий *Nostoc ellipsosporum*, и сцитовирин (SVN), мономерный белок из цианобактерии *Scytonema varius* [42]. Заслуживает внимания возможность применения групп препаратов, которые первоначально предназначены для лечения заболеваний иного профиля. В частности, такие психотропные средства, как трифлюоперазин, хлорпромазин, аденозины и др., ингибируют филовирусную репликацию, стимулируют интерфероногенез, хотя и не обладают вирулицидным действием [41]. Блокатор кальциевых каналов бепридил демонстрирует антифиловирусную активность в мышиной модели болезни Марбург [43]. Антиаритмические препараты амиодарон, дронедарон, верапамил также подавляют проникновение филовирусов в клетку. Особое внимание уделяют амиодарону и его метаболиту – MDEA, механизм действия которых основан на нарушении эндосомального процессинга [44, 45].

Канадская биофармацевтическая компания Tekmira Pharmaceutical Corp. разработала препарат TKM-Ebola – комбинацию интерферирующих РНК, которые нацелены на L-протеин РНК-полимеразы вируса, VP24 и VP35 [13, 46]. F. Wrensch et al. отметили, что трансмембранные белки, индуцированные интерфероном (IFITM), могут ограничивать проникновение ортоэболавирусов [47]. Патогенетическая терапия заключается в устранении проявлений ДВС-синдрома, интоксикационного и геморрагического синдромов, а также в профилактике ассоциированных инфекций и повышении иммунорезистентности [46].

Профилактика

Преобладающим в последние годы направлением конструирования вакцин для профилактики филовирусных инфекций является построение вакцины на основе вирусного вектора [13, 26, 41, 46,]. Именно вектор (а не специфический антигенный материал) в составе вакцин определяет характеристики препарата, тип и напряженность формируемого иммунитета, безопасность и технологию производства [41].

Для экстренной иммунопрофилактики болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ), разработана вакцина Ervebo, одобренная ВОЗ в 2019 г. Препарат изготовлен на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита (rVSV-ZEBOV) и продемонстрировал 100%-ю эффективность в ходе клинических исследований, проводившихся с участием 7651 добровольца в 2014–2016 гг. в Гвинейской Республике во время эпидемии БВВЭ. rVSV-ZEBOV оказывала действие по истечении 6–21 суток после иммунизации. Результативной оказалась неотложная вакцинация Ervebo

3775 человек. Титры специфических иммуноглобулинов достигали максимальных значений на 28-е сутки после введения препарата. Важно, что вакцина эффективна только против вирусов вида *Orthoebolavirus zairense* [48].

В 2021 г. ВОЗ одобрила двухкомпонентную векторную вакцину Zabdeno/Mvabea. Это единственный вакцинный препарат против БВВЭ, разрешенный к применению у детей от 1 года. Компонент Zabdeno построен на базе рекомбинантного аденовируса человека 26-го серотипа и несет ген гликопротеина EBOV. Компонент Mvabea включает преобразованные вирусные частицы осповакцины Анкара и несет гены гликопротеинов EBOV, SUDV, нуклеопротеинов TAFV и MARV. Введение Zabdeno и Mvabea производится в режиме прайм-буст, интервал составляет 8 недели. В I фазу клинических испытаний вакцины у взрослых (США, Великобритания, Африка) определили высокий титр специфических иммуноглобулинов при схеме вакцинации с промежутком в 29 и 57 суток. Иммуногенность и безопасность препарата у детей установили в III фазе испытаний (Сьерра-Леоне, 2017–2018 гг.) [48]. В Китае изобретена и одобрена к применению вакцина на базе рекомбинантного аденовируса человека 5-го серотипа (Ad5-EBOV). В ходе клинических испытаний в Сьерра-Леоне установлено, что специфический иммунный ответ определяется по истечении 14 суток после однократной иммунизации. Широкое применение препарата может быть ограничено ввиду наличия в популяции предсуществующего иммунитета к Ad5 [48].

В Российской Федерации зарегистрирована вакцина на основе пептидных антигенов «ЭпиВакЭбола», разработанная в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Активными компонентами препарата выступают химически синтезированные эпитопные фрагменты гликопротеина EBOV, адсорбированные на гидроксиде алюминия [48–51]. В ходе I фазы клинических исследований установлено, что двукратное введение препарата в дозе 100 мкг/0,5 мл с интервалом в 21 день приводит к наибольшему числу положительных сероконверсий и у 85 % добровольцев через 14 суток после второй вакцинации определяются специфические иммуноглобулины [49].

В России зарегистрированы также векторные вакцины против БВВЭ «ГамЭвак» и «ГамЭвак-Комби» («ГамЭвак-Лио» – лиофилизированная форма), разработанные в ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России. В отличие от «ГамЭвак», которая построена только на базе рекомбинантного Ad5, вакцина «ГамЭвак-Комби» двухкомпонентная: в основе праймирующего компонента – рекомбинантный вирус везикулярного стоматита (VSV), бустирующего компонента – рекомбинантный Ad5. Прайм-буст-иммунизация предупреждает возможный предсуществующий ответ к Ad5. «ГамЭвак-Комби» прошла клинические исследования I–II (Россия) и III фаз (Гвинейская Республика), вызвав напряженный специфический иммунный ответ у 100 % добровольцев [48, 52].

В ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России разработан иммуноглобулин против лихорадки Эбола, который ранее состоял в Государственном реестре лекарственных средств (1996, регистрационное удостоверение № 96/309/123/8). Препарат получен из сыворотки лошадей, иммунизированных EBOV [53, 54]. И.В. Борисевич и соавт. отмечают, что, несмотря на выраженную анафилактогенность препарата, его применение эффективно и обоснованно в ситуациях высокого риска заражения при следовании рекомендациям по предварительной десенсибилизации (если это необходимо) [53].

Заключение

Для преодоления ранее существовавшей номенклатурной несогласованности в названиях родов, видов и отдельных представителей филовирусов утверждена последняя версия таксономии (МКТВ, 2023). Лечение филовирусных инфекций базируется на разработке и применении моноклональных антител: ВОЗ рекомендованы препараты ансувимаб (эбанга) и инмазеб. Исследуется терапевтическая эффективность лектинов из морских гидробионтов, психотропных и кардиотропных препаратов, интерферирующих РНК. Высокую эффективность демонстрируют одобренные для применения ВОЗ векторные вакцины Ervebo и Zabdeno/Mvabea, а также вакцины «ЭпиВакЭбола», «ГамЭвак» и «ГамЭвак-Комби», разработанные и зарегистрированные на территории Российской Федерации.

Список литературы

1. Поршаков А.М., Кононова Ю.В., Лыонг Т.М. Филовирусы Юго-Восточной Азии, Китая и Европы (обзор литературы). *Ж. инфектол*. 2019;11(2):5–13. doi: 10.22625/2072-6732-2019-11-2-5-13

2. Маркин В.А. Вирус Марбург и вызываемое им заболевание. *Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол*. 2022;99(5):605–618. doi: 10.36233/0372-9311-273

3. Сыромятникова С.И., Пирожков А.П. Геморрагическая лихорадка Марбург. *Инфекц. болезни: новости, мнения, обуч*. 2015;1(10):45–50.

4. Жданов К.В., Захаренко С.М., Коваленко А.Н., Семенов А.В., Фисун А.Я. Геморрагическая лихорадка Эбола: этиология, эпидемиология, патогенез и клинические проявления. *Клин. мед*. 2015;93(8):23–29.

5. Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Карулина Н.В., Чухраля О.В., Сыромятникова С.И., Борисевич С.В. Некоторые экологические характеристики вируса Эбола в природных очагах. *Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол*. 2018;(2):119–126. doi: 10.36233/0372-9311-2018-2-119-126

6. ВОЗ. Болезнь, вызванная вирусом Эбола – Демократическая Республика Конго. Режим доступа: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2021-DON325

7. ВОЗ. Болезнь, вызванная вирусом Эбола – Демократическая Республика Конго – Гвинея. Режим доступа: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2021-DON328

8. ВОЗ. Болезнь, вызванная вирусом Эбола – Демократическая Республика Конго. Режим доступа: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON377

9. ВОЗ. Болезнь, вызванная вирусом Марбург – Гана. Режим доступа: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON409

10. ВОЗ. Болезнь, вызванная суданским штаммом вируса Эбола – Уганда. Режим доступа: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON433

11. ВОЗ. Болезнь, вызванная вирусом Марбург – Экваториальная Гвинея. Режим доступа: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON472

12. ВОЗ. Болезнь, вызванная вирусом Марбург – Объединенная Республика Танзания. Режим доступа: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON471

13. Черных А., Гончаров А. Вирусы семейства Filoviridae. *Наука и инновации*. 2023;(2):30–37. doi: 10.29235/1818-9857-2023-02-30-37

14. Raj D. What are the appropriate personal protective equipment (PPE) for front-line workers (FLW) caring for Filovirus/Ebola virus disease (EVD) patients? *Open Forum Infectious Diseases*. 2017;4(Suppl. 1):170–170. doi: 10.1093/ofid/ofx163.302

15. Sprecher A.G., Caluwaerts A., Draper M., Feldmann H., Frey C.P., Funk R.H., Kobinger G., Le Duc J.W., Spiropoulou C., Williams W.J. Personal protective equipment for Filovirus epidemics: a call for better evidence. *J. Infect. Dis*. 2015;212(Suppl. 2):98–100. doi: 10.1093/infdis/jiv153

16. Burk R., Bollinger L., Johnson J.C., Wada J., Radoshitzky S.R., Palacios G., Bavari S., Jahrling P.B., Kuhn J.H. Neglected filoviruses. *FEMS Microbiol. Rev*. 2016;40(4):494–519. doi: 10.1093/femsre/fuw010

17. Biedenkopf N., Bukreyev A., Chandran K., di Paola N., Formenty P.B.H., Griffiths A., Hume A.J., Muhlberger E., Netesov S.V., Palacios G., … Kuhn J.H. Renaming of genera Ebolavirus and Marburgvirus to Orthoebolavirus and Orthomarburgvirus, respectively, and introduction of binomial species names within family Filoviridae. *Arch Virol.* 2023;168(8):220. doi: 10.1007/s00705-023-05834-2

18. Сизикова Т.Е., Боярская Н.В., Ковальчук А.В., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Новые представители семейства Filoviridae: распространение, природные резервуары, потенциальная эпидемическая опасность. *Вестн. войск РХБ защиты*. 2019;3(4):329–336. doi: 10.35825/2587-5728-2019-3-4-329-336

19. Щелканов М.Ю., Магассуба Н.Ф., Дедков В.Г., Шипулин Г.А., Галкина И.В., Попова А.Ю., Малеев В.В. Природный резервуар филовирусов и типы связанных с ними эпидемических вспышек на территории Африки. *Вестн. РАМН*. 2017;72(2):112–119. doi: 10.15690/vramn803

20. Fletcher P., Feldmann F., Takada A., Crossland N.A., Hume A.J., Albarino C., Kemenesi G., Feldmann H., Mühlberger E., Marzi A. Pathogenicity of Lloviu and Bombali viruses in type i interferon receptor knockout mice. *J. Infect. Dis*. 2023;228(Suppl. 7):548–553. doi: 10.1093/infdis/jiad226

21. Маркин В.А. Перспективные пути противовирусной терапии геморрагических лихорадок. *Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол*. 2014;(3):114–124.

22. Hu S., Noda T. Filovirus helical nucleocapsid structures. *Microscopy*. 2023;72(3):178–190. doi: 10.1093/jmicro/dfac049

23. Mehedi M., Ricklefs S., Takada A., Sturdevant D., Porcella S.F., Marzi A., Feldmann H. RNA editing as a general trait of Ebolaviruses. *J. Infect. Dis*.. 2023;228(Suppl. 7):498–507. doi: 10.1093/infdis/jiad228

24. Kondoh T., Letko M., Munster V.J., Manzoor R., Maruyama J., Furuyama W., Miyamoto H., Shigeno A., Fujikura D., Takadate Y., … Takada A. Single-nucleotide polymorphisms in human NPC1 influence Filovirus entry into cells. *J. Infect. Dis*.. 2018;218(Suppl. 5):397–402. doi: 10.1093/infdis/jiy248

25. Watanabe R., Saphire E.O. The *in situ* structural approach to reveal the Filovirus budding mechanism. *Microsc. Microanal*. 2023;29(Suppl. 1):900–901. doi: 10.1093/micmic/ozad067.447

26. Волкова Н.В., Казачинская Е.И., Щербаков Д.Н. Экспериментальные вакцины для профилактики геморрагической лихорадки Марбург и биомодели для изучения ее патогенеза. *Пробл. особо опас. инфекций*. 2018;(3):8–15. doi: 10.21055/0370-1069-2018-3-8-15

27. Транквилевский Д.В., Жуков В.И., Царенко В.А. Вероятность заражения населения возбудителями, ассоциированными с рукокрылыми, в Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания*. 2018;(3):32–37.

28. Dupuy L.C., Spiropoulou C.F., Towner J.S., Spengler J.R., Sullivan N.J., Montgomery J.M. Filoviruses: scientific gaps and prototype pathogen recommendation. *J. Infect. Dis*. 2023;228(Suppl. 6):446–459. doi: 10.1093/infdis/jiad362

29. Schiffman Z., Liu G., Cao W., Zhu W., Emeterio K., Qiu X., Banadyga L. The ferret as a model for Filovirus pathogenesis and countermeasure evaluation. *ILAR J*. 2020;61(1):62–71. doi: 10.1093/ilar/ilab011

30. Nicholas V.V., Rosenke R., Feldmann F., Long D., Thomas T., Scott D.P., Feldmann H., Marzi A. Distinct biological phenotypes of Marburg and Ravn virus infection in macaques. *J. Infect. Dis*. 2018;218(Suppl. 5):458–465. doi: 10.1093/infdis/jiy456

31. Miraglia C.M. Marburgviruses: an update. *Lab. Med*. 2019;50(1):16–28. doi: 10.1093/labmed/lmy046

32. Bramble M.S., Hoff N., Gilchuk P., Mukadi P., Lu K., Doshi R.H., Steffen I., Nicholson B.P., Lipson A., Vashist N., … Rimoin A.W. Pan-filovirus serum neutralizing antibodies in a subset of Congolese Ebolavirus infection survivors. *J. Infect. Dis*. 2018;218(12):1929–1936. doi: 10.1093/infdis/jiy453

33. Henwood P.C., Bebell L.M., Roshania R., Wolfman V., Mallow M., Kalyanpur A., Levine A.C. Ebola virus disease and pregnancy: a retrospective cohort study of patients managed at 5 Ebola treatment units in West Africa. *Clin. Infect. Dis*. 2017;65(2):292–299. doi: 10.1093/cid/cix290

34. Rieger T., Kerber R., El Halas H., Pallasch E., Duraffour S., Günther S., Ölschläger S. Evaluation of realstar reverse transcription-polymerase chain reaction kits for Filovirus detection in the laboratory and field. *J. Infect. Dis*. 2016;214(Suppl. 3):243–249. doi: 10.1093/infdis/jiw246

35. Neto M.M., Wright E., Temperton N., Soema P., Ten Have R., Ploemen I., Scott S. Application and comparison of lyophilisation protocols to enhance stable long-term storage of filovirus pseudotypes for use in antibody neutralisation tests. *J. Appl. Microbiol*. 2023;134(2):1–11. doi: 10.1093/jambio/lxac067

36. Семенцова А.О., Дедков В.Г., Терновой В.А., Чуб Е.В., Пьянков С.А., Агафонов А.П., Максютов Р.А., Малеев В.В., Попова А.Ю. Клиническая лабораторная диагностика лихорадки Эбола. Анализ существующих методик и диагностических средств. *Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол*. 2018;(3):105–116. doi: 10.36233/0372-9311-2018-3-105-116

37. Волкова Н.В., Иванова А.В., Исаева А.А., Полежаева О.А., Зайковская А.В., Щербаков Д.Н., Казачинская Е.И. Получение рекомбинантных антигенов для проведения серологической диагностики лихорадки Марбург. *Пробл. особо опас. инфекций*. 2020;(4):47–52. doi: 10.21055/0370-1069-2020-4-47-52

38. Рустамова Л.М., Красько А.Г., Родионова Л.П., Семенов С.Ф., Богданова Н.Л., Семижон П.А., Владыко А.С. Восстановление вируса Эбола после длительного хранения. *В сб.: БГМУ в авангарде медицинской науки и практики. Вып. 6.* Ред. А.В. Сикорского, О.К. Дорониной. Минск: БГМУ, 2016; 255–258.

39. Sprecher A., Cross R., Marzi A., Martins K.A., Wolfe D., Montgomery J.M., Spiropoulou C.F., Cihlar T., Ahuka-Mundeke S., Nyhuis T., … Muyembe J.J. Perspectives on advancing countermeasures for Filovirus disease: report from a multisector meeting. *J. Infect. Dis*. 2023;228(Suppl. 7):474–478. doi: 10.1093/infdis/jiad354

40. Shcheblyakov D., Esmagambetov I., Simakin P., Kostina L., Kozlov A., Tsibezov V., Grebennikova T., Chifanov D., Rumyantseva I., Boyarskaya N., … Gintsburg A. Development and characterization of two GP-specific monoclonal antibodies, which synergistically protect non-human primates against Ebola lethal infection. *Antiviral. Res*. 2019;172:104617. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.104617

41. Степанов А.В., Бузмакова А.Л., Потапова А.В., Юдин М.А., Апчел В.Я. Геморрагические лихорадки вирусной природы: состояние проблемы и направления создания эффективных средств профилактики и лечения. *Вестн. Рос. воен.-мед. акад*. 2020;(3):182–187.

42. Беседнова Н.Н., Запорожец Т.С., Андрюков Б.Г., Ермакова С.П., Кузнецова Т.А., Крыжановский С.П., Щелканов М.Ю. Геморрагические лихорадки: противовирусные эффекты и молекулярные мишени биологически активных полисахаридов и лектинов из морских гидробионтов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2022;67(3–4):53–69. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-53-69

43. DeWald L.E., Dyall J., Sword J.M., Torzewski L., Zhou H., Postnikova E., Kollins E., Alexander I., Gross R., Cong Y., … Jahrling P.B. The calcium channel blocker bepridil demonstrates efficacy in the murine model of Marburg virus disease. *J. Infect. Dis*. 2018;218(Suppl. 5):588–591. doi: 10.1093/infdis/jiy332

44. Gehring G., Rohrmann K., Atenchong N., Mittler E., Becker S., Dahlmann F., Pöhlmann S., Vondran F.W., David S., Manns M.P., Ciesek S., von Hahn T. The clinically approved drugs amiodarone, dronedarone and verapamil inhibit filovirus cell entry. *J. Antimicrob. Chemother*. 2014;69(8):2123–2131. doi: 10.1093/jac/dku091

45. Salata C., Baritussio A., Munegato D., Calistri A., Ha HR, Bigler L., Fabris F., Parolin C., Palù G., Mirazimi A. Amiodarone and metabolite MDEA inhibit Ebola virus infection by interfering with the viral entry process. *Pathog. Dis*. 2015;73(5):1–9. doi: 10.1093/femspd/ftv032

46. Телесманич Н.Р., Микашинович З.И., Ломаковский Н.С., Лосева Т.Д., Чайка С.О. Биохимия вируса Эбола и молекулярные аспекты биологической защиты. *Ж. фундам. мед. и биол*. 2015;(3):28–34.

47. Wrensch F., Karsten C.B., Gnirß K., Hoffmann M., Lu K., Takada A., Winkler M., Simmons G., Pöhlmann S. Interferon-induced transmembrane protein-mediated inhibition of host cell entry of Ebolaviruses. *J. Infect. Dis*. 2015;212(Suppl. 2):210–218. doi: 10.1093/infdis/jiv255

48. Ковыршина А.В., Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В., Должикова И.В., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Вакцины против болезни, вызванной вирусом Эбола: актуальные проблемы и перспективы. *Вопр. вирусол*. 2023;68(5):372–384. doi: 10.36233/0507-4088-193

49. Богрянцева М.П., Усова С.В., Нечаева Е.А., Рыжиков Е.А., Пьянков О.В., Карпенко Л.И., Каплина О.Н., Пьянков С.А., Агафонов А.П., Кузубов В.И., … Рыжиков А.Б. Исследование безопасности экспериментальной вакцины для профилактики лихорадки Эбола. *Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения:* мат. XI Съезда ВНПОЭМП, Москва, 16–17 ноября 2017 г. М., 2017. С. 183.

50. Рыжиков А.Б., Пьянков О.В., Даниленко Е.Д., Гамалей С.Г., Шимина Г.Г., Сысоева Г.М., Батенева А.В., Таранов О.С., Агафонов А.П., Максютов Р.А. Вакцина против лихорадки Эбола «ЭпиВакЭбола»: результаты доклинического исследования иммуногенности и безопасности. *Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения:* материалы XI Съезда ВНПОЭМП, Москва, 16–17 ноября 2017 г. М., 2017. С. 547.

51. Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Демина Ю.В., Малеев В.В., Кутырев В.В., Щербакова С.А., Максютов Р.А., Пьянков О.В., Keita S., Buaro M.Y., … Коломоец Е.В. Вклад Российской Федерации в укрепление эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями на территории Гвинейской Республики. *Пробл. особо опас. инфекций*. 2019;(3):6–13. doi: 10.21055/0370-1069-2019-3-6-13

52. Dolzhikova I.V., Zubkova O.V., Tukhvatulin A.I., Dzharullaeva A.S., Tukhvatulina N.M., Shcheblyakov D.V., Shmarov M.M., Tokarskaya E.A., Simakova Y.V., Egorova D.A., … Gintsburg A.L. Safety and immunogenicity of GamEvac-Combi, a heterologous VSV- and Ad5-vectored Ebola vaccine: An open phase I/II trial in healthy adults in Russia. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2017;13(3):613–620. doi: 10.1080/21645515.2016.1238535

53. Борисевич И.В., Черникова Н.К., Марков В.И., Краснянский В.П., Борисевич С.В., Рождественский Е.В. Опыт клинического применения специфического иммуноглобулина из сыворотки крови лошадей в качестве средства экстренной профилактики лихорадки Эбола. *Вопр. вирусол*. 2017;62(1):25–29. doi: 10.18821/0507-4088-2017-62-1-25-29

54. Мельников С.А., Борисевич И.В., Рождественский Е.В., Пантюхов В.Б, Черникова Н.К., Гордеев Е.В., Нимирская С.А., Хмелев А.Л., Сыромятникова С.И., Шатохина И.В., … Мишалова Е.Ю. Свойства гетерологичного иммуноглобулина против лихорадки Эбола после длительного хранения. *Биопрепараты*. 2020;20(1):50–59. doi: 10.30895/2221-996X-2020-20-1-50-59

References

1. Porshakov A.M., Kononova Yu.V., Lyong T.M. Filiviruses of Southeast Asia, China and Europe (review). *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*. 2019;11(2):5–13. [In Russian]. doi: 10.22625/2072-6732-2019-11-2-5-13

2. Markin V.A. Marburg virus and the disease it causes. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2022;99(5):605–618. [In Russian]. doi: 10.36233/0372-9311-273

3. Syromyatnikova S.I., Pirozhkov A.P. Marburg fever. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2015;1(10):45–50. [In Russian].

4. Zhdanov K.V., Zakharenko S.M., Kovalenko A.N., Semenov A.V., Fisun A.Ya. Ebola hemorrhagic fever; etiology, epidemiology, pathogenesis, and clinical symptoms. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine.* 2015;93(8):23–29. [In Russian].

5. Sizikova T.E., Lebedev V.N., Karulina N.V., Chukhralya O.V., Syromyatnikova S.I., Borisevich S.V. A some ecological characteristics of Ebola virus in natural focies. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018;(2):119–126. [In Russian]. doi: 10.36233/0372-9311-2018-2-119-126

6. WHO. Ebola virus disease – Democratic Republic of the Congo. Available at: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2021-DON325. [In Russian].

7. WHO. Ebola virus disease – Guinea. Available at: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2021-DON328. [In Russian].

8. WHO. Ebola virus disease – Democratic Republic of the Congo. Available at: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON377. [In Russian].

9. WHO. Marburg virus disease – Ghana. Available at: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON409. [In Russian].

10. WHO. Ebola disease caused by Sudan ebolavirus – Uganda. Available at: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON433. [In Russian].

11. WHO. Marburg virus disease – Equatorial Guinea. Available at: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON472. [In Russian].

12. WHO. Marburg virus disease – United Republic of Tanzania. Available at: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON471. [In Russian].

13. Chernykh A., Goncharov A. Viruses of the Filoviridae family. *Nauka i innovatsii = Science and Innovations*. 2023;(2):30-37. [In Russian]. doi: 10.29235/1818-9857-2023-02-30-37

14. Raj D. What are the appropriate personal protective equipment (PPE) for front-line workers (FLW) caring for Filovirus/Ebola virus disease (EVD) patients? *Open Forum Infectious Diseases*. 2017;4(Suppl. 1):170–170. doi: 10.1093/ofid/ofx163.302

15. Sprecher A.G., Caluwaerts A., Draper M., Feldmann H., Frey C.P., Funk R.H., Kobinger G., Le Duc J.W., Spiropoulou C., Williams W.J. Personal protective equipment for Filovirus epidemics: a call for better evidence. *J. Infect. Dis*. 2015;212(Suppl. 2):98–100. doi: 10.1093/infdis/jiv153

16. Burk R., Bollinger L., Johnson J.C., Wada J., Radoshitzky S.R., Palacios G., Bavari S., Jahrling P.B., Kuhn J.H.. Neglected filoviruses. *FEMS Microbiol. Rev*. 2016;40(4):494–519. doi: 10.1093/femsre/fuw010

17. Biedenkopf N., Bukreyev A., Chandran K., di Paola N., Formenty P.B.H., Griffiths A., Hume A.J., Muhlberger E., Netesov S.V., Palacios G., … Kuhn J.H. Renaming of genera Ebolavirus and Marburgvirus to Orthoebolavirus and Orthomarburgvirus, respectively, and introduction of binomial species names within family Filoviridae. *Arch Virol.* 2023;168(8):220. doi: 10.1007/s00705-023-05834-2

18. Sizikova T.E., Boyarskaya N.V., Kovalchuk A.V., Lebedev V.N., Borisevich S.V. The new members of Filoviridae family: distribution, natural reservoirs, potential epidemic danger. *Vestnik vojsk RKhB zashchity = Bulletin of the RCHB Protection Troops*. 2019;3(4):329–336. [In Russian]. doi.10.35825/2587-5728-2019-3-4-329-336

19. Shchelkanov M.Yu., Magassuba N., Dedkov V.G., Shipulin G.A., Galkina I.V., Popova A.Yu., Maleev V.V. Natural reservoir of Filoviruses and types of associated epidemic outbreaks in Africa. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2017;72(2):112–119. [In Russian]. doi: 10.15690/vramn803

20. Fletcher P., Feldmann F., Takada A., Crossland N.A., Hume A.J., Albarino C., Kemenesi G., Feldmann H., Mühlberger E., Marzi A. Pathogenicity of Lloviu and Bombali viruses in type i interferon receptor knockout mice. *J. Infect. Dis*.. 2023;228(Suppl. 7):548–553. doi: 10.1093/infdis/jiad226

21. Markin V.A. Promising approaches of antiviral therapy of hemorrhagic fevers. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2014;(3):114–124. [In Russian].

22. Hu S., Noda T. Filovirus helical nucleocapsid structures. *Microscopy*. 2023;72(3):178–190. doi: 10.1093/jmicro/dfac049

23. Mehedi M., Ricklefs S., Takada A., Sturdevant D., Porcella S.F., Marzi A., Feldmann H. RNA editing as a general trait of Ebolaviruses. *J. Infect. Dis*.. 2023;228(Suppl. 7):498–507. doi: 10.1093/infdis/jiad228

24. Kondoh T., Letko M., Munster V.J., Manzoor R., Maruyama J., Furuyama W., Miyamoto H., Shigeno A., Fujikura D., Takadate Y., … Takada A. Single-nucleotide polymorphisms in human NPC1 influence Filovirus entry into cells. *J. Infect. Dis*.. 2018;218(Suppl. 5):397–402. doi: 10.1093/infdis/jiy248

25. Watanabe R., Saphire E.O. The *in situ* structural approach to reveal the Filovirus budding mechanism. *Microsc. Microanal*. 2023;29(Suppl. 1):900–901. doi: 10.1093/micmic/ozad067.447

26. Volkova N.V., Kazachinskaya E.I., Shcherbakov D.N. Experimental vaccines for prevention of Marburg hemorrhagic fever and animal models for studying pathogenesis. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Especially Dangerous Infections*. 2018;(3):8–15. [In Russian]. doi: 10.21055/0370-1069-2018-3-8-15

27. Trankvilevskiy D.V., Zhukov V.I., Tsarenko V.A. The probability of infection of the population by pathogens associated with bats in the Russian Federation. *Zdorov'ye naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment.* 2018;(3):32–37. [In Russian].

28. Dupuy L.C., Spiropoulou C.F., Towner J.S., Spengler J.R., Sullivan N.J., Montgomery J.M. Filoviruses: scientific gaps and prototype pathogen recommendation. *J. Infect. Dis*. 2023;228(Suppl. 6):446–459. doi: 10.1093/infdis/jiad362

29. Schiffman Z., Liu G., Cao W., Zhu W., Emeterio K., Qiu X., Banadyga L. The ferret as a model for Filovirus pathogenesis and countermeasure evaluation. *ILAR J*. 2020;61(1):62–71. doi: 10.1093/ilar/ilab011

30. Nicholas V.V., Rosenke R., Feldmann F., Long D., Thomas T., Scott D.P., Feldmann H., Marzi A. Distinct biological phenotypes of Marburg and Ravn virus infection in macaques. *J. Infect. Dis*. 2018;218(Suppl. 5):458–465. doi: 10.1093/infdis/jiy456

31. Miraglia C.M. Marburgviruses: an update. *Lab. Med*. 2019;50(1):16–28. doi: 10.1093/labmed/lmy046

32. Bramble M.S., Hoff N., Gilchuk P., Mukadi P., Lu K., Doshi R.H., Steffen I., Nicholson B.P., Lipson A., Vashist N., … Rimoin A.W. Pan-filovirus serum neutralizing antibodies in a subset of Congolese Ebolavirus infection survivors. *J. Infect. Dis*. 2018;218(12):1929–1936. doi: 10.1093/infdis/jiy453

33. Henwood P.C., Bebell L.M., Roshania R., Wolfman V., Mallow M., Kalyanpur A., Levine A.C. Ebola virus disease and pregnancy: a retrospective cohort study of patients managed at 5 Ebola treatment units

in West Africa. *Clin. Infect. Dis*. 2017;65(2):292–299. doi: 10.1093/cid/cix290

34. Rieger T., Kerber R., El Halas H., Pallasch E., Duraffour S., Günther S., Ölschläger S. Evaluation of realstar reverse transcription-polymerase chain reaction kits for Filovirus detection in the laboratory and field. *J. Infect. Dis*. 2016;214(Suppl. 3):243–249. doi: 10.1093/infdis/jiw246

35. Neto M.M., Wright E., Temperton N., Soema P., Ten Have R., Ploemen I., Scott S. Application and comparison of lyophilisation protocols to enhance stable long-term storage of filovirus pseudotypes for use in antibody neutralisation tests. *J. Appl. Microbiol*. 2023;134(2):1–11. doi: 10.1093/jambio/lxac067

36. Sementsova A.O., Dedkov V.G., Ternovoy V.A., Chub E.V., Pyankov S.A., Agafonov A.P., Maksyutov R.A., Maleev V.V., Popova A.Yu. *In vitro* diagnosis for Ebola virus disease. A comparison of current techniques and diagnostic assays. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018;(3):105–116. [In Russian]. doi: 10.36233/0372-9311-2018-3-105-116

37. Volkova N.V., Ivanova A.V., Isaeva A.A., Polezhaeva O.A., Zaykovskaya A.V., Shcherbakov D.N., Kazachinskaya E.I. Obtaining recombinant antigens for the development of serological diagnosis of Marburg fever. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Especially Dangerous Infections*. 2020;(4):47–52. [In Russian]. doi: 10.21055/0370-1069-2020-4-47-52

38. Rustamova L.M., Kras'ko A.G., Rodionova L.P., Semenov S.F., Bogdanova N.L., Semizhon P.A., Vladyko A.S. Recovery of Ebola virus after long-term storage. *In: BSMU at the forefront of medical science and practice. Issue 6.* Ed. A.V. Sikorskii, O.K. Doronina. Minsk: Belarusian state medical university, 2016; 255–258. [In Russian].

39. Sprecher A., Cross R., Marzi A., Martins K.A., Wolfe D., Montgomery J.M., Spiropoulou C.F., Cihlar T., Ahuka-Mundeke S., Nyhuis T., … Muyembe J.J. Perspectives on advancing countermeasures for Filovirus disease: report from a multisector meeting. *J. Infect. Dis*. 2023;228(Suppl. 7):474–478. doi: 10.1093/infdis/jiad354

40. Shcheblyakov D., Esmagambetov I., Simakin P., Kostina L., Kozlov A., Tsibezov V., Grebennikova T., Chifanov D., Rumyantseva I., Boyarskaya N., … Gintsburg A. Development and characterization of two GP-specific monoclonal antibodies, which synergistically protect non-human primates against Ebola lethal infection. *Antiviral. Res*. 2019;172:104617. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.104617

41. Stepanov A.V., Buzmakova A.L., Potapova A.V., Yudin M.A., Apchel V.Ya. Hemorrhagic fevers of viral nature. State of the problem and directions for creating effective means of prevention and treatment. *Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2020;(3):182–187. [In Russian].

42. Besednova N.N., Zaporozhets T.S., Andryukov B.G., Ermakova S.P., Kuznetsova T.A., Kryzhanovsky S.P., Shchelkanov M.Yu. Hemorrhagic fevers: antiviral effects and molecular targets of biologically active polysaccharides and lectins from marine aquatic organisms. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*. 2022;67(3–4):53–69. [In Russian]. doi: 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-53-69

43. DeWald L.E., Dyall J., Sword J.M., Torzewski L., Zhou H., Postnikova E., Kollins E., Alexander I., Gross R., Cong Y., … Jahrling P.B. The calcium channel blocker bepridil demonstrates efficacy in the murine model of Marburg virus disease. *J. Infect. Dis*. 2018;218(Suppl. 5):588–591. doi: 10.1093/infdis/jiy332

44. Gehring G., Rohrmann K., Atenchong N., Mittler E., Becker S., Dahlmann F,. Pöhlmann S., Vondran F.W., David S., Manns M.P., Ciesek S., von Hahn T. The clinically approved drugs amiodarone, dronedarone and verapamil inhibit filovirus cell entry. *J. Antimicrob. Chemother*. 2014;69(8):2123–2131. doi: 10.1093/jac/dku091

45. Salata C., Baritussio A., Munegato D., Calistri A., Ha HR, Bigler L., Fabris F., Parolin C., Palù G., Mirazimi A. Amiodarone and metabolite MDEA inhibit Ebola virus infection by interfering with the viral entry process. *Pathog. Dis*. 2015;73(5):1–9. doi: 10.1093/femspd/ftv032

46. Telesmanich N.R., Mikashinovich Z.I., Lomakovskij N.S., Loseva T.D., Chayka S.O. Biochemistry of Ebola virus and molecular mechanisms of biology protection. *Zhurnal fundamental'noy meditsiny i biologii = Fundamental medicine and biology*. 2015;(3):28–34. [In Russian].

47. Wrensch F., Karsten C.B., Gnirß K., Hoffmann M., Lu K., Takada A., Winkler M., Simmons G., Pöhlmann S. Interferon-induced transmembrane protein-mediated inhibition of host cell entry of Ebolaviruses. *J. Infect. Dis*. 2015;212(Suppl. 2):210–218. doi: 10.1093/infdis/jiv255

48. Kovyrshina A.V., Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V., Dolzhikova I.V., Logunov D.Yu., Gintsburg A.L. Vaccines to prevent Ebola virus disease: current challenges and perspectives. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 2023;68(5):372–384. [In Russian]. doi: 10.36233/0507-4088-193

49. Bogryantseva M.P., Usova S.V., Nechaeva E.A., Ryzhikov E.A., P'yankov O.V., Karpenko L.I., Kaplina O.N., P'yankov S.A., Agafonov A.P., Kuzubov V.I., … Ryzhikov A.B. Safety study of experimental vaccine to prevent Ebola. *Ensuring epidemiological well-being: challenges and solutions*: materials of the XI Congress of VNPOEMP, Moscow, November 16–17, 2017. Moscow, 2017; 183. [In Russian].

50. Ryzhikov A.B., P'yankov O.V., Danilenko E.D., Gamalei S.G., Shimina G.G., Sysoeva G.M., Batene-

va A.V., Taranov O.S., Agafonov A.P., Maksyutov R.A. Ebola vaccine “EpiVacEbola”: results of a preclinical study of immunogenicity and safety. *Ensuring epidemiological well-being: challenges and solutions*: materials of the XI Congress of VNPOEMP, Moscow, November 16–17, 2017. Moscow, 2017; 547. [In Russian].

51. Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Demina Yu.V., Maleev V.V., Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Maksyutov R.A., Pyankov O.V., Keita S., Buaro M.Y., … Kolomoets E.V. Contribution of the Russian federation to strengthening of epidemiological surveillance over dangerous infectious diseases in the Republic of Guinea. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Especially Dangerous Infections*. 2019;(3):6–13. [In Russian]. doi: 10.21055/0370-1069-2019-3-6-13

52 Dolzhikova I.V., Zubkova O.V., Tukhvatulin A.I., Dzharullaeva A.S., Tukhvatulina N.M., Shcheblyakov D.V., Shmarov M.M., Tokarskaya E.A., Simakova Y.V., Egorova D.A., … Gintsburg A.L. Safety and immunogenicity of GamEvac-Combi, a heterologous VSV- and Ad5-vectored Ebola vaccine: An open phase I/II trial in healthy adults in Russia. *Hum. Vaccin. Immunother*. 2017;13(3):613–620. doi: 10.1080/21645515.2016.1238535

53. Borisevich I.V., Chernikova N.K., Markov V.I., Krasnyanskiy V.P., Borisevich S.V., Rozhdestvenskiy E.V. An experience in the clinical use of specific immunoglobulin from horse blood serum for prophylaxis of Ebola haemorrhagic fever. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 2017;62(1):25–29. [In Russian]. doi: 10.18821/0507-4088-2017-62-1-25-29

54. Melnikov S.A., Borisevich I.V., Rozhdestvensky E.V., Pantyukhov V.B., Chernikova N.K., Gordeev E.V., Nimirskaya S.A., Khmelev A.L., Syromyatnikova S.I., Shatokhina I.V., … Mishalova E.Yu. Properties of heterologous anti-Ebola immunoglobulin after long storage. *Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lecheniye = Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(1):50–59. [In Russian]. doi: 10.30895/2221-996X-2020-20-1-50-59

Сведения об авторах:

Афтаева Лариса Николаевна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4308-9597, e-mail: l.aftaeva@mail.ru
Мельников Виктор Львович, д.м.н., ORCID: 0000-0002-2175-5547, e-mail: meidpgumi@yandex.ru
Арехина Алёна Владимировна, ORCID: 0009-0006-9231-9255, e-mail: alena.arehina@yandex.ru

Information about the authors:

Larisa N. Aftaeva, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4308-9597, e-mail: l.aftaeva@mail.ru
Viktor L. Melnikov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-2175-5547, e-mail: meidpgumi@yandex.ru
Alyona V. Arekhina, ORCID: 0009-0006-9231-9255, e-mail: alena.arehina@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.06.2024
После доработки 26.09.2024
Принята к публикации 11.11.2024

Received 05.06.2024
Revision received 26.09.2024
Accepted 11.11.2024

УДК 616.136.42+616.149.4 DOI: 10.18699/SSMJ20240603
Обзор литературы / Review article

Органометрические параметры селезенки у лиц разного пола, возраста и телосложения: современные данные и перспективы исследования

А.Ш. Дадашев[1], И.С. Милтых[2], Д.А. Сукманова[2], В.А. Мишин[2], О.К. Зенин[2], Э.С. Кафаров[1]

[1] Чеченский государственный университет имени А.А. Кадырова
364093, г. Грозный, ул. Шерипова, 32
[2] Пензенский государственный университет
440026, г. Пенза, ул. Красная, 40

Резюме

Спленэктомия (удаление селезенки) и спленорафия (ушивание селезенки) остаются ведущими методами лечения у пациентов с тяжелыми повреждениями органа. Данные операции требуют глубокого понимания анатомии селезенки. Цель исследования – представить современные данные об органометрических параметрах (длина, ширина, толщина и объем) селезенки у лиц разного пола, возраста и телосложения. В рамках исследования проводили систематический поиск и анализ источников библиографических баз Scopus, Web of Science, PubMed и РИНЦ. Использовали статистический программный продукт R (версия 4.1). В результате метаанализа установлено, что средневзвешенные значения длины, ширины и объема селезенки составляют 10,46 см, 6,43 см и 205,43 см^3 соответственно. Исследователи отмечают тенденцию к увеличению ее длины по мере увеличения длины тела. Также обнаружено, что объем селезенки достоверно больше у мужчин (254,20 см^3), чем у женщин (185,11 см^3). Знание актуальных органометрических характеристик селезенки будет способствовать совершенствованию методов ранней диагностики заболеваний, объективной оценке лечения и профилактики ее патологии и, как следствие, повышению качества оказания медицинской помощи.

Ключевые слова: селезёнка, органометрия, систематический обзор, метаанализ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Зенин О.К., e-mail: zen.olegz@gmail.com
Для цитирования: Дадашев А.Ш., Милтых И.С., Сукманова Д.А., Мишин В.А., Зенин О.К., Кафаров Э.С. Органометрические параметры селезенки у лиц разного пола, возраста и телосложения: современные данные и перспективы исследования. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):32–40. doi: 10.18699/SSMJ20240603

Organometric parameters of the spleen in persons of different genders, ages and physiques: current data and research prospects

A.S. Dadashev[1], I.S. Miltykh[2], D.A. Sukmanova[2], V.A. Mishin[2], O.K. Zenin[2], E.S. Kafarov[1]

[1] Kadyrov Chechen State University of Ministry of Science and Higher Education of Russia
364093, Grozny, Sheripova st., 32
[2] Penza State University
440026, Penza, Krasnaya st., 40

Abstract

Splenectomy (removal of the spleen) and splenorrhaphy (spleen suturing) remain the leading treatments for patients with severe organ injuries. These surgeries require a thorough understanding of the anatomy of the spleen. The aim of the study was to present modern data on organometric parameters (length, width, thickness and volume) of the spleen in individuals of different sex, age and physique. Within the study we conducted a systematic search and analyses of sources in bibliographic databases Scopus, Web of Science, PubMed and Russian Science Citation Index (RSCI). The

statistical software R (version 4.1) was used. As a result of meta-analysis, it was found that the weighted mean values of length, width and volume of the spleen are: 10.46 cm, 6.43 cm, and 205.43 cm^3, respectively. The researchers observed a tendency for the its length to increase as body length increases. It is also found that spleen volume is significantly greater in males (254.20 cm^3) than in females (185.11 cm^3). Understanding of the actual organometric characteristics of the spleen will contribute to the improvement of methods of early diagnosis of diseases, objective assessment of treatment and prevention of its pathology and, as a consequence, to the improvement of the quality of medical care.

Key words: spleen, organometry, systematic review, meta-analysis.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author: Zenin O.K., e-mail: zen.olegz@gmail.com
Citation: Dadashev A.S., Miltykh I.S., Sukmanova D.A., Mishin V.A., Zenin O.K., Kafarov E.S. Organometric parameters of the spleen in persons of different genders, ages and physiques: current data and research prospects. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):32–40. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240603

Введение

Селезенка – это паренхиматозный орган брюшной полости, сравнимый по размеру с почкой и выполняющий ряд важных функций: иммунную, кроветворную, кроверазрушающую, фильтрационную, депонирование крови и участие в обмене веществ. Несмотря на многочисленные исследования, информация о вариативности ее строения остается противоречивой и недостаточной [1, 2]. Из-за своего положения и особенностей анатомического строения (ткань органа обильно васкуляризирована, и ее тяжело сшить) селезенка часто получает повреждения [3–5]. Травмы этого органа составляют около четверти всех травм области живота [6–8]. Более того, у гемодинамически нестабильных пациентов или у больных с тяжелыми повреждениями селезенки хирургическое вмешательство остается ведущим методом лечения. Оно может быть в виде спленэктомии (удаление селезенки) или спленорафии (ушивание селезенки) [9–11]. Данные операции требуют глубокого понимания анатомии органа и его окружения.

Цель исследования – представить современные данные об органометрических параметрах (длина, ширина, толщина и объем) селезенки у лиц разного пола, возраста и телосложения.

Материал и методы

Поисковая стратегия

В рамках исследования систематический поиск источников проводили в библиографических базах Scopus, Web of Science, PubMed, также использовался Российский индекс научного цитирования (РИНЦ). Помимо этого были проверены литературные списки релевантных статей на наличие исследований, соответствующих цели данной работы.

Подготовка данных для отбора

Результаты поиска сохранялись в отдельном файле в формате BibTeX. В последующем внутренние идентификаторы статей сохранялись в отдельном файле. С помощью разработанного программного обеспечения происходил сбор аннотаций и DOI работ из списка, результаты данного этапа вносились в таблицу формата CSV. На последнем этапе исходный файл BibTeX объединяли с результатами сбора данных по ключам-идентификаторам РИНЦ, итоговый файл BibTeX содержал для каждой работы название, ФИО авторов, название журнала, том, номер, год, страницы, ссылку на электронный ресурс и, при наличии, DOI.

Оценка качества исследований

Для критического анализа качества включенных исследований использовали инструмент AQUA [12], который оценивает пять доменов и состоит из 20 пунктов отчетности (цели и характеристика объектов, дизайн исследования, характеристика методологии, описательная анатомия и представление результатов). На каждый пункт нужно выбрать ответ: «Да», «Нет» или «Неясно». Если большинство доменов имеет ответ «Да», то риск смещения для этого домена считается «низким», если «Нет» или «Неясно», то риск смещения «высокий». В конечном итоге для каждого исследования выдавалась оценка. Работа считалась высококачественной, если все 5 доменов с низким риском смещения, среднекачественной (3–4 домена с низким риском смещения) или низкокачественной (0–2 домена с низким риском смещения).

Статистический анализ

Анализ проводили с использованием статистического программного продукта R (версия

4.1) [13]. Для расчета совокупных показателей применяли пакет *metafor R* [14]. Учитывая ожидаемую неоднородность исследований, для всех анализов использовали модель случайных эффектов. Неоднородность исследований определяли с помощью статистик I^2 и τ^2. I^2 измеряет неоднородность, выражая процент общей дисперсии, вызванной различиями между исследованиями, а τ^2 представляет дисперсию между исследованиями в метаанализе со случайными эффектами. Для проведения метаанализа непрерывные переменные вносили в электронные таблицы как среднее ± стандартное отклонение (M ± SD). В результате непрерывные переменные выражали в виде средневзвешенного значения, стандартной ошибки среднего эффекта (*m*) и 95%-го доверительного интервала (95 % ДИ).

Результаты и их обсуждение

В работу включено 26 исследований, опубликованных в период с 1981 по 2023 г. (табл. 1).

Органометрия селезенки

Размер и масса селезенки варьируют в зависимости возраста и пола (табл. 2). У взрослого человека длина органа обычно составляет 12 см, ширина 7 см и толщина 3–4 см. Отмечается тенденция к уменьшению размеров селезенки с возрастом [41]. Исследование И.Ю. Пикина и соавт. [19] посвящено анализу ее скелетотопии. Согласно их данным, верхний край селезенки в 39 % случаев расположен на уровне Th11, нижний – в 40 % случаев в проекции L1. Самое высокое положение отмечается на уровне Th12 (2 %), самое низкое – в проекции L3 (10 %). Сосудистая ножка органа чаще всего (46,5 %) локализовалась на уровне Th12. По результатам анализа гистотопограмм, толщина капсулы селезенки составляет 0,2 ± 0,05 мм (M ± SD). Особое внимание уделяется относительным показателям: отношение массы селезенки (в граммах) к росту (в см) составило 1 ± 0,4, а к площади поверхности тела ($м^2$) – 98,3 ± 37,7. В работе В.А. Васильева и соавт. выявлена связь между соматотипом и морфометрическими параметрами органа. Так, у лиц с мезоэндоморфным телосложением выявлены большие размеры селезенки (длина, ширина, объем) по сравнению с другими группами, у лиц с эктомезоморфным телосложением средние значения ее параметров также оказались больше, чем у лиц с эндомезоморфным и эндоэктоморфным типами [21]. По данным Н.Н. Ветшевой и соавт., нормальными считаются длина в пределах 10,0–12,0 см и ширина от 3,5 до 5,5 см. Спленомегалия предполагается при длине селезенки более 14,0 см и ширине более 6,0 см. При длине селезенки до 10,0 см размеры органа находятся в пределах нормы, независимо от толщины. Длина органа более 13 см всегда свидетельствует о спленомегалии, значения в интервале от 10,0 до 13,0 см могут указывать как на нормальный размер селезенки, так и на ее увеличение, в том числе патологическое [30].

Согласно УЗИ селезенки 43 здоровых добровольцев, средняя длина органа составляет 9,58 ± 1,22 см [35]. В исследовании A. Singh et al., в котором приняли участие 160 добровольцев (80 мужчин и 80 женщин), рассматривали возможную связь между длиной тела и селезенки [32]. Исходя из представленных в табл. 3 данных, можно отметить тенденцию к увеличению длины селезенки по мере увеличения длины тела. Однако следует отметить, что у женщин значения изучаемых показателей заметно меньше, чем у мужчин в соответствующих ростовых группах. Главное ограничение данной работы заключается в отсутствии корреляционного анализа величин исследованных показателей.

По данным прижизненной КТ-визуализации 90 селезенок длина органа составляет 11,17 ± 1,74 см, ширина – 9,85 ± 1,56 см [28]. Исследование, проведенное в Турции в 2015 г., указывает на разницу морфометрических показателей в половых группах: для женщин ширина селезенки составила 7,58 ± 1,56 см, длина – 9,87 ± 1,28 см, толщина – 3,34 ± 0,79 см; для мужчин – соответственно 8,75 ± 1,84, 11,01 ± 1,19 и 4,12 ± 1,09 см [29]. На разницу между значениями этих показателей в половых группах обращают внимание анатомы из Греции, длина селезенки значимо больше у мужчин (12,18 ± 2,2 см), чем у женщин (10,71 ± 1,6 см) ($p < 0,05$). В целом для селезенки характерно: длина – 11,69 ± 2,1 см; ширина – 7,54 ± 1,6 см, толщина – 4,20 ± 1,3 см [25]. По данным кадаверного исследования с выборкой 693 образцов из Ирана ширина органа составляет от 0,5 до 22 см со средним значением, равным 11,32 см, длина – от 0,5 до 15 см (M = 8,05 см), толщина – от 0,05 до 9,5 см (M = 2,01 см) [26].

Весьма интересным представляется кадаверное исследование из Индии, в рамках которого было исследовано 60 трупов. Анатомы отметили следующие формы селезенки: клиновидная (43,3 %), четырехгранная (28,3 %), треугольная (15 %) и овальная (2 %); длина органа составила 10,50 ± 2,236 см, ширина – 4,25 ± 1,513 см [23]. По данным УЗИ, проведенного в Пакистане, длина селезенки равна 9,7 ± 1,4 см, ширина – 5,4 ± 2,1 см [15].

Таблица 1. *Характеристика работ, включенных в исследование*

Table 1. *Characteristics of included studies*

Год	Место исследования	Характеристика исследованных групп	Метод исследования	*n*	Ссылка
2023	г. Лахор, Пакистан	100 беременных и 100 небеременных, возраст 29 ± 7,8 года	УЗИ	200	[15]
2023	г. Эдрине, Турция	♂ – 567 чел., ♀ – 374 чел., возраст 61,07 ± 13,79 года	КТ	941	[16]
2023	г. Кишинёв, Молдова		Кадаверное исследование	330	[17]
2022	Орловская область	♂ — 37 чел., ♀ – 69 чел., возраст 50,5 ± 14,6 года	УЗИ	106	[18]
2022	г. Оренбург, Россия	♂ – 66 чел., ♀ – 44 чел., возраст 22–87 лет	КТ	110	[19]
2021	г. Котону, Бенин	Возраст 13–87 лет (51,44 ± 16,35 года)	МРТ	200	[20]
2021	г. Донецк	♀ – 60 чел., возраст 21–35 лет, рост 65,5 ± 0,7 см, масса тела 59,7 ± 1,0 кг	УЗИ	60	[21]
2021	г. Калининград	Возраст 25,6 ± 3,7 года, масса тела 71 ± 15,1 кг, площадь тела 1,82 ± 0,2 м^2	УЗИ	30	[22]
2018	Индия		Кадаверное исследование	60	[23]
2016	г. Бостон, США	♂ – 32 чел., ♀ – 69 чел.	КТ	101	[24]
2016	г. Афины, Греция	♂ – 34 чел., ♀ – 16 чел., возраст 65,9 ± 21,4 года	Кадаверное исследование	50	[25]
2016	г. Машхад, Иран	♂ – 541 чел., ♀ – 152 чел., возраст 40,28 ± 20,97 года	Кадаверное исследование	693	[26]
2016	г. Каир, Египет		КТ	1000	[27]
2015	г. Марсель, Франция	Старше 16 лет	КТ	90	[28]
2015	г. Адана, Турция	♂ – 78 чел., ♀ – 72 чел., возраст 18–76 лет	УЗИ	150	[29]
2015	г. Москва	♂ – 196 чел., ♀– 304 чел., возраст 40,5 ± 7,3 года	УЗИ	500	[30]
2013	г. Вашингтон, США	♂ – 115 чел., ♀ – 57 чел., возраст 17–76 лет (средний возраст 45,5 года)	КТ	172	[31]
2011	Население Бихари, Индия	♂ – 80 чел., ♀ – 80 чел., возраст 20–60 лет	УЗИ	160	[32]
2010	г. Саппоро, Япония	♂ – 113 чел., ♀ – 117 чел., возраст 20–85 лет (48,7 ± 16,1 года)	КТ	130	[33]
2008	Тайвань, Китай	♂ – 15 чел., ♀ – 8 чел., возраст 22–54 года (33,8 ± 8,4 года)	УЗИ КТ	23	[34]
2004	г. Гонконг, Китай	Возраст 30–59 лет (средний возраст 44,5 года)	УЗИ	43	[35]
2003	г. Канзас-Сити, США	♂ – 66 чел., ♀ – 51 чел.	КТ	142	[36]
1999	Южная Австралия	♂ – 17 чел., ♀ – 13 чел., возраст 30–86 лет (65 ± 16,5 года)	Кадаверное исследование	30	[37]
1999	Калифорния, США		SPECT scan	443	[38]
1997	г. Ираклион, Греция	♂ – 73 чел., ♀ – 67 чел., возраст от 20 лет	КТ	140	[39]
1981	г. Атланта, США	Возраст 20–30 лет	КТ	11	[40]

Примечание. КТ – компьютерная томография, SPECT scan – однофотонная эмиссионная КТ.

Таблица 2. *Длина, ширина, толщина, масса и объем селезенки по данным разных исследователей*

Table 2. *Length, width, thickness, weight and volume of spleen as reported by various researchers*

n	*M*	SD	*m*	Ссылка
Длина селезенки, см				
200	9,70	1,400	0,10	[15]
330	9,43	3,620	0,20	[17]
60	10,90	0,100	0,01	[21]
30	10,50	1,500	0,27	[22]
60	10,50	2,236	0,29	[23]
50	11,69	2,100	0,30	[25]
693	11,32	3,100		[26]
22	11,17	1,740	0,37	[28]
43	9,58	1,220	0,19	[35]
Ширина селезенки, см				
200	5,40	2,100	0,15	[15]
330	6,71	2,720	0,15	[17]
60	5,80	0,100	0,01	[21]
30	5,80	1,700	0,31	[22]
60	4,25	1,513	0,20	[23]
50	7,54	1,600	0,23	[25]
693	8,05	2,350		[26]
22	9,85	1,560	0,33	[28]
Толщина селезенки, см				
200	4,46	1,10	0,08	[15]
60	4,70	0,10	0,01	[21]
30	4,60	0,70	0,13	[22]
50	4,20	1,30	0,18	[25]
693	2,01	0,90	0,03	[26]
Масса селезенки, г				
30	178,20	70,00	12,78	[19]
Объем селезенки, см^3				
200	148,50	82,30	5,82	[15]
106	123,90	52,50	5,10	[18]
60	154,80	5,40	0,70	[21]
101	244,40	116,40	11,58	[24]
22	224,90	91,50	19,50	[28]
45	236,89	77,58	11,56	[31]
230	127,40	62,90	4,15	[33]
23	185,00	65,00	13,55	[34]
142	512,60	349,10	29,30	[36]
30	110,00	70,00	12,78	[37]
11	201,00	77,00	23,22	[38]
11	219,00	76,00	22,92	[40]

Таблица 3. *Взаимосвязь длины тела и селезенки [32]*

Table 3. *The relationship between body and spleen length [32]*

Рост, см	*n*	*M*	SD
Мужчины			
151–155	12	9,290	1,056
156–160	13	9,565	1,564
161–165	18	9,877	1,507
166–170	16	10,134	1,415
171–175	16	10,706	0,820
Женщины			
146–150	14	8,828	1,461
151–155	22	8,945	1,483
156–160	16	9,189	1,393
165–170	16	9,898	1,261

Объем селезенки

Объем селезенки, согласно данным выполненного A.S. Moshkin et al., составляет 123,9 ± 52,5 см^3. Исследователи отмечают различия в половых группах (131,2 ± 43,2 см^3 у мужчин и 119,9 ± 57,1 см^3 у женщин) [18]. Объем органа у лиц с эндомезоморфным и эндоэктоморфным телосложением оказался схожим, несмотря на различия в других параметрах, и составил 154,8 ± 5,4 см^3 [16]. Согласно исследованию P. Prassopoulos et al. [39], размеры нормальной селезенки не имеют значимой корреляционной связи с возрастом, длиной, массой тела, индексом массы тела и поперечным диаметром первого поясничного позвонка, ее объем равняется в среднем 214,6 см^3 (от 107,2 до 341,5 см^3) и одинаков у мужчин (M = 215,1 см^3) и женщин (M = 214,0 см^3). Согласно УЗИ-исследованию W.K. Loftus et al., объем селезенки составляет 110 ± 70 см^3 [37]. По данным КТ-исследования 11 здоровых добровольцев, проведенного J.M. Henderson et al., объем органа равен 219 ± 76 см^3 [40], по данным J.C. Hoefs et al. – 201 ± 77 см^3 [38]. Данные E.M. Yetter et al., основанные на КТ-снимках 142 взрослых пациентов, значительно отличаются от значений, приведенных в предыдущих работах: 512,6 ± 349,1 см^3 [36]. Согласно результатам КТ-сканирования 23 здоровых добровольцев, объем органа составляет 185 ± 65 см^3 [34]. Studer et al. отмечает значение 224,9 ± 91,5 см^3, при этом наблюдается выраженная вариабельность между половыми группами (244,4 ± 80,9 см^3 у мужчин и 205,4 ± 98 см^3 у женщин, $p < 0,05$) [28]. К схожим выводам приходят турецкие исследователи, выполнившие УЗИ-сканирование: объем селезенки у женщин составил 136,05 ± 61,14 см^3, у мужчин – 220,7 ± 115,35 см^3 [29]. По данным КТ-сканирования 230 здоровых добровольцев в Японии, величина показателя равняется 127,4 ± 62,9 см^3 [33]. Исследователи из США на основе 45 КТ-исследований с применением рентгенконтраста отметили, что объем селезенки составляет 236,89 ± 77,58 [31]; по результатам УЗИ 200 здоровых женщин, проведенного в Пакистане, – 148,5 ± 82,3 см^3 [15].

Метаанализ величин органометрических показателей селезенки

В ходе проведения исследования отобраны работы, количества и данных которых было достаточно для проведения метаанализа. Установлено, что средневзвешенное значение длины селезенки составляет 10,46 см, стандартная ошибка 0,352 (95 % ДИ 9,77–11,15) (рис. 1, а), ширины – 6,43 см, стандартная ошибка 0,645 (95 % ДИ 5,16; 7,69) (рис. 1, б), толщины – 3,99 см, стандартная ошибка 0,507 (95 % ДИ 3,00; 4,98) (рис. 1, в). Согласно результатам метаанализа 10 исследований, опубликованных с 1981 по 2023 г., средневзвешенный объем селезенки составляет 205,43 см^3, стандартная ошибка 29,7 (95 % ДИ 147,22; 263,64) (рис. 2, а). В метаанализ оценки различий объема селезенки между половыми группами включено три исследования, наблюдаемые средние различия варьировали от 39,0 до 87,7 см^3. Средняя оценка различий на основе модели случайных эффектов составила $\hat{\mu}$ = 69,98 (95 % ДИ 38,78–101,17) (рис. 2, *б*). Таким образом, средний результат значимо отличался от нуля (z = 4,3969, p < 0,0001).

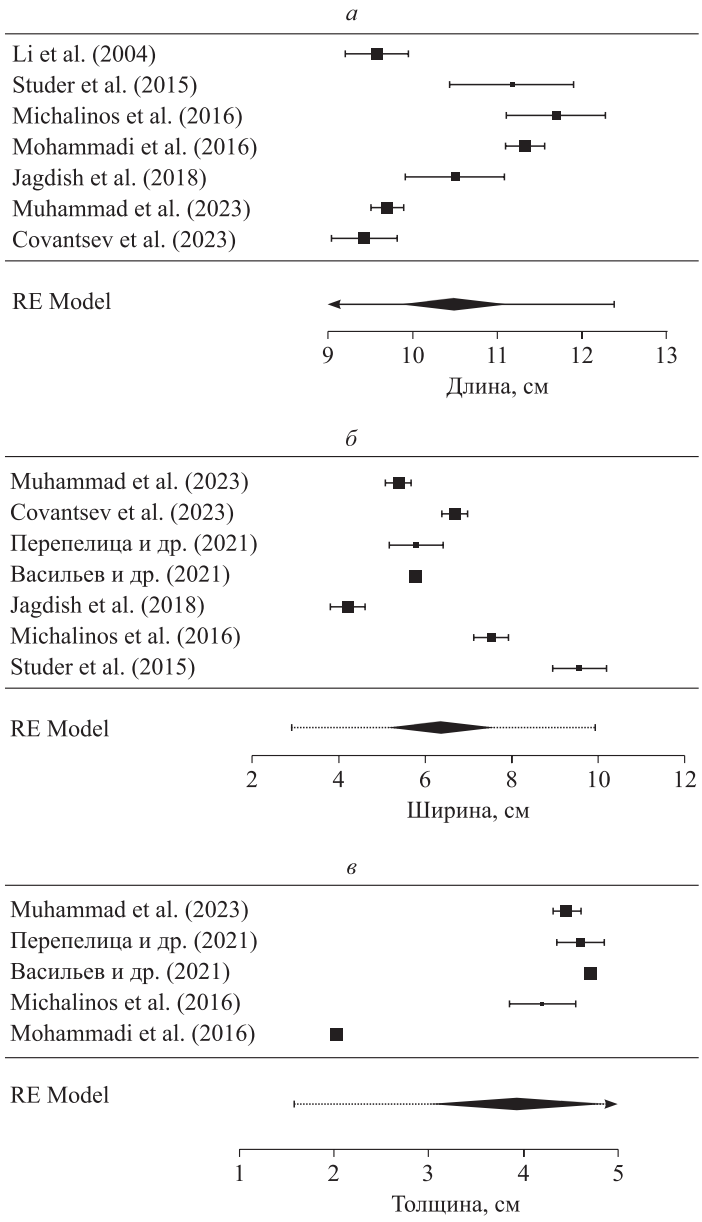


Рис. 1. *Результаты метаанализа длины (а), ширины (б) и толщины (в) селезенки. RE Model – модель случайных эффектов*

Fig. 1. *Results of meta-analysis of spleen length (а), width (б) and thickness (в). RE Model – random effects model*

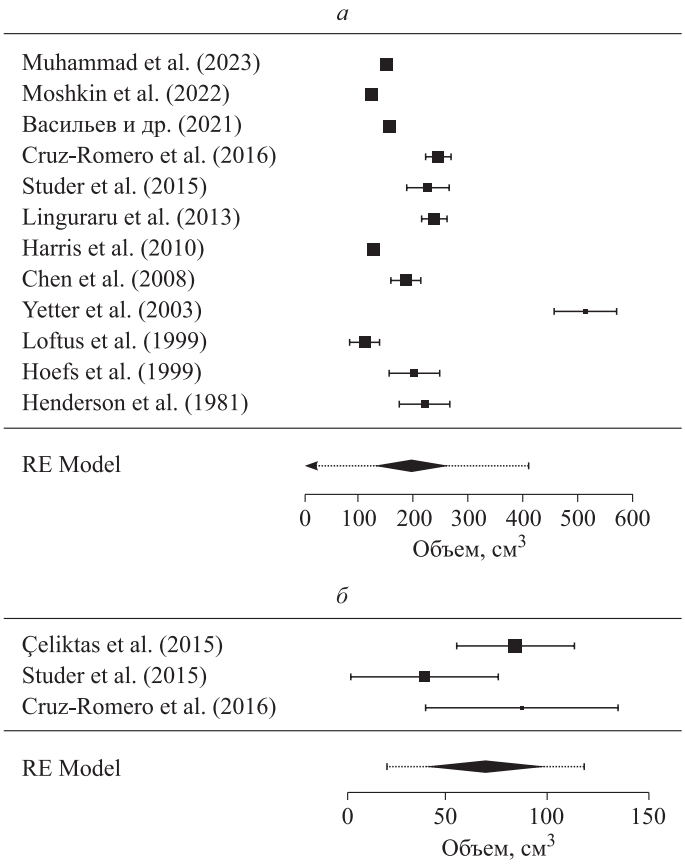


Рис. 2. *Результаты метаанализа объема селезенки (а) и его различий в половых группах (б). RE Model – модель случайных эффектов*

Fig. 2. *Results of meta-analysis of spleen volume (a) and its differences in sex groups. RE Model – random effects model*

Заключение

По результатам выполненного метаанализа установлено, что средневзвешенные значения длины, ширины и объема селезенки составляют 10,46 см, 6,43 см и 205,43 см^3 соответственно. Исследователи отмечают тенденцию к увеличению длины органа по мере увеличения длины тела. Также обнаружено, что объем селезенки достоверно больше у мужчин (254,20 см^3), чем у женщин (185,11 см^3). Знание актуальных данных об органометрических особенностях селезенки будет способствовать совершенствованию методов объективной диагностики заболеваний и оценки результатов лечения и профилактики патологий этого органа и, как следствие, повышению качества оказания медицинской помощи населению.

Список литературы / References

1. Peitzman A.B., Ford H.R., Harbrecht B.G., Potoka D.A., Townsend R.N. Injury to the spleen. *Curr. Probl. Surg.* 2001;38(12):932–1008. doi: 10.1067/msg.2001.119121

2. Malgras B., Najah H., Dohan A., Barat M., Soyer P. Diagnosis and treatment of focal splenic lesions. *J. Visc. Surg.* 2022;159(2):121–135. doi: 10.1016/j.jviscsurg.2021.11.010

3. Costi R., Ruiz C.C., Romboli A., Wind P., Violi V., Le Bian A.Z. Partial splenectomy: Who, when and how. A systematic review of the 2130 published cases. *J. Pediatr. Surg.* 2019;54(8):1527–1538. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2018.11.010

4. Coccolini F., Montori G., Catena F., Kluger Y., Biffl W., Moore E.E., Reva V., Bing C., Bala M., Fugazzola P., … Ansaloni L. Splenic trauma: WSES classification and guidelines for adult and pediatric patients. *World. J. Emerg. Surg.* 2017;12:40. doi: 10.1186/s13017-017-0151-4

5. Larsen J.W., Søreide K., Søreide J.A., Tjosevik K., Kvaløy J.T., Thorsen K. Epidemiology of abdominal trauma: An age- and sex-adjusted incidence analysis with mortality patterns. *Injury.* 2022;53(10):3130–3138. doi: 10.1016/j.injury.2022.06.020

6. El-Matbouly M., Jabbour G., El-Menyar A., Peralta R., Abdelrahman H., Zarour A., Al-Hassani A., Al-Thani H. Blunt splenic trauma: assessment, management and outcomes. *Surgeon*. 2016;14(1):52–58. doi: 10.1016/j.surge.2015.08.001

7. Savage S.A. Management of blunt splenic injury: down the rabbit hole and into the bucket. *Trauma*

Surg. Acute Care Open. 2023;8(Supp 1):e001119. doi: 10.1136/tsaco-2023-001119

8. Bokor-Billmann T., Billmann F. Spleen. *Essentials of Visceral Surgery.* 2023;1:281–292. doi: 10.1007/978-3-662-66735-4_11

9. Fredericks C.J., Galante J.M. Splenic injuries. *In: Current Therapy of Trauma and Surgical Critical Care (Third Edition).* Eds.: Asensio J.A., Meredith J.W. Elsevier Health Sciences, 2024. P. 398–405. doi: 10.1016/B978-0-323-69787-3.00068-X

10. Hancock G.E., Farquharson A.L. Management of splenic injury. *JR Army Med. Corps.* 2012;158(4):288–298. doi: 10.1136/jramc-158-04-03

11. Масляков В.В., Бахаев А.Д., Шихмагомедов М.А. Хирургическое лечение повреждений селезенки (обзор литературы). *Medicus*. 2022;(4):65–73.

Maslyakov V.V., Bakhaev A.D., Shikhmagomedov M.A. Surgical treatment of spleen injuries (literature review). *Medicus*. 2022;4(46):65–73. [In Russian].

12. Ouzzani M., Hammady H., Fedorowicz Z., Elmagarmid A. Rayyan – a web and mobile app for systematic reviews. *Syst. Rev.* 2016;5(1):1–10. doi: 10.1186/s13643-016-0384-4

13. Henry B.M., Tomaszewski K.A., Ramakrishnan P.K., Roy J., Vikse J., Loukas M., Tubbs R.S., Walocha J.A. Development of the Anatomical Quality Assessment (AQUA) Tool for the quality assessment of anatomical studies included in meta-analyses and systematic reviews: AQUA Tool Development. *Clin. Anat*. 2017;30(1):6–13. doi: 10.1002/ca.22799

14. The R Project for Statistical Computing. Available at: https://www.R-project.org/

15. Muhammad F.S., Farooq S.M.Y., Asad N., Akram S., Hafeez A., Zafar S., Sabeeh Z., Rashid U.H., Jallad L.K. Sonographic valuation of splenic dimensions in healthy pregnant and non-pregnant women. *Journal of the Dow University of Health Sciences.* 2023;17(2):77–82. doi: 10.36570/jduhs.2023.2.1822

16. Türkyılmaz Z., Kula O., Çelik A.O., Demirel T., Günay B. Evaluation of celiac artery and common hepatic artery variations by CT-angiography and new classification model. *Surg. Radiol. Anat.* 2023;45(8):1037–1047. doi: 10.1007/s00276-023-03180-1

17. Covantsev S., Alieva F., Mulaeva K., Mazuruc N., Belic O. Morphological evaluation of the splenic artery, its anatomical variations and irrigation territory. *Life (Basel)*. 2023;13(1):195. doi: 10.3390/life13010195

18. Мошкин А.С., Шевердин Н.Н., Новиков М.С., Ступин А.С. Роль ультразвуковой допплерографии селезеночной вены в перспективах решения хирургических задач. *Medicus*. 2022;(5):65–68.

Moshkin A.S., Sheverdin N.N., Novikov M.S., Stupin A.S. The role of ultrasound dopplerography of the splenic vein in the prospects of solving surgical problems. *Medicus*. 2022;(5):65–68. [In Russian].

19. Пикин И.Ю., Каган И.И., Нузова О.Б. Клиническая анатомия селезенки как основа ее органосохраняющих операций. *Мед. вестн. Башкортостана*. 2022;17(5):39–42

Pikin I.Yu., Kogan I.I., Nuzova O.B. Clinical anatomy of the spleen as the basis of its organ-preserving operations. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Herald of Bashkrtostan*. 2022;17(5):39–42. [In Russian].

20. Laleye C.M., Ahouansou P.Y., Hounton S.E.D., Videgla L.B., Hadonou A.A., Agossou A.C., Attolou S.G., Dibert-Bekoy-Nouganga E., Biaou O., Hounnou G.M., Mehinto A.C., Voyeme A.K. Anatomical variants of the celiac trunk. *Morphologie*. 2021;105(350):227–236. doi: 10.1016/j.morpho.2020.10.003

21. Васильев В.А., Басий Р.В., Кулиш А.И., Бешуля О.А. Взаимосвязь морфометрических параметров селезенки и антропометрических показателей лиц женского пола первого периода зрелого возраста в Донецком регионе. *Университетская клиника*. 2021;(1):17–22. doi: 10.26435/UC.V0I3(36).647

Vasiliev V.A., Basiy R.V., Kulish A.I., Beshulya O.A. Interrelation between morphometric parameters of the spleen and anthropometric parameters of women of the first period of adulthood of the Donetsk region. *Universitetskaya klinika = University Clinic.* 2021;(1):17–22. [In Russian]. doi: 10.26435/UC.V0I3(36).647

22. Перепелица С.А., Перминова Л.А., Степанян И.А., Захар Е.В. Морфометрическая характеристика селезенки при инфекционном мононуклеозе (ультразвуковое исследование). *Инфекц. и иммунитет*. 2021;11(3):556–564. doi: 10.15789/2220-7619-MCO-1481

Perepelitsa S.A., Perminova L.A., Stepanyan I.A., Zakhar E.V. Splenic morphometric characteristics in infectious mononucleosis (ultrasonic study). *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021;11(3):556–564. [In Russian]. doi: 10.15789/2220-7619-MCO-1481

23. Jagdish P., Ashoka R.K. Morphometric analysis of the human spleen. *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences.* 2018;7(46):5811–5815. doi: 10.14260/jemds/2018/1115

24. Cruz-Romero C., Agarwal S., Abujudeh H.H., Thrall J., Hahn P.F. Spleen volume on CT and the effect of abdominal trauma. *Emerg. Radiol.* 2016;23(4):315–323. doi: 10.1007/s10140-016-1402-5

25. Michalinos A., Goutas N., Spiliopoulou C., Nikiteas N., Skandalakis P., Gorgoulis V., Troupis T. A study concerning morphometry of abdominal aorta branches and abdominal viscera: relations and correlation. *Folia Morphol. (Warsz)*. 2016;75(1):60–75. doi: 10.5603/FM.a2015.0075

26. Mohammadi S., Hedjazi A., Sajjadian M., Kebriaei M.M., Dadgarmoghaddam M., Naser Ghrobi N., Yaghmaei A., Mohammadi M. Morphometric study of spleen in Iranian cadavers from Razavi-Khorasan Province. *Bangladesh Med. Res. Counc. Bull.* 2016;42(2):61–66. doi: 10.3329/bmrcb. v42i2.32000

27. Osman A.M., Abdrabou A. Celiac trunk and hepatic artery variants: A retrospective preliminary MSCT report among Egyptian patients. *The Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine*. 2016:47(4):1451–1458. doi: 10.1016/j.ejrnm.2016.09.011

28. Studer A.S., Kahn C.J., Bege T., Thollon L., Loundou A., Chaumoître K., Coze S., Berdah S., Brunet C. An anatomic and morphometric analysis of splenic variability using 3D reconstruction and spatial orientation from computed tomography. *Ann. Anat*. 2015;201:50–55. doi: 10.1016/j.aanat.2015.06.006

29. Çeliktas M., Özandaç S., Göker P., Bozkir M.G. Determinación ecográfica del tamaño normal del bazo en adultos turcos. *International Journal of Morphology.* 2015;33(4):1401–1405. doi: 10.4067/S0717-95022015000400035

30. Ветшева Н.Н., Степанова Ю.А. Сравнение топометрических показателей селезенки по данным ультразвукового метода исследования. *Мед. визуализ.* 2015;(4):56–60.

Vetsheva N.N., Stepanova Yu.A. Comparison of anthropometric indicators of the spleen according to the ultrasound. *Meditsinskaya vizualizatsiya = Medical Visualization*. 2015;(4):56–60. [In Russian].

31. Linguraru M.G., Sandberg J.K., Jones E.C., Summers R.M. Assessing splenomegaly: automated volumetric analysis of the spleen. *Acad. Radiol.* 2013;20(6):675–684. doi: 10.1016/j.acra.2013.01.011

32. Singh A., Ansari H., Das J.K., Chandra N. Ultrasonographic Measurement of Splenic length in relation with Height in Bihari Adult population a prospective study. *Journal of Anatomical Society of India.* 2011;60(2):188–189. doi: 10.1016/S0003-2778(11)80023-7

33. Harris A., Kamishima T., Hao H.Y., Kato F., Omatsu T., Onodera Y., Terae S., Shirato H. Splenic volume measurements on computed tomography utilizing automatically contouring software and its relationship with age, gender, and anthropometric parameters. *Eur. J. Radiol*. 2010;75(1):97–101. doi: 10.1016/j.ejrad.2009.08.013

34. Chen T.Y., Chen C.L., Tsang L.C., Huang T.L., Wang C.C., Concejero A.M., Lu C.H., Cheng Y.F. Correlation between hepatic steatosis, hepatic volume, and spleen volume in live liver donors. *Transplant. Proc.* 2008;40(8):2481–2483. doi: 10.1016/j.transproceed.2008.08.045

35. Li P.S., Ying M., Chan K.H., Chan P.W., Chu K.L. The reproducibility and short-term and long-term repeatability of sonographic measurement of splenic length. *Ultrasound Med. Biol*. 2004;30(7):861–866. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2004.05.012

36. Yetter E.M., Acosta K.B., Olson M.C., Blundell K. Estimating splenic volume: sonographic measurements correlated with helical CT determination. *AJR Am. J. Roentgenol*. 2003;181(6):1615–1620. doi: 10.2214/ajr.181.6.1811615

37. Loftus W.K., Chow L.T., Metreweli C. Sonographic measurement of splenic length: correlation with measurement at autopsy. *J. Clin. Ultrasound*. 1999;27(2):71–74. doi: 10.1002/(sici)1097-0096(199902)27:2<71::aid-jcu4>3.0.co;2-u

38. Hoefs J.C., Wang F.W., Lilien D.L., Walker B., Kanel G. A novel, simple method of functional spleen volume calculation by liver-spleen scan. *J. Nucl. Med*. 1999;40(10):1745–1755.

39. Prassopoulos P., Daskalogiannaki M., Raissaki M., Hatjidakis A., Gourtsoyiannis N. Determination of normal splenic volume on computed tomography in relation to age, gender and body habitus. *Eur. Radiol*. 1997;7(2):246–248. doi: 10.1007/s003300050145

40. Hendreson J.M., Heymsfield S.B., Horowitz J., Kutner M.H. Measurement of liver and spleen volume by computed tomography. Assessment of reproducibility and changes found following a selective distal splenorenal shunt. *Radiology*. 1981;141(2):525–527. doi: 10.1148/radiology.141.2.6974875

41. Standring S., Ellis H., Healy J., Johnson D., Williams A., Collin, P., Wigley C. Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice. London: Elsevier, 2021.1606 p.

Сведения об авторах:

Дадашев Али Шарудиевич, ORCID: 0000-0001-8502-0841, e-mail: mukulatura95@mail.ru
Милтых Илья Сергеевич, ORCID: 0000-0002-9130-3255, e-mail: contact@miltykh.com
Сукманова Дарья Александровна, ORCID: 0009-0007-7546-5872, e-mail: sukmanovadar@gmail.com
Мишин Вадим Андреевич, ORCID: 0009-0008-9472-6473, e-mail: mishin_pnzgumed@mail.ru
Зенин Олег Константинович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-5447-1989, e-mail: zen.olegz@gmail.com
Кафаров Эдгар Сабирович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-9735-9981, e-mail: kafaroff@yandex.ru

Information about the authors:

Ali Sh. Dadashev, ORCID: 0000-0001-8502-0841, e-mail: mukulatura95@mail.ru
Ilia S. Miltykh, ORCID: 0000-0002-9130-3255, e-mail: contact@miltykh.com
Daria A. Sukmanova, ORCID: 0009-0007-7546-5872, e-mail: sukmanovadar@gmail.com
Vadim A. Mishin, ORCID: 0009-0008-9472-6473, e-mail: mishin_pnzgumed@mail.ru
Oleg K. Zenin, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-5447-1989, e-mail: zen.olegz@gmail.com
Edgar S. Kafarov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-9735-9981, e-mail: kafaroff@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.06.2024
После доработки 30.09.2024
Принята к публикации 15.11.2024

Received 26.06.2024
Revision received 30.09.2024
Accepted 15.11.2024

УДК 616.248 DOI: 10.18699/SSMJ20240604
Обзор литературы / Review article

Бронхиальная астма в эпоху персонализированной медицины

А.Х. Ибишева, М.Р. Шахгиреева, А.Б. Хильдихароева, Л.С. Успанова, С.А. Шамсадова, Л.В.-М. Джабраилова

Республиканская детская клиническая больница им. Е.П. Глинки Минздрава Чеченской республики 364059, г. Грозный, ул. И.И. Бисултанова, 101

Резюме

Бронхиальная астма является растущим бременем для системы здравоохранения во всем мире, преимущественно поражая население стран с низким уровнем дохода. Повсеместный рост заболеваемости оказывает существенное негативное влияние на качество жизни пациентов. Отсутствие радикального лечения астмы на протяжении многих лет можно объяснить недостаточным пониманием механизмов ее развития. В настоящее время признана гетерогенность бронхиальной астмы, которая отражается в многочисленных факторах риска. Достижения в изучении различных аспектов патогенеза этого сложного заболевания способствуют разработке новых и более эффективных терапевтических подходов. Понимание фенотипирования и эндотипирования астмы является важным аспектом, от которого зависит эффективность того или иного биологического препарата. Своевременная диагностика и правильно подобранная терапия предотвращают прогрессирование заболевания и позволяют добиться длительной ремиссии бронхиальной астмы. Многолетняя история изучения вопросов этиопатогенеза заболевания принесла прогрессивные перемены в эффективности его лечения. Целью настоящей работы является обзор фенотипических особенностей бронхиальной астмы, а также индивидуализированных методов лечения тяжелой астмы, прогностических и мониторинговых биомаркеров биологических препаратов. Поиск проведён с использованием баз данных PubMed, EMBASE. Использовались ключевые слова: «бронхиальная астма», «фенотипы астмы», «эндотипы астмы», «биомаркеры астмы».

Ключевые слова: бронхиальная астма, фенотипы, эндотипы, персонализированная медицина.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Ибишева А.Х., e-mail: ibisheva18@mail.ru
Для цитирования: Ибишева А.Х., Шахгиреева М.Р., Хильдихароева А.Б., Успанова Л.С., Шамсадова С.А., Джабраилова Л.В.-М. Бронхиальная астма в эпоху персонализированной медицины. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):41–47. doi: 10.18699/SSMJ20240604

Bronchial asthma in the era of personalized medicine

A.Kh. Ibisheva, M.R. Shakhgireeva, A.B. Khildikharoeva, L.S. Uspanova, S.A. Shamsadova, L.V.-M. Dzhabrailova

Glinka Republican Children's Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Chechen Republic 364059, Grozny, I.I. Bisultanova st., 101

Abstract

Bronchial asthma is a growing burden on the health system worldwide, mainly affecting population of low-income countries. The widespread growth of morbidity has a significant negative impact on the quality of life of patients. The lack of radical treatment of asthma for many years can be explained by a lack of understanding of the mechanisms of its development. Currently, the heterogeneity of bronchial asthma is recognized, which is reflected in numerous risk factors. Advances in various aspects of the pathogenesis of this complex disease contribute to the development of new and more effective therapeutic approaches. Understanding the phenotyping and endotyping of asthma is an important aspect on which the effectiveness of a particular biological drug depends. Timely diagnosis and well-chosen therapy prevent the progression of the disease and allow achieving a long-term remission of bronchial asthma. The long-term history of studying the disease etiopathogenesis has brought progressive changes in the effectiveness of its treatment. The purpose of this work is to review the phenotypic features of bronchial asthma, as well as individualized treatment methods for severe asthma, prognostic and monitoring biomarkers of biological drugs. The search was conducted using

PubMed, and EMBASE databases. The following keywords were used: “bronchial asthma”, “asthma phenotypes”, “asthma endotypes”, “asthma biomarkers”.

Key words: bronchial asthma, phenotypes, endotypes, personalized medicine.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author: Ibisheva A.K., e-mail: ibisheva18@mail.ru
Citation: Ibisheva A.Kh., Shakhgireeva M.R., Khildikharoeva A.B., Uspanova L.S., Shamsadova S.A., Dzhabrailova L.V.-M. Bronchial asthma in the era of personalized medicine. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):41–47. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240604

Введение

Бронхиальная астма (БА) – наиболее распространенное хроническое респираторное заболевание среди детей и взрослых [1]. Ученые считают, что частота этого заболевания выше в странах с высоким уровнем дохода, а смертность, связанная с ней, приходится на страны с низким уровнем дохода [2]. БА страдают более 300 млн человек во всем мире, из них ежегодно от последствий астмы умирают около 180 000 [3]. Смертность от детской астмы составляет 0–0,7 на 100 000 населения, распространенность тяжелой астмы среди детей 10 лет – 0,5–4,5 % [4]. Первая монография по БА опубликована в конце XVII в. Дж. Флойером, который связал это заболевание с сужением дыхательных путей. В 1892 г. У. Ослером дано морфологическое описание астмы, основанное на воспалении. Именно эти две составляющие лежат в основе определения и диагностики БА по сегодняшний день – факт обратимой обструкции и воспаление дыхательных путей. Позже начали изучать астму на клеточном и молекулярном уровне, а также лучше поняли их связь со структурными и функциональными дефектами дыхательных путей [3]. Таким образом, актуальным определением астмы является следующее: БА – гетерегенное заболевание, характеризующееся клинически повторяющимися эпизодами хрипов, кашля, одышки и стеснения в груди, патологически – хроническим воспалением и структурными изменениями в дыхательных путях, или же ремоделированием [5–7].

Учитывая гетерогенность клинической картины БА, начали выделять несколько фенотипов заболевания. Фенотип является результатом взаимодействия генетических факторов с факторами окружающей среды, включающим демографические, клинические особенности заболевания. Определение клинических фенотипов позволяет подбирать персонализированную терапию, прогнозировать ее эффективность, а также проводить динамическое наблюдение за развитием заболевания. В конце 1940-х годов астма была классифицирована на аллергическую и неаллергическую, классификация основана на клинико-функциональных признаках заболевания. В настоящее время выделяют пять фенотипов БА [6–9]: аллергическая, неаллергическая, БА с поздним дебютом, БА с фиксированной обструкцией дыхательных путей, БА у больных с ожирением.

Наиболее распространена аллергическая астма, которая возникает чаще всего в детстве и обычно сопровождается коморбидными состояниями, такими как атопический дерматит и аллергический ринит [9]. При аллергическом воспалении воздействие различных аллергенов приводит к активации антигенпрезентирующих клеток, мигрирующих в лимфатические узлы и индуцирующих дифференцировку наивных Т-хелперов в Т-хелперы 2-го типа (Th2). Последние способствуют переключению класса В-клеточного иммуноглобулина на IgE, который активирует тучные клетки (ранняя фаза аллергического ответа) с последующим высвобождением из их гранул цитокинов, способствующих сокращению гладкой мускулатуры, повышению проницаемости сосудов и рекрутированию клеток Th2 и эозинофилов с повышенной секрецией цитокинов (поздняя фаза аллергического ответа) [10]. В лечении аллергической астмы сегодня наряду с ингаляционными кортикостероидами широко используются биологические препараты и аллерген-специфическая иммунотерапия [11].

Распространенность неаллергической БА составляет 10–33 % [12]. Неаллергическая астма чаще встречается у пациентов старшего возраста, имеющих разный профиль воспаления дыхательных путей – эозинофильный, нейтрофильный, смешанный или малогранулоцитарный. Эффективность терапии ингаляционными кортикостероидами пациентов с данным фенотипом зависит от характера воспаления [7]. БА у больных с ожирением характеризуется тяжелым течением, частыми обострениями, низким контролем и снижением чувствительности к стероидам [7]. По данным некоторых авторов, дети с избыточным весом и ожирением имеют высокий риск развития БА [13]. Цитокины, секретируемые жировой тканью, могут вызывать системное воспаление, поражающее легкие [14]. Кроме того, астма у

больных с ожирением может быть и гипердиагностирована из-за сопутствующих заболеваний, так как ожирение может вызывать физиологические нарушения функции легких – уменьшение объема легких, ограничение грудной стенки и увеличение потребности в кислороде, как следствие – затруднение дыхания, аускультативно – хрипы, которые могут быть расценены как астма [15]. По данным других исследователей, в развитии астмы в сочетании с ожирением у детей лежит несколько механизмов – снижение физической активности, аномальная вентиляция легких, хроническое системное воспаление, гормональные изменения, генетический фактор и сопутствующие заболевания [16].

БА с фиксированной обструкцией связана с процессом ремоделирования, приводящего к утолщению стенок дыхательных путей и повреждению паренхимы легких и, тем самым, к уменьшению размеров просвета дыхательных путей и увеличению сопротивления потоку воздуха [17]. Астма с фиксированной обструкцией – вялотекущее воспаление, менее эффективно реагирующее на бронходилатационную терапию [18, 19].

Данная классификация бронхиальной астмы не раскрывает патогенетических различий неатопического фенотипа. Молекулярной основой фенотипа является эндотип, который может лежать в основе нескольких фенотипов [20]. Персонализированная медицина предполагает классификацию астмы по ее эндотипам, связывая наблюдаемые характеристики со специфическими иммунологическими механизмами. Различают два эндотипа астмы: БА, обусловленная воспалением 2-го типа, и БА, не связанная с воспалением 2-го типа. Ключевыми цитокинами Т2-воспаления являются интерлейкины ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13. До открытия врожденных лимфоидных клеток 2-го типа (ILC2) считалось, что они продуцируются только клетками Th2, и астма именовалась как Th2-астма, в настоящее время она носит название Т2-астма [21].

Т-хелперы 2 типа секретируют цитокины и активируют другие клетки врожденного и адаптивного иммунитета. Врожденные лимфоидные клетки 2-го типа важны для индукции воспалительных реакций 2-го типа путем выработки ИЛ-5 и ИЛ-13, которые отвечают за созревание эозинофилов в кровотоке. ИЛ-13, вызывая сокращение гладкой мускулатуры, стимулирует эпителиальные клетки к секреции муцина, тем самым вызывает фиброз. Ремоделирование дыхательных путей — результат структурных изменений, включающих нарушения процессов восстановления слизистой оболочки, которые характеризуются увеличением массы гладких мышц дыхательных путей, субэпителиальным фиброзом и увеличением количества слизистых желез и бокаловидных клеток под влиянием цитокинов, приводящих к гиперреактивности дыхательных путей [22–24].

В настоящее время наиболее подтвержденными биомаркерами астмы с высоким уровнем Т2 являются эозинофилы мокроты, крови, содержание оксида азота в выдыхаемом воздухе. Исследование эозинофилов в периферической крови широко используется в рутинной практике из-за его простоты и доступности. Однако в некоторых работах показано, что их содержание и активность не полностью отражают содержание и активность эозинофилов дыхательных путей [25]. Исследование, проведенное в Атланте, показало, что у детей раннего возраста высокий уровень эозинофилов в крови является хорошим прогностическим маркером эффективности ингаляционных кортикостероидов и биологических препаратов, но не всегда коррелирует с клиническим ответом или нормализацией эозинофилии мокроты [26, 27]. Определение уровня эозинофилов мокроты является «золотым стандартом» диагностики эозинофильного воспаления дыхательных путей [24], однако более полезным биомаркером эффективности биологической терапии служит количество эозинофилов в крови, а не в мокроте [28].

Еще одним маркером Т2-воспаления является периостин. G. Jia et al. показано, что его уровень в сыворотке значительно больше у больных с эозинофильным фенотипом астмы, чем у пациентов с минимальным эозинофильным воспалением дыхательных путей [29]. К неинвазивным методам идентификации фенотипа Т2-астмы относится определение уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе [30]. В начале 1990-х годов L. Gustafsson доказал присутствие NO в выдыхаемом воздухе [31], а в 1993 г. шведские ученые установили повышение уровня оксида азота в выдыхаемом воздухе у больных астмой [32]. Кроме того, данный маркер может использоваться при оценке плохой приверженности или для прогнозирования ответа на лечение ингаляционными кортикостероидами и биологическими препаратами [30]. IgE – надежный показатель атопического статуса, однако неэффективен в качестве маркера эффективности терапии [33].

Самым исследуемым биомаркером не-Т2-астмы являются нейтрофилы. Астму с низким уровнем Т2 классифицируют в зависимости от результатов цитологического исследования индуцированной мокроты как олигогранулоцитарную и нейтрофильную. У здоровых людей нейтрофилы и макрофаги являются основными лейкоцитами в индуцированной мокроте; так, у больных

астмой количество нейтрофилов в мокроте увеличивается до 40–76 % [23].

При воздействии этиологических факторов на дыхательные пути макрофагами выделяются провоспалительные цитокины – такие как ИЛ-6, ИЛ-1β. Одним из маркеров нейтрофильного воспаления является ИЛ-17, ответственный за привлечение нейтрофилов, которые в свою очередь повреждают эпителиальные клетки и увеличивают продукцию слизи [4]. Считается, что уровень ИЛ-17 в индуцированной мокроте в биоптатах бронхов повышается при тяжелой астме, однако из-за технической сложности его определение не получило широкого распространения для характеристики фенотипа астмы [34]. По данным некоторых авторов, TNF-α и IFN-γ способствуют прогрессированию Th2-низкой астмы, однако на сегодняшний день необходимы дополнительные исследования для оценки эффективности данных биомаркеров в клинической практике [35].

Признание БА гетерогенным заболеванием заставило искать новые пути решения эффективного лечения тяжелой астмы. После определения фенотипа пациента с тяжелой астмой главенствующей целью является рассмотрение терапевтических подходов [36]. Возможность определять эндотипы БА позволяет оптимизировать лечение и проводить персонализированную терапию, направленную на конкретные иммунологические механизмы основного заболевания [37]. Концепция персонализированной медицины подразумевает лечение пациента с учетом у его индивидуальных особенностей – генетических, возрастных, этнических, особенностей окружающей среды [38].

В настоящее время для пациентов с T2-опосредованным воспалением разработано шесть препаратов моноклональных антител, четыре из которых доступны для использования в детской практике – омализумаб, дупилумаб, меполизумаб, тезепелумаб. Омализумаб – первое рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело, разработанное для лечения тяжелой БА с 6 лет. Омализумаб образует иммунный комплекс, связываясь со свободным IgE, тем самым ингибирует его взаимодействие с рецепторами тучных клеток. IgE состоит из двух вариабельных фрагментов (Fab), которые взаимодействуют со специфическими антигенами, и константной области (Fc), которая связывается с рецепторами IgE. Выработка IgE происходит в лимфатических узлах и слизистой оболочке дыхательных путей под воздействием ИЛ-4, который запускает созревание наивных B-лимфоцитов в IgE-секретирующие плазматические клетки, в дальнейшем развиваются B-клетки памяти, которые секретируют специфические IgE [39]. Омализумаб одобрен Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США в 2003 г. и Европейским агентством по лекарственным средствам в 2005 г. [40]. Дозу и частоту введения препарата устанавливают в зависимости от уровня общего сывороточного IgE и массы тела пациента [41].

Дупилумаб – рекомбинантное, полностью человеческое моноклональное антитело, направленное на α-субъединицу рецептора ИЛ-4, тем самым блокируя передачу сигналов интерлейкина-4 и интерлейкина-13 и, следовательно, воспаление 2 типа. Одобрен в 2017 г. для лечения атопического дерматита у взрослых, в 2023 г. зарегистрирован для лечения атопического дерматита с 6 месяцев, бронхиальной астмы с 6 лет. ИЛ-4 отвечает за дифференцировку наивных T-клеток CD4+ в эффекторные клетки Th2, тогда как ИЛ-13 способствует гиперсекреции слизи и гиперреактивности дыхательных путей [42–44].

Меполизумаб, реслизумаб, бенрализумаб являются гуманизированными моноклональными антителами, блокирующими интерлейкин ИЛ-5, который контролирует пролиферацию, выживание и активацию эозинофилов [45]. Меполизумаб и реслизумаб взаимодействуют со свободным ИЛ-5, а бенрализумаб – с альфа-цепью высокоаффинного рецептора для ИЛ-5, обнаруженного на эозинофилах и базофилах [46]. Единственным биологическим препаратом без ограничений по биомаркерам, направленным на циркулирующий тимический стромальный лимфопоэтин, является тезепелумаб [47].

Заключение

Главной целью лечения БА является достижение контроля над заболеванием и улучшение качества жизни пациента, включающее в себя сокращение пропусков занятий в школе, повышение производительности труда и предотвращение неотложной помощи и госпитализации. За последние годы достигнут значительный прогресс в понимании иммунологии и патофизиологии БА, что привело к улучшению исходов тяжелой астмы. Понимание фенотипирования и эндотипирования БА крайне важно, так как неэффективность того или иного лекарственного препарата может быть результатом неправильного выбора фенотипа. Важнейший вопрос заключается в том, какова длительность биологической терапии БА? Актуальной является разработка препаратов, влияющих на механизмы развития и течения БА, не относящейся к типу T2. Поскольку астма – результат взаимодействия генетических факторов и факторов окружающей среды, объединяющей

их перспективной областью служит выявление функций генов под воздействием окружающей среды с помощью эпигенетики.

Список литературы / References

1. Popović-Grle S., Štajduhar A., Lampalo M., Rnjak D. Biomarkers in different asthma phenotypes. *Genes (Basel).* 2021;12(6):801. doi: 10.3390/genes12060801

2. Dharmage S.C., Perret J.L., Custovic A. Epidemiology of asthma in children and adults. *Front. Pediatr.* 2019;7:246. doi: 10.3389/fped.2019.00246

3. Krčmová I. Evolution o fourview on the IgE moleculerolein bronchial asthma and the clinical effectofits modulation by omalizumab: Where do we stand today? *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2020;34:2058738420942386. doi: 10.1177/2058738420942386

4. Song X.L., Liang J., Lin S.Z., Xie Y.W., Ke C.H., Ao D., Lu J., Chen X.M., He Y.Z., Liu X.H., Li W. Gut-lung axis and asthma: A historical review on mechanism and future perspective. *Clin. Transl. Allergy*. 2024;14(5):e12356. doi: 10.1002/clt2.12356

5. Samitas K., Delimpoura V., Zervas E., Gaga M. Anti-IgE treatment, airway inflammation and remodelling in severe allergic asthma: current knowledge and future perspectives. *Eur. Respir. Rev.* 2015;24(138):594–601. doi: 10.1183/16000617.00001715

6. Княжеская Н.П., Анаев Э.Х., Камелева А.А., Сафошкина Е.В., Кириченко Н.Д. Таргетная терапия бронхиальной астмы. Бенрализумаб: в фокусе внимания пациенты, принимающие системные глюкокортикостероиды. *Мед. сов.* 2020;(17):9–16. doi: 10.21518/2079-701X-2020-17-9-16

Knyazheskaya N.P., Anaev E.H., Kameneva A.A., Safoshkina E.V., Kirichenko N.D. Targeted therapy in bronchial asthma. Benralizumab: focus on patients using systemic glucocorticosteroids. *Meditsinskiy sovet = Medical Council.* 2020;(17):9–16. [In Russian]. doi: 10.21518/2079-701X-2020-17-9-16

7. Клинические рекомендации. Бронхиальная астма М., 2021. 114 с. Режим доступа: https://raaci.ru/dat/pdf/BA.pdf

Clinical recommendations. Bronchial asthma. Moscow, 2021. 114 p. Available at: https://raaci.ru/dat/pdf/BA.pdf

8. Авдеев С.Н., Ненашева Н.М., Жуденков К.В., Петраковская В.А., Изюмова Г.В. Распространенность, заболеваемость, фенотипы и другие характеристики тяжелой бронхиальной астмы в Российской Федерации. *Пульмонология.* 2018;28(3):341–358. doi: 10.18093/0869-0189-2018-28-3-341-358

Avdeev S.N., Nenasheva N.M., Zhudenkov K.V., Petrakovskaya V.A., Izyumova G.V. Prevalence, morbidity, phenotypes and other characteristics of severe bronchial asthma in the Russian Federation. *Pul'monologiya = Pulmonology.* 2018;28(3):341–358. [In Russian]. doi: 10.18093/0869-0189-2018-28-3-341-358

9. Akar-Ghibril N., Casale T., Custovic A., Phipatanakul W. Allergic endotypes and phenotypes of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract*. 2020;8(2):429–440. doi: 10.1016/j.jaip.2019.11.008

10. Ricciardolo F., Guida G., Bertolini F., di Stefano A., Carriero V. Phenotype overlap in the natural history of asthma. *Eur. Respir. Rev.* 2023;32(168):220201. doi: 10.1183/16000617.0201-2022

11. Bakakos P. Asthma: from phenotypes to personalized medicine. *J. Pers. Med.* 2022;2(11):1853. doi: 10.3390/jpm12111853

12. Kim H., Ellis A., Fischer D., Noseworthy M., Olivenstein R., Chapman K.R., Lee J. Asthma biomarkers in the age of biologics. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2017;13:48. doi: 10.1186/s13223-017-0219-4

13. Rastogi D. Pediatric obesity-related asthma: A prototype of pediatric severe non-T2 asthma. *Pediatr. Pulmonol.* 2020;55(3):809–817. doi: 10.1002/ppul.24600

14. Lugogo N., Kraft M., Dixon A. Does obesity produce a distinct asthma phenotype? *J. Appl. Physiol.* 2010;108(3):729–734. doi: 10.1152/japplphysiol.00845.2009

15. Beuther D.A., Sutherland E.R. Overweight, obesity, and incident asthma: a meta-analysis of prospective epidemiologic studies. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007;175(7):661–666. doi: 10.1164/rccm.200611-1717OC

16. Fainardi V., Passadore L., Labate M., Pisi G., Esposito S. An overview of the obese-asthma phenotype in children. *Int. J. Environ Res. Public Health*. 2022;19(2):636. doi: 10.3390/ijerph19020636

17. Hanania N.A., Fortis S., Haselkorn T., Gupta S., Mumneh N., Yoo B., Holweg C.J., Chipps B.E. Omalizumab in asthma with fixed airway obstruction: post hoc analysis of EXTRA. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2022;10(1):222–228. doi: 10.1016/j.jaip.2021.08.006

18. Bakakos A., Vogli S., Dimakou K., Hillas G. Asthma with fixed airflow obstruction: from fixed to personalized approach. *J. Pers. Med.* 2022;12(3):333. doi: 10.3390/jpm12030333

19. Курбачева О.М. Фенотипы и эндотипы бронхиальной астмы: от патогенеза и клинической картины к выбору терапии. *Рос. аллерг. ж.* 2013;(1):18–24.

Kurbacheva O.M. Phenotypes and endotypes of bronchial asthma: from pathogenesis and clinical features to therapy. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergy.* 2013(1):18–24. [In Russian].

20. Ненашева Н.М. Т2-бронхиальная астма: характеристика эндотипа и биомаркеры. *Пульмонология.* 2019;29(2):216–228. doi: 10.18093/0869-0189-2019-29-2-216-228

Nenasheva N.M. T2-asthma, endotype characteristics and biomarkers. *Pul'monologiya = Pulmonology.* 2019;29(2):216–228. [In Russian]. doi: 10.18093/0869-0189-2019-29-2-216-228

21. Авдеев С.Н., Волкова О.А., Демко И.В., Игнатова Г.Л., Лещенко И.В., Канукова Н.А., Куделя Л.М., Невзорова В.А., Недашковская Н.Г., Уханова О.П., Шульженко Л.В., Фассахов Р.С. Организация помощи пациентам с тяжелой бронхиальной астмой в различных субъектах Российской Федерации. От эндотипов и фенотипов бронхиальной астмы к персонализированному выбору терапии. *Терапевт. арх.* 2020;92(2):119–123. doi: 10.26442/00403660.2020.02.000555

Avdeev S.N., Volkova O.A., Demko I.V., Ignatova G.L., Leshchenko I.V., Kanukova N.A., Kudelya L.M., Nevzorova V.A., Nedashkovskaya N.G., Ukhanova O.P., Shulzhenko L.V., Fassakhov R.S. Severe bronchial asthma patient care organization in various regions of the Russian Federation. From endotypes and phenotypes of bronchial asthma to personalized choice of therapy. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive.* 2020;92(2):119–123. [In Russian]. doi: 10.26442/00403660.2020.02.000555

22. Galeone C., Scelfo C., Bertolini F., Caminati M., Ruggiero P., Facciolongo N., Menzella F. Precision medicine in targeted therapies for severe asthma: is there any place for "Omics" technology*? Biomed. Res. Int*. 2018;2018:4617565. doi: 10.1155/2018/4617565

23. Habib N., Pasha M.A., Tang D.D. Current understanding of asthma pathogenesis and biomarkers. *Cells.* 2022;11(17):2764. doi: 10.3390/cells11172764

24. Kuruvilla M.E., Lee F.E., Lee G.B. Understanding asthma phenotypes, endotypes, and mechanisms of disease. *Clin. Rev. Allergy Immunol*. 2019;56(2):219–233. doi: 10.1007/s12016-018-8712-1

25. Hastie A.T., Moore W.C., Li H., Rector B.M., Ortega V.E., Pascual R.M., Peters S.P., Meyers D.A., Bleecker E.R., National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program. Biomarker surrogates do not accurately predict sputum eosinophil and neutrophil percentages in asthmatic subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013;132(1):72–80. doi: 10.1016/j.jaci.2013.03.044

26. Fitzpatrick A.M., Jackson D.J., Mauger D.T., Boehmer S.J., Phipatanakul W., Sheehan W.J., Moy J.N., Paul I.M., Bacharier L.B., Cabana M.D., … NIH/NHLBI AsthmaNet. Individualized therapy for persistent asthma in young children. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2016;138(6):1608–1618.e12. doi: 10.1016/j.jaci.2016.09.028

27. Nair P., Pizzichini M.M., Kjarsgaard M., Inman M.D., Efthimiadis A., Pizzichini E., Hargreave F.E., O'Byrne P.M. Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. *N. Engl. J. Med.* 2009;360(10):985–993. doi: 10.1056/NEJMoa0805435

28. Yancey S.W., Keene O.N., Albers F.C., Ortega H., Bates S., Bleecker E.R., Pavord I. Biomarkers for severe eosinophilic asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017;140(6):1509–1518. doi: 10.1016/j.jaci.2017.10.005

29. Jia G., Erickson R.W., Choy D.F., Mosesova S., Wu L.C., Solberg O.D., Shikotra A., Carter R., Audusseau S., Hamid Q., Bradding P., … Bronchoscopic Exploratory Research Study of Biomarkers in Corticosteroid-refractory Asthma (BOBCAT) Study Group. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012;130(3):647–654.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2012.06.025

30. Ragnoli B., Radaeli A., Pochetti P., Kette S., Morjaria J., Malerba M. Fractional nitric oxide measurement in exhaled air (FeNO): perspectives in the management of respiratory diseases. *Ther. Adv. Chronic. Dis.* 2023;14:20406223231190480. doi: 10.1177/20406223231190480

31. Ricciardolo F., Silkoff P. Perspectives on exhaled nitric oxide. *J. Breath Res.* 2017;11(4):047104. doi: 10.1088/1752-7163/aa7f0e

32. Alving K., Weitzberg E., Lundberg J.M. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur. Respir. J.* 1993;6(9):1368–1370.

33. Pillai P., Chan Y.C., Wu S.Y., Ohm-Laursen L., Thomas C., Durham S.R., Menzies-Gow A., Rajakulasingam R.K., Ying S., Gould H.J., Corrigan C.J. Omalizumab reduces bronchial mucosal IgE and improves lung function in non-atopic asthma. *Eur. Respir J.* 2016;8(6):1593–1601. doi: 10.1183/13993003.01501-2015

34. Bullens D.M., Truyen E., Coteur L., Dilissen E., Hellings P.W., Dupont L.J., Ceuppens J.L. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respir. Res.* 2006;7(1):135. doi: 10.1186/1465-9921-7-135

35. Brusselle G.G., Koppelman G.H. Biologic therapies for severe asthma. *N. Engl. J. Med.* 2022;386(2):157–171. doi: 10.1056/NEJMra2032506

36. Chung K.F., Dixey P., Abubakar-Waziri H., Bhavsar P., Patel P.H., Guo S., Ji Y. Characteristics, phenotypes, mechanisms and management of severe asthma. *Chin. Med. J.* 2022;135(10):1141–1155. doi: 10.1097/CM9.0000000000001990

37. Kaur R., Chupp G. Phenotypes and endotypes of adult asthma: Moving toward precision medicine. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2019;144(1):1–12. doi: 10.1016/j.jaci.2019.05.031

38. Файзуллина Р.М., Викторов В.В., Гафурова Р.Р. Персонализированная медицина бронхиальной астмы: концепция и перспективы. *Вестн. Авиценны*. 2021;23(3):418–431. doi: 10.25005/2074-0581-2021-23-3-418-431

Fayzullina R.M., Viktorov V.V., Gafurova R.R. Personalised medicine in bronchial asthma: current concepts and prospects. *Vestnik Avitsenny = Bulletin of Avicenna*. 2021;23(3):418–431. [In Russian]. doi: 10.25005/2074-0581-2021-23-3-418-4

39. Pelaia C., Calabrese C., Terracciano R., de Blasio F., Vatrella A., Pelaia G. Omalizumab, the first available antibody for biological treatment of severe asthma: more than a decade of real-life effectiveness. *Ther. Adv. Respir. Dis.* 2018;12:1753466618810192. doi: 10.1177/1753466618810192

40. Samitas K., Delimpoura V., Zervas E., Gaga M. Anti-IgE treatment, airway inflammation and remodelling in severe allergic asthma: current knowledge and future perspectives. *Eur. Respir. Rev.* 2015;24(138):594–601. doi: 10.1183/16000617.00001715

41. Giovannini M., Mori F., Barni S., de Martino M., Novembre E. Omalizumab and mepolizumab in the landscape of biological therapy for severe asthma in children: how to choose? *Ital. J. Pediatr.* 2019;45(1):151. doi: 10.1186/s13052-019-0737-4

42. Thibodeaux Q., Smith M.P., Ly K., Beck K., Liao W., Bhutani T. A review of dupilumab in the treatment of atopic diseases. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2019;15(9):2129–2139. doi: 10.1080/21645515.2019.1582403

43. Castro M., Corren J., Pavord I.D., Maspero J., Wenzel S., Rabe K.F., Busse W.W., Ford L., Sher L., Fitz Gerald J.M.,… Teper A. Dupilumab efficacy and safety in moderate-to-severe uncontrolled asthma. *N. Engl. J. Med.* 2018;378(26):2486–2496. doi: 10.1056/NEJMoa1804092

44. Paller A.S., Simpson E.L., Siegfried E.C., Cork M.J., Wollenberg A., Arkwright P.D., Soong W., Gonzalez M.E., Schneider L.C., Sidbury R., … Participating investigators. Dupilumab in children aged 6 months to younger than 6 years with uncontrolled atopic dermatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2022;400(10356):908–919. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01539-2

45. Jackson D.J., Bacharier L.B., Gergen P.J., Gagalis L., Calatroni A., Wellford S., Gill M.A., Stokes J., Liu A.H., Gruchalla R.S.,… US National Institute of Allergy and Infectious Disease's Inner City Asthma Consortium. Mepolizumab for urban children with exacerbation-prone eosinophilic asthma in the USA (MUPPITS-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group trial. *Lancet.* 2022;400(10351):502–511. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01198-9

46. Farne H.A., Wilson A., Powell C., Bax L., Milan S.J. Anti-IL5 therapies for asthma. *Cochrane Database Syst. Rev*. 2017;9(9):CD010834. doi: 10.1002/14651858.CD010834.pub3

47. Venditto L., Morano S., Ferrante G., Piazza M., Tenero L., Piacentini G., Pecoraro L. The evolution of scientific knowledge in childhood asthma over time: a surprising history. *Children (Basel).* 2024;11(2):262. doi: 10.3390/children11020262

Сведения об авторах:

Ибишева Асет Хамидовна, ORCID: 0000-0003-4732-4515, e-mail: ibisheva18@mail.ru
Шахгиреева Мадина Руслановна, к.м.н., e-mail: zlata-28@mail.ru
Хильдихароева Ася Багаудиновна, e-mail: asya.khildharoeva@mail.ru
Успанова Линда Сулийманова, e-mail: linda/udpanova96@mail.ru
Шамсадова Сайхат Амхадовна, e-mail: shamsadova@mail.ru
Джабраилова Линда Ваха-Мурадовна, e-mail: djabrailova.linda@mail.ru

Information about the authors:

Aset Kh. Ibisheva, ORCID: 0000-0003-4732-4515, e-mail: ibisheva18@mail.ru
Madina R. Shakhgireeva, candidate of medical sciences**,** e-mail: zlata-28@mail.ru
Asya B. Khildikharoeva, e-mail: asya.khildharoeva@mail.ru
Linda S. Uspanova, e-mail: linda/udpanova96@mail.ru
Saikhat A. Shamsadova, e-mail: shamsadova@mail.ru
Linda V.-M. Dzhabrailova, e-mail: djabrailova.linda@mail.ru

Поступила в редакцию 16.06.2024
После доработки 12.08.2024
Принята к публикации 12.11.2024

Received 16.06.2024
Revision received 12.08.2024
Accepted 12.11.2024

УДК 616.1-08 DOI: 10.18699/SSMJ20240605
Обзор литературы / Review article

Проблемы управления приверженностью у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (обзор литературы)

Ю.С. Игнатова[1], Я.И. Брюханов[1], Т.Б. Печерина[1], О.Л. Барбараш[1, 2]

[1] НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний
650002, г. Кемерово, б-р им. Академика Л.С. Барбараша, 6
[2] Кемеровский государственный медицинский университет Минздрава России
650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

Резюме

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются одной из главных проблем в большинстве стран современного мира. В связи с этим поддержание приверженности к лечению и профилактике ССЗ является приоритетным направлением в борьбе с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. По данным ВОЗ, недостаточная приверженность к лечению представляет собой актуальную проблему медицины. Приблизительно 35 % пациентов отменяет прием препаратов в течение года после перенесенного острого сердечно-сосудистого события, что приводит к трехкратному увеличению риску развития осложнений. Цель обзора – осветить проблему низкой приверженности к лечению в аспекте ССЗ и выделить основные методы ее повышения. Отражены основные аспекты управления приверженностью, рассмотрены факторы, приводящие к снижению уровня контроля над заболеванием, отмечены причины низкой приверженности к лечению, обозначены методы ее повышения у пациентов с ССЗ.

Ключевые слова: приверженность, методы оценки, сердечно-сосудистые заболевания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Игнатова Ю.С., e-mail: julia-smolina@mail.ru
Для цитирования: Игнатова Ю.С., Брюханов Я.И., Печерина Т.Б., Барбараш О.Л. Проблемы управления приверженностью у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):48–56. doi: 10.18699/SSMJ20240605

Challenges in managing adherence in patients with cardiovascular disease (review)

Yu.S. Ignatova[1], Ya.I. Bryukhanov[1], T.B. Pecherina[1], O.L. Barbarash[1, 2]

[1] Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases
650002, Kemerovo, Academician Barbarash blvd., 6
[2] Kemerovo State Medical University of Minzdrav of Russia
650029, Kemerovo, Voroshilova st., 22a

Abstract

Cardiovascular diseases (CVD) remain one of the main problems in most countries of the modern world. In this connection, maintaining adherence to the treatment and prevention of CVD is a priority in the fight against diseases of the cardiovascular system. According to the WHO, insufficient adherence to treatment is an urgent medical problem. Approximately 35 % of patients cancel taking medications within a year after an acute cardiovascular event, which leads to a threefold increase in the risk of complications. The purpose of the review is to highlight the problem of low adherence in the aspect of CVD and highlight the main methods of increasing adherence to treatment. This article reflects the main aspects of adherence management, considers the factors leading to a decrease in the level of disease control, identifies the causes of low adherence, and identifies methods for increasing adherence to treatment in patients with CVD.

Key words: adherence, assessment methods, cardiovascular diseases.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest
Correspondence author: Ignatova Yu.S., e-mail: julia-smolina@mail.ru
Citation: Ignatova Yu.S., Bryukhanov Ya.I., Pecherina T.B., Barbarash O.L. Challenges in managing adherence in patients with cardiovascular disease (review). *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):48–56. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240605

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смертности во всем мире. По оценкам ВОЗ, в 2021 г. от болезней системы кровообращения умерло 20,5 млн человек, что составило около трети от всех случаев смерти в мире [1]. По данным Росстата, болезни сердца и кровообращения занимают 30 % от всех случаев заболеваний в России [2]. ССЗ ассоциированы с длительной медикаментозной терапией, в связи с чем приверженность к лечению имеет в этом процессе решающее значение.

Проблема приверженности к выполнению врачебных рекомендаций известна как в медицине в целом, так и в отдельных ее направлениях (как правило, в терапевтическом). По мере развития фармакологии увеличивается число различных медикаментозных стратегий (особенно для коморбидных пациентов), что влечет за собой проблемы, связанные с приверженностью. Продемонстрирована важная роль низкой приверженности к лечению в развитии неблагоприятных событий у больных ССЗ [2]. Число научных исследований, посвященных изучению приверженности пациентов, поиску методов оценки и управления приверженностью, неуклонно растет, что свидетельствует о значимости проблемы. С развитием информационных технологий, совершенствованием методов терапии вопрос о приверженности к лечению уже давно должен был найти решение, тем не менее, по данным ВОЗ, недостаточная приверженность представляет собой актуальную проблему медицины и ассоциируется с большим процентом неуспеха в проводимых лечебных мероприятиях [3].

В настоящее время ВОЗ предложена классификация факторов, оказывающих влияние на приверженность, которые распределены на пять групп: факторы, связанные с пациентом; факторы, связанные с медицинским персоналом и системой здравоохранения; факторы лекарственной терапии; факторы заболевания; группа социально-экономических факторов [4]. Несмотря на то что изучение приверженности пациентов проводится уже многие годы, до сих пор этому понятию не дано единого определения. Наиболее популярным и часто цитируемым остается определение из доклада ВОЗ (2003 г.), обозначающее приверженность как степень соблюдения пациентом рекомендаций врача по приему лекарственных препаратов, особенностям диетических предписаний и изменению образа жизни [5]. Однако на современном этапе исследования проблемы становится понятным, что это определение отражает лишь один из многочисленных аспектов приверженности. Поэтому определение российских ученых более полно характеризует данное понятие «как степень соответствия поведения человека касательно принятия лекарственных средств, изменения образа жизни, соблюдения рекомендаций врача» [6].

Цель обзора – осветить проблему низкой приверженности к лечению в аспекте ССЗ и выделить основные методы повышения приверженности.

Методология поиска литературы

Поиск литературных источников осуществлялся в базах данных ClinicalTrials, PubMed, eLIBRARY.RU на русском и английском языках за период 2013–2023 гг. Поисковые запросы включали в себя слова: «medication adherence», «приверженность лечению», «cardiovascular diseases», «сердечно-сосудистые заболевания». Поиск включал обзоры литературы, метаанализы и рандомизированные контролируемые исследования, не рассматривались постерные доклады, диссертации и материалы симпозиумов. Всего проанализировано 70 источников литературы, из них 34 источника были исключены по следующим причинам: малая выборка пациентов, включение в анализ пациентов с другой соматической патологией, помимо сердечно-сосудистых заболеваний.

Методы оценки приверженности к лечению

В зависимости от выбранных методов (клинических, лабораторных, социально-психологических, физических и др.) можно оценить разные аспекты формирования приверженности пациента к терапии и рекомендациям. Однако у каждой группы методов есть свои преимущества и недостатки.

Клинические методы

Суть данной категории методов заключается в оценке приверженности к терапии по состоянию

пациента во время приема врача: рассматривается клиническая картина заболевания (данные анамнеза), по которой изучается динамика развития заболевания и ее изменение под воздействием терапии. Помимо клинической картины данный метод включает оценку динамики физикальных показателей (частота сердечных сокращений, частота пульса, показатели артериального давления). Преимущества метода очевидны: простота, удобство и прямое отношение к непосредственной работе врача делает метод широко применимым в клинической практике [7]. Однако у такого подхода к оценке приверженности есть существенный недостаток – на «клинический ответ» (динамику состояния) могут повлиять другие факторы, зачастую не связанные с приверженностью, например, особенности метаболизма, низкая абсорбция лекарственного препарата, отсутствие ответа на лечение и др.

Лабораторные методы

Лабораторные методы позволяют оценить приверженность с помощью измерения концентрации лекарственных препаратов, их метаболитов в крови, в моче или тех лабораторных показателей, на которые воздействуют принимаемые лекарственные средства. Данный метод обладает высокой точностью и является достаточно объективным, чтобы оценить приверженность пациента. Однако высокая стоимость методов оценки фармакокинетики и фармакодинамики препаратов, временные затраты, сложность в проведении лабораторного исследования не дают данным подходам широко распространиться в клинической практике [8].

Физические методы

Методология данного подхода заключается в учете приема лекарственного препарата (подсчет лекарственных блистеров, таблеток и т.д.). К недостаткам данного метода относятся возможная потеря лекарства, прием препарата из разных блистеров, вскрытие блистеров для раскладки препарата в таблетницу и т.д. [8]. Дневник самоконтроля является еще одним простым способом диагностики приверженности, при котором пациент самостоятельно следит за принятием лекарственных средств. Однако уставлено, что у пациентов присутствует склонность завышать реальную приверженность, по этой причине надежность метода невысока [9].

Система мониторинга лекарственных событий (the Medication Event Monitoring System, MEMS) заключается в регистрации момента вскрытия упаковки и фиксации времени, необходимого для извлечения дозы лекарственного препарата. Это достигается путем встраивания микросхем в фармацевтические упаковки различной конструкции. Такая автоматическая компиляция времени приема лекарства обеспечивает тщательную характеристику приверженности к приему препаратов с четким разграничением между началом, применением и прекращением приема. MEMS позволяет спрогнозировать концентрацию лекарственного средства в крови в определенное время при условии, что пациент действительно его принимает. Использование MEMS и неэлектронных методов оценки приверженности (подсчет количества таблеток, напоминание о приеме лекарств с помощью СМС-сообщений) позволило увеличить ее медиану на 8 и 17 % соответственно. Эти различия позволяют предположить, что неэлектронные методы оценки могут привести к переоценке приверженности к лечению [10].

Методы опроса и шкалы оценки

Следует отметить, что ни один из предлагаемых на сегодняшний день способов диагностики приверженности к лечению не является абсолютно эффективным. Поэтому ее оценка в реальной клинической практике осуществляется несколькими путями и, как правило, объединяет перечисленные методики. Чаще всего используется опрос и беседа с пациентом – простой и удобный в использовании метод. Также можно обозначить преимуществом этого метода то, что при беседе с пациентом можно попытаться выстроить систему повышения приверженности. Одним из наиболее часто используемых и удобных методов оценки приверженности в условиях реальной клинической практики является анкетирование пациентов. Согласно систематическому обзору T. Nguyen et al., в настоящее время существует более 40 опросников по оценке приверженности пациентов к лечению [11].

Наиболее известным, простым и лаконичным признан тест Мориски – Грина, широко применяемый в клинической практике для скрининга приверженности пациентов. Тест включает в себя четыре вопроса (4-item Morisky Medication Adherence Scale – MMAS-4), определяющих, пропускает ли больной прием лекарственных препаратов, чувствует себя хорошо или плохо, забывает ли он принимать лекарства и внимательно ли относится к рекомендованному времени приема препаратов. Существует модернизированный вариант шкалы – MMAS-8. В настоящее время он также широко используется разными странами в различных типах исследований [12]. Тем не менее у этого метода диагностики есть свои недостатки: опросники переоценивают приверженность пациентов к лечению и не полностью диагностируют неприверженность к терапии [13]. Также сле-

дует учесть, что большинство опросников имеют долю субъективизма.

Метод оценки доступности получения лекарственных препаратов

Medication Possession Ratios (MPR) – повсеместный и основной показатель приверженности лечению в отрасли здравоохранения зарубежных стран. MPR суммирует количество доступного пациенту лекарственного препарата в течение определенного периода, деленное на количество дней в этом периоде. В исследовании F. Rodriguez et al. пороговое значение MPR нормальной приверженности к лечению у пациентов с атеросклеротическими ССЗ определялось как 80 % и более. Так, например, низкий уровень приверженности к приему статинов (MPR 50 %) ассоциировался с большей смертностью, в отличие от других групп, где приверженность была больше 50 % [14]. В то же время C. Sperber et al. в своем исследовании продемонстрировали неоднозначность использования MPR в виде статического цифрового значения, что ограничивает его использование при сравнении вида лечения, формы лекарственного препарата, когорты пациентов и т.д. Кроме того, MPR так же как и метод анкетирования, завышает показатель приверженности к лечению [15].

Факторы, ассоциированные с низкой приверженностью к лечению

Низкая приверженность к лечению в настоящее время остается одной из ведущих проблем системы здравоохранения. Доказано, что она уменьшает эффективность лечения и повышает затраты, увеличивает риск развития осложнений заболевания и ухудшает прогноз в целом. Проблема низкой приверженности является очень актуальной, особенно в контексте хронических заболеваний, при которых рекомендовано непрерывное и неопределенно долгое соблюдение врачебных рекомендаций [16].

На рисунке представлены группы факторов, ассоциированные с низкой приверженностью к лечению [17].

Факторы, связанные с пациентом

В группе факторов, связанных с пациентом, выделяют личностные характеристики пациента: забывчивость, недоверие к врачу, непонимание его инструкций и т.д. (см. рисунок). Группа тайваньских ученых исследовала поведенческие факторы, связанные с несоблюдением режима лечения у пациентов с гипертонической болезнью. Наиболее частым проявлением несоблюдения режима лечения было забывание приема лекарственного препарата (28,6 %) с последующим прекращением его приема (9,2 %) и снижением дозы (8,8 %). По результатам исследования возраст ≥ 65 лет (отношение шансов [ОШ] = 0,32, 95%-й доверительный интервал (95 % ДИ) 0,15–0,69) и мужской пол (ОШ = 2,61, 95 % ДИ 1,31–5,19) ассоциировались с пропуском приема препарата, а наличие сопутствующих заболеваний (сахарного диабета, хронических заболеваний почек, бессонницы) – со снижением дозы препарата (ОШ = 3,97, 95 % ДИ 1,30–12,1) [18].

Факторы, связанные с медицинским персоналом и системой здравоохранения

Проблема приверженности к лечению в настоящее время актуальна как для развитых, так

Основные факторы, обусловливающие низкую приверженность пациентов лечению

The main factors contributing to low patient adherence to treatment

и развивающихся стран. Безусловно, развитие медицины в общем, образование медицинского персонала прямо коррелируют с уровнем приверженности к лечению. А сокращенное время консультации врача приводит к неправильному выстраиванию отношений системы «врач – пациент», тем самым исходно приводя к снижению приверженности лечению.

Факторы, связанные с лекарственным препаратом

В фармакотерапии ССЗ немаловажную роль играют стоимость лекарственного препарата, развитие нежелательных реакций, прием большого количества препаратов. Все эти факторы обратно пропорциональны приверженности к терапии. Установлено, что пациенты более строго соблюдают режим лечения перед посещением врача и в течение 5 дней с момента визита, чем через 30 дней – так называемая «приверженностью к белому халату» [19].

Факторы заболевания

В ходе исследования H. Abbas et al. многофакторный анализ выявил, что такие факторы, как ожирение и высокий уровень эмоционального стресса, ассоциировались с несоблюдением режима лечения у больных гипертонической болезнью [20]. Депрессия и тревожные состояния являются серьезной проблемой у пациентов с ССЗ, так как примерно у 20–35 % больных имеется большое депрессивное расстройство или присутствуют его начальные симптомы [21, 22]. Депрессия связана со снижением мотивации, которая приводит к уменьшению приверженности к лечению и делает больного ССЗ с депрессией более уязвимым к развитию неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [21]. После развития острого коронарного синдрома депрессия является самостоятельным фактором риска смертности от всех причин, в том числе и от сердечно-сосудистых событий [23]. Однако установлено, что связь между депрессией и ССЗ имеет двунаправленный характер: не только депрессия может увеличить риск развития ССЗ, но и сердечно-сосудистые события могут увеличивать риск развития депрессии [22, 24]. Согласно метаанализу C. Emdin et al., тревога и депрессия связаны с повышенным риском смертности от ССЗ (относительный риск (ОР) 1,41, 95 % ДИ 1,13–1,76), ишемической болезни сердца (ОР 1,41, 95 % ДИ 1,23–1,61), инсульта (ОР 1,71, 95 % ДИ 1,18–2,50) и хронической сердечной недостаточности (ХСН) (ОР 1,35, 95 % ДИ 1,11–1,64) [25]. В метаанализе, опубликованном D. Kessing et al., установлено, что между тревогой и приверженностью к самопомощи у больных ХСН наблюдалась обратная взаимосвязь: чем выше уровень тревоги, тем ниже приверженность к самопомощи и применению медикаментозной терапии [26].

Социально-экономические факторы

A. Gast et al. по данным 21-го систематического обзора проанализировали группы факторов, влияющих на приверженность к лечению среди пациентов с различными хроническими заболеваниями, в том числе сердечно-сосудистыми [27]. Из социально-экономических факторов уровень образования, высокий социальный статус, белая этническая принадлежность (в США) положительно влияли на приверженность среди пациентов с ССЗ. Такие факторы, как финансовый статус, семейное положение, социальная поддержка, были неопределенными. Ни один из факторов, связанных с лекарственными препаратами, не продемонстрировал значимого влияния на приверженность [27].

Результаты рандомизированного исследования M. Biddle et al., напротив, показали, что наиболее частыми факторами, ассоциированными с низкой приверженностью к лечению у пациентов с ХСН, являются мужской пол, низкий социально-экономический статус, недостаточная осведомленность о заболевании, коморбидность, когнитивная дисфункция и психологический стресс [28]. В систематическом обзоре M. Gutierrez et al. среди больных гипертонической болезнью с низкой приверженностью к терапии были ассоциированы молодой возраст, отсутствие брака, низкий уровень образования, безработица, низкий уровень грамотности и осведомленности в вопросах заболевания [29]. Группа польских ученых изучала факторы, влияющие на приверженность к лечению среди больных гипертонической болезнью с помощью шкалы The Hill-Bone Compliance to High Blood Pressure Therapy Scale (Hill-Bone CHBPTS). Установлено, что пожилой возраст, женский пол, отсутствие семьи являлись наиболее значимыми факторами более низкой приверженности к лечению. Напротив, высокую приверженность имели работающие пациенты, с высшим образованием и хорошей семейной поддержкой [30]. Пул исследований, посвященных изучению приверженности в различных возрастных группах, показал, что возраст не имеет линейной связи с приверженностью, а наоборот, менее привержены к лечению очень молодые люди и лица старческого возраста [27].

Методы повышения приверженности к лечению

На данный момент не существует универсальной стратегии повышения приверженности, поскольку проблема несет многофакторный характер. Тем не менее можно выделить несколько

перспективных подходов к повышению приверженности.

Упрощение схемы приема лекарственных препаратов

Одним из примеров данного подхода является прием комбинированных лекарственных препаратов длительного действия, включающих более одного действующего вещества. Если требуется прием лекарств несколько раз в день, рационально согласовать его согласно повседневной деятельности пациента.

Использование средств напоминания о приеме лекарственного препарата

В настоящее время доступны различные способы, помогающие пациентам правильно организовать прием лекарственных препаратов: использование таблетниц, СМС-оповещений, мобильных приложений. В 2014 г. были опубликованы результаты американского исследования среди пациентов, перенесших острый коронарный синдром (ОКС). Использование СМС-оповещений позволило увеличить приверженность лечению на протяжении 1 года после ОКС (89,3 %, в группе сравнения – 73,9 %, p = 0,003) [31]. В исследовании S. Khonsari et al. доказано увеличение приверженности лечению при использовании СМС-напоминаний среди пациентов после ОКС [32]. В систематическом обзоре S. Al-Arkee et al. рассматривались рандомизированные клинические исследования (РКИ) с использованием медицинских мобильных приложений как средства для повышения приверженности к лечению. Метаанализ 6 РКИ показал значительный общий эффект влияния их применения на медикаментозную приверженность (ОШ 0,90, 95 % ДИ 0,03–1,78). Кроме того, в 9 РКИ были получены отдаленные положительные эффекты, ассоциированные с увеличением приверженности в группе использования мобильного приложения: снижение артериального давления, содержания общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности [33]. Y. Peng et al. в систематическом обзоре (14 исследований с общим участием 1785 пациентов с хроническими заболеваниями) сообщили о повышении приверженности к лечению у пациентов, которые пользуются мобильными приложениями, позволяющими контролировать прием препаратов (Cohen's d = 0,40, 95 % ДИ = 0,27–0,52; p < 0,001) [34]. Аналогичный эффект продемонстрирован в систематическом обзоре V. Pérez-Jover et al. [35].

Передача знаний пациенту

По результатам многих исследований установлено, что пациенты не всегда понимают инструкции по назначению лекарственных препаратов и часто не задают интересующие их вопросы своему лечащему врачу [36]. Кроме того, не всегда информация, поступающая от медицинского работника, доступна для понимания пациента. В этой связи очевидна высокая значимость доступности озвученной врачом медицинской информации (разъяснение диагноза, механизмов и схем лечения, возможных побочных эффектов и др.). Если пациент имеет когнитивные нарушения, врачу целесообразно беседовать с близкими членами его семьи о правильном режиме лечения.

Доказано, что регулярное наблюдение пациента у врача способствует большей приверженности к лечению, чем просто обучение. В исследовании A. Gjesing et al., в котором приняли участие 8792 больных ХСН, выявлена высокая приверженность к медикаментозной терапии у наблюдавшихся в специализированных амбулаторных клиниках. За 90 дней до поступления в клиники 87 % пациентов получали блокаторы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), 72 % – бета-блокаторы и 30 % – спиронолактон. Спустя 90 дней наблюдения 95 % обследованных оставались на терапии блокаторами РААС, 88 % продолжали принимать бета-блокаторы и 38 % – спиронолактон. Приверженность к лечению через 1 год оставалась высокой: 93 % – для ингибиторов РААС, 92 % – для бета-блокаторов и 86 % – для спиронолактона. Результаты свидетельствуют о сохранении высокой приверженности к терапии у пациентов при постоянном наблюдении их лечащим врачом [37].

Повышение медицинской грамотности пациентов

Результаты исследования N. Pourhabibi et al. среди пациентов с сахарным диабетом 2 типа показали, что медицинская грамотность, уровень дохода и содержание гликированного гемоглобина были основными предикторами, ассоциированными с приверженностью к лечению. Также установлено, что приверженность пациентов увеличивалась по мере повышения их медицинской грамотности [38], которая определяется как способность получать, обрабатывать, понимать основную медицинскую информацию, необходимую для понимания своего состояния здоровья, а также диагностических и лечебных мероприятий.

Согласно метаанализу T. Miller, приверженность пациентов с более высоким уровнем медицинской грамотности на 14 % больше, чем больных с низкой медицинской грамотностью. Кроме того, средняя корреляция между медицинской грамотностью (исследованной с помощью опросников) и приверженностью пациента к лечению

выше у пациентов с ССЗ, чем у страдающих другими заболеваниями [39].

Таким образом, представленные методы повышения приверженности к лечению эффективны и способствуют улучшению течения ССЗ. Однако говорить о прямом влиянии данных методов на клинический исход трудно, так как сложно оценить самостоятельный вклад высокой приверженности в изменение клинических показателей. Данная ситуация обусловливает необходимость рандомизированных контролируемых клинических исследований по изучению эффективности различных методов управления приверженностью.

Заключение

Несоблюдение режима лечения представляет собой распространенное явление и напрямую ассоциировано с неблагоприятными исходами большинства нозологических форм заболеваний. Дальнейшее изучение возможных причин, методов диагностики, а также способов управления приверженностью позволит улучшить потенциальные терапевтические эффекты. Приверженность лечению может оказать огромное влияние на качество и продолжительность жизни, состояние здоровья и общие затраты на здравоохранение. Вовлечение пациентов и медицинской команды имеет важное значение для успеха в обеспечении соблюдения режима лечения и эффекта от проводимой терапии.

Список литературы / References

1. Здоровье сердечно-сосудистой системы для всех. Режим доступа: https://world-heart-federation.org

Cardiovascular health for everyone. Available at: https://world-heart-federation.org [In Russian].

2. Здравоохранение в России. 2017: Стат. сб. / Росстат. М., 2017. 170 с.

Healthcare in Russia. 2017: Stat. Sat. / Rosstat. Moscow, 2017. – 170 p. [In Russian].

3. Sabaté E., de Geest S. Adherence to long-term therapies management: a call for cardiovascular nursing managers and policymakers. *Prog. Cardiovasc. Nurs*. 2004;19(1):28–29. doi: 10.1111/j.0889-7204.2004.02896.x

4. Лукина Ю.В., Кутишенко Н.П., Марцевич С.Ю. Приверженность лечению: современный взгляд на знакомую проблему. *Кардиоваскуляр. терапия и профилакт*. 2017;16(1):91–95. doi: 10.15829/1728-8800-2017-1-91-95

Lukina Yu.V., Kutishenko N.P., Martsevich S.Yu. Treatment adherence: modern view on a well known issue. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2017;16(1):91–95. [In Russian]. doi: 10.15829/1728-8800-2017-1-91-95

5. WHO. Adherence to long-term therapies: evidence for action. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Geneva: WHO, 2003.

6. Барбараш О.Л., Петрова М.М., Чумакова Г.А., Давидович И.М., Трубникова О.А., Куприянова Т.В., Еремина О.В., Прокопенко С.В., Каскаева Д.С., Деменко Т.Н. Когнитивные расстройства при сердечно-сосудистых заболеваниях. Новосибирск: Наука, 2020. 232 с.

Barbarash O.L., Petrova M.M., Chumakova G.A., Davidovich I.M., Trubnikova O.A., Kupriyanova T.V., Eremina O.V., Prokopenko S.V., Kaskaeva D.S., Demenko T.N. Cognitive disorders in cardiovascular diseases. Novosibirsk: Nauka, 2020. 232 p. [In Russian].

7. Lam W.Y., Fresco P. Medication adherence measures: an overview. *Biomed. Res. Int.* 2015;2015:217047. doi: 10.1155/2015/217047

8. Tanna S., Lawson G. Analytical chemistry for assessing medication adherence. Elsevier Inc., 2016, 142 p.

9. Фролова Е.В., Огорелышева А.И., Спасенова Е.С., Халилова Т.Р. Дневник самоконтроля состояния пациента как способ повышения приверженности лечению больных сердечной недостаточностью. *Рос. семейн. врач*. 2019;23(2):21–26. doi: 10.17816/RFD2019221-26

Frolova E.V., Ogorelysheva A.I., Spasenova E.S., Halilova T.R. Diary of self-monitoring of the patient as a way to increase adherence to the treatment of patients with chronic heart failure. *Rossiyskiy semeynyy vrach = Russian Family Doctor.* 2019;23(2):21–26. [In Russian]. doi: 10.17816/RFD2019221-26

10. Alili M., Vrijens B., Demonceau J., Evers S.M, Hiligsmann M. A scoping review of studies comparing the medication event monitoring system (MEMS) with alternative methods for measuring medication adherence. *Br. J. Clin. Pharmacol*. 2016;82(1):268–279. doi: 10.1111/bcp.12942

11. Nguyen T., La Caze A., Cottrell N. What are validated self-report adherence scales really measuring? A systematic review. *Br. J. Clin. Pharmacol*. 2014;77(3):427–445. doi: 10.1111/bcp.12194

12. Abegaz T.M., Shehab A., Gebreyohannes E.A., Bhagavathula A.S., Elnour A.A. Nonadherence to antihypertensive drugs: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore*). 2017;96(4):e5641. doi: 10.1097/MD.0000000000005641

13. Лукина Ю.В., Кутишенко Н.П., Марцевич С.Ю., Шепель Р.Н., Драпкина О.М. Методические рекомендации: «Приверженность к лекарственной терапии у больных хроническими неинфекционными заболеваниями. Решение проблемы в ряде клинических ситуаций». *Профилакт. мед*. 2020;23(3-2):42–60. doi: 10.17116/profmed20202303242

Lukina Yu.V., Kutishenko N.P., Martsevich S.Yu., Shepel' R.N., Drapkina O.M. Methodological recom-

mendations: “Adherence to drug therapy in patients with chronic non-communicable diseases. Addressing the problem in a number of clinical situations”. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health.* 2020;23(3-2):42–60. [In Russian]. doi: 10.17116/profmed20202303242

14. Rodriguez F., Maron D., Knowles J., Virani S.S., Lin S., Heidenreich P.A. Association of statin adherence with mortality in patients with atherosclerotic cardiovascular disease. *JAMA Cardiol.* 2017;2(1):47–54. doi: 10.1001/jamacardio.2016.4052

15. Sperber C., Samarasinghe S., Lomax G. An upper and lower bound of the Medication Possession Ratio. *Patient Prefer. Adherence*. 2017;11:1469–1478. doi: 10.2147/PPA.S136890

16. Барбараш О.Л., Печерина Т.Б. Современные пути снижения летальности при инфаркте миокарда. Что необходимо предпринять? *Сиб. науч. мед. ж.* 2023;43(5):6–13. doi: 10.18699/SSMJ20230501

Barbarash O.L., Pecherina T.B. Modern ways to reduce mortality in myocardial infarction. What should be done? *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2023;43(5):6–13. [In Russian)]. doi: 10.18699/SSMJ20230501

17. Rusu R.N., Ababei D.C., Stanciu G.D., Neamțu M., Macadan I., Lazăr C.I., Bild V. Adherence to treatment – reviewing methods of assessment and improvement. *Farmacia*. 2023;71(2):236–243. doi: 10.31925/farmacia.2023.2.2

18. Chang S., Lu I., Chen Y., Hsuan C.F., Lin Y.J., Chuang H.Y. Behavioral factors associated with medication nonadherence in patients with hypertension. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021;18(18):9614. doi: 10.3390/ijerph18189614

19. Фитилёв С.Б., Возжаев А.В., Шкребнева И.И., Клюев Д.А., Степанян Л.Н. Приверженность фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний: современное состояние вопроса. *Качеств. клин. практ.* 2019;(4):66–80. doi: 10.1016/2588-0519-2019-4-66-80

Fitilev S.B., Vozzhaev A.V., Shkrebneva I.I., Klyuev D.A., Stepanyan L.N. Medication adherence in patients with cardiovascular disease: current view of the problem. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika = High-Quality Clinical Practice*. 2019;(4):66–80. [In Russian]. doi: 10.1016/2588-0519-2019-4-66-80

20. Abbas H., Kurdi M., de Vries F., van Onzenoort H.A.W., Driessen J.H.M., Watfa M., Karam R. Factors associated with antihypertensive medication non-adherence: A cross-sectional study among Lebanese hypertensive adults. *Patient Prefer. Adherence*. 2020;14:663–673. doi: 10.2147/PPA.S238751

21. Dhar A., Barton D. Depression and the link with cardiovascular disease. *Front. Psychiatry*. 2016;7:33. doi: 10.3389/fpsyt.2016.00033

22. Spence S., March S., Donovana C. Social support as a predictor of treatment adherence and response in an open-access, self-help, internet-delivered cognitive behavior therapy program for child and adolescent anxiety. *Internet Interv.* 2019;18:100268. doi: 10.1016/j.invent.2019.100268

23. Lichtman J.H., Froelicher E.S., Blumenthal J.A., Carney R.M., Doering L.V., Frasure-Smith N., Freedland K.E., Jaffe A.S., Leifheit-Limson E.C., Sheps D.S., … American Heart Association Statistics Committee of the Council on Epidemiology and Prevention and the Council on Cardiovascular and Stroke Nursing. Depression as a risk factor for poor prognosis among patients with acute coronary syndrome: systematic review and recommendations. *Circulation*. 2014;129(12):1350–1369. doi: 10.1161/CIR.0000000000000019

24. Hare D.L., Toukhsati S.R., Johansson P., Jaarsma T. Depression and cardiovascular disease: A clinical review. *Eur. Hear. J.* 2014;35:1365–1372. doi: 10.1093/eurheartj/eht462

25. Emdin C., Odutayo A., Wong C., Tran J., Hsiao A.J., Hunn B.H.M. Meta-analysis of anxiety as a risk factor for cardiovascular disease. *Am. J. Cardiol*. 2016; 118(4):511–519. doi: 10.1016/j.amjcard.2016.05.041

26. Kessing D., Denollet J., Widdershoven J., Kupper N. Psychological determinants of heart failure self-care: systematic review and meta-analysis. *Psychosom. Med.* 2016;78(4):412–431. doi: 10.1097/PSY.0000000000000270

27. Gast A., Mathes T. Medication adherence influencing factors-an (updated) overview of systematic reviews. *Syst. Rev.* 2019; 8(1):112. doi: 10.1186/s13643-019-1014-8

28. Biddle M., Moser D., Pelter M., Robinson S., Dracup K. Predictors of adherence to self-care in rural patients with heart failure. *J. Rural Health*. 2020;36(1):120–129. doi: 10.1111/jrh.12405

29. Gutierrez M., Sakulbumrungsil R. Factors associated with medication adherence of hypertensive patients in the Philippines: a systematic review. *Clin. Hypertens*. 2021;27(1):19. doi: 10.1186/s40885-021-00176-0

30. Uchmanowicz B., Chudiak A., Uchmanowicz I., Rosińczuk J., Froelicher E.S. Factors influencing adherence to treatment in older adults with hypertension. *Clin. Interv. Aging*. 2018;13:2425–2441. doi: 10.2147/CIA.S182881

31. Ho P.M., Lambert-Kerzner A., Carey E.P., Fahdi I.E., Bryson Ch.L., Melnyk S.D., Bosworth H.B., Radcliff T., Davis R., Mun H., … Giacco E.J.D. Multifaceted intervention to improve medication adherence and secondary prevention measures after acute coronary syndrome hospital discharge: a randomized clinical trial. *JAMA Intern. Med.* 2014;174(2):186–193. doi: 10.1001/jamainternmed.2013.12944

32. Khonsari S., Subramanian P., Chinna K., Latif L.A., Ling L.W., Gholami O. Effect of a reminder system using an automated short message service on medication adherence following acute coronary syn-

drome. *Eur. J. Cardiovasc. Nurs*. 2015;14(2):170–179. doi: 10.1177/1474515114521910

33. Al-Arkee S., Mason J., Lane D.A., Fabritz L., Chua W., Haque M.S., Jalal Z. Mobile apps to improve medication adherence in cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *J. Med. Internet Res*. 2021;23(5):e24190. doi: 10.2196/24190

34. Peng Y., Wang H., Fang O., Xie L., Shu L., Sun W., Liu Q. Effectiveness of mobile applications on medication adherence in adults with chronic diseases: a systematic review and meta-analysis. *J. Manag. Care Spec. Pharm.* 2020;26(4):550–561. doi: 10.18553/jmcp.2020.26.4.550

35. Pérez-Jover V., Sala-González M., Guilabert M., Mira J.J. Mobile apps for increasing treatment adherence: systematic review. *J. Med. Internet Res*. 2019;21(6):e12505. doi: 10.2196/12505

36. Atreja A., Bellam N., Levy S.R. Strategies to enhance patient adherence: making it simple. *MedGenMed*. 2005;7(1):4.

37. Gjesing A., Schou M., Torp-Pedersen C., Køber L., Gustafsson F., Hildebrandt P., Videbæk L., Wiggers H., Demant M., Charlot M., Gislasonet G.H. Patient adherence to evidence-based pharmacotherapy in systolic heart failure and the transition of follow-up from specialized heart failure outpatient clinics to primary care. *Eur. J. Heart Fail.* 2013;15(6):671–678. doi: 10.1093/eurjhf/hft011

38. Pourhabibi N., Mohebbi B., Sadeghi R., Shakibazadeh E., Sanjari M., Tol A., Yaseri M. Factors associated with treatment adherence to treatment among in patients with type 2 diabetes in Iran: A cross-sectional study. *Front. Public Health*. 2022;10:976888. doi: 10.3389/fpubh.2022.976888

39. Miller T.A. Health literacy and adherence to medical treatment in chronic and acute illness: A meta-analysis. *Patient Educ. Couns*. 2016;99(7):1079–1086. doi: 10.1016/j.pec.2016.01.020

Сведения об авторах:

Игнатова Юлия Сергеевна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-5194-0981, e-mail: julia-smolina@mail.ru
Брюханов Ярослав Игоревич, ORCID: 0000-0002-1573-538, e-mail: inerceya@mail.ru
Печерина Тамара Борзалиевна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-4771-484X, e-mail: tb.pechorina@gmail.com
Барбараш Ольга Леонидовна, д.м.н., акад. РАН, ORCID: 0000-0002-4642-3610, e-mail: barbol@kemcardio.ru

Information about the authors:

Yulia S. Ignatova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-5194-0981, e-mail: julia-smolina@mail.ru
Yaroslav I. Bryukhanov, ORCID: 0000-0002-1573-538, e-mail: inerceya@mail.ru
Tamara B. Pecherina, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-4771-484X, e-mail: tb.pechorina@gmail.com
Olga L. Barbarash, doctor of medical sciences, academician of the RAS, ORCID: 0000-0002-4642-3610, e-mail: barbol@kemcardio.ru

Поступила в редакцию 22.06.2024
После доработки 09.08.2024
Принята к публикации 15.11.2024

Received 22.06.2024
Revision received 09.08.2024
Accepted 15.11.2024

УДК 616-056.52 DOI: 10.18699/SSMJ20240606
Обзор литературы / Review article

Реабилитация при ожирении и избыточной массе тела как составная часть патогенетической терапии

В.Е. Менщикова[1], Т.В. Карцева[1], Т.И. Рябиченко[1, 2], О.О. Обухова[2], Е.П. Тимофеева[1], О.А. Космичева[3]

[1] Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52
[2] ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2
[3] Детская городская клиническая больница № 6
630015, г. Новосибирск, ул. Промышленная, 2а

Резюме

Ожирение является одним из острых вопросов медицины на современном этапе вследствие неуклонного роста заболеваемости, высокого риска развития осложнений и коморбидных состояний, влекущих за собой значительные финансовые затраты. Вместе с тем в формирование ожирения вовлекаются множество различных этиопатогенетических факторов. В статье представлен обзор литературы, касающийся основных факторов риска и этиологических аспектов развития избыточной массы тела и ожирения у взрослых и детей. Рассмотрены наиболее актуальные патогенетические механизмы, включающие дисбаланс адипокинов (снижение уровня адипонектина и увеличение содержания лептина), формирование хронического воспаления низкой активности в результате воздействия провоспалительных цитокинов, изменения особенностей нейроиммуноэндокринных взаимодействий, влияние хронического стресса на организм человека, дефицит витамина D, нарушения функционирования оси «кишечник – мозг», количественные и качественные изменения состава микробиоты кишечника. Представлены основные терапевтические подходы и хирургические методы в лечении ожирения. Обобщены имеющиеся в литературе на современном этапе данные о методиках реабилитации пациентов с ожирением, а также лиц с избыточной массой тела, указывающие на необходимость комплексного подхода и сочетания модификации образа жизни, физиотерапевтических методов, психологического консультирования для достижения положительных результатов.

Ключевые слова: ожирение, реабилитация, этиология, патогенез, терапия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Менщикова В.Е., e-mail: vaidurova_valerya@mail.ru
Для цитирования: Менщикова В.Е., Карцева Т.В., Рябиченко Т.И., Обухова О.О., Тимофеева Е.П., Космичева О.А. Реабилитация при ожирении и избыточной массе тела как составная часть патогенетической терапии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):57–68. doi: 10.18699/SSMJ20240606

Rehabilitation in overweight and obesity as an integral part of pathogenetic therapy

V.E. Menshchikova[1], T.V. Kartseva[1], T.I. Ryabichenko[1, 2], O.O. Obukhova[2], E.P. Timofeeva[1], O.A. Kosmicheva[3]

[1]Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52
[2]Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakova st., 2
[3]Children's City Clinical Hospital No. 6
630015, Novosibirsk, Promyshlennaya st., 2a

Abstract

Obesity is one of the most acute issues of medicine at the present stage due to the steady increase in morbidity, high risk of complications and comorbid conditions that entail significant financial costs. At the same time, many different etiopathogenetic factors are involved in the formation of obesity. The article presents a literature review concerning the main risk factors and etiologic aspects of the development of overweight and obesity in adults and children. The most relevant pathogenetic mechanisms are considered, including imbalance of adipokines (decrease in adiponectin level and increase in leptin content), formation of low activity chronic inflammation as a result of proinflammatory cytokines, changes in the features of neuroimmune-endocrine interactions, the impact of chronic stress on the human body, vitamin D deficiency, disorders of the "gut – brain" axis, quantitative and qualitative changes in the composition of intestinal microbiota. The main therapeutic approaches and surgical methods in the treatment of obesity are presented. The data available in the literature at the present stage on methods of rehabilitation of patients with obesity, as well as persons with excess body weight, indicating the need for a comprehensive approach and combination of lifestyle modification, physiotherapeutic methods, psychological counseling to achieve positive results are summarized.

Key words: obesity, rehabilitation, etiology, pathogenesis, therapy.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Corresponding author: Menshchikova V.E., e-mail: vaidurova_valerya@mail.ru
Citation: Menshchikova V.E., Kartseva T.V., Ryabichenko T.I., Obukhova O.O., Timofeeva E.P., Kosmicheva O.A. Rehabilitation in overweight and obesity as an integral part of pathogenetic therapy. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):57–68. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240606

Введение

Ожирение является одной из величайших неинфекционных пандемий за всю историю человечества. В результате высокой распространенности как в развитых, так и в развивающихся странах мира, а также увеличения экономических затрат на лечение и реабилитацию, ожирение и избыточная масса тела становятся существенной проблемой здравоохранения и общества в целом [1]. Доказано, что ожирение значительно снижает продолжительность жизни человека, при этом увеличивая вероятность возникновения ряда тяжелых заболеваний (сахарный диабет 2 типа, сердечно-сосудистые и онкологические заболевания, атеросклероз, неалкогольная метаболическая болезнь печени) [2, 3]. По данным ВОЗ, в 2016 г. указанные состояния и заболевания стали причиной смерти около 3,4 млрд взрослых пациентов [3]; в 2020 г. около 2 млрд взрослых, а также более 300 млн детей и подростков имели ожирение различной степени [4]. В 2017 г. опубликованы данные о том, что с 1980 г. распространенность ожирения увеличилась в 2 раза в 70 странах, а также неуклонно растет в большинстве других стран [5]. У детей, по мнению экспертов ЮНИСЕФ, в 2017 г. более чем за 15 лет не достигнуто прогресса в снижении избыточной массы тела и ожирения [6]. Учитывая представленные данные о распространенности ожирения, а также достаточно частом развитии разного рода осложнений с формированием коморбидных состояний, медицинское сообщество многих стран мира определяют проблему как синдемию, подразумевая связь между несколькими состояниями и хроническими заболеваниями, каждое из которых носит признак неинфекционной эпидемии, с неразрывным взаимодействием между их биологическими и социальными факторами [7].

Ожирение является полиэтиологичным заболеванием, в формировании которого участвуют генетические, эпигенетические, средовые факторы и различные нейрогуморальные механизмы [8]. Плеяда патогенетических аспектов ожирения и избыточной массы тела крайне разнообразна и требует систематизации и уточнения. Существует классификация ожирения по этиологическому принципу: первичное (или экзогенно-конституциональное, или алиментарное) и вторичное (или симптоматическое). В структуру вторичного типа ожирения включают ожирение, связанное с установленным генетическим дефектом (в том числе в составе известных генетических синдромов с полиорганным поражением); церебральное ожирение (или адипозогенное ожирение, синдром Пехкранца – Бабинского – Фрелиха), обусловленное наличием опухолей головного мозга, а также диссеминацией системных процессов, а также инфекционных заболеваний и различных психических расстройств; ожирение, обусловленное эндокринопатиями: заболеваниями гипоталамо-гипофизарной системы, надпочечников, а также гипоовариальное и гипотиреоидное; ятрогенное ожирение, формирующееся на фоне длительного приема лекарственных препаратов, которые могут способствовать увеличению массы тела [9].

В данной статье будут рассматриваться патогенез, терапия и реабилитационные мероприятия

экзогенно-конституционального ожирения. Несмотря на крайне негативное влияние ожирения на состояние здоровья человека в целом, существует мнение, что оно не является серьезным заболеванием и рассматривается как особенность конституции конкретного человека [2]. Учитывая всю совокупность современных сведений об этиопатогенетических механизмах развития ожирения, перед специалистами встает вопрос пересмотра подходов к лечению и реабилитации данного заболевания [10]. Особенно сложной задачей является долгосрочное поддержание потерянной массы тела. Мероприятия по борьбе с ожирением обычно приводят к быстрому снижению массы, за которой следуют так называемая фаза плато и постепенное восстановление массы до первоначальной [11]. В связи с этим необходимо оптимизировать программы реабилитации и лечения с учетом механизмов патогенеза ожирения и избыточной массы тела у взрослых и детей.

Этиопатогенетические аспекты ожирения

К факторам риска развития ожирения относится женский пол. Отмечено, что как избыточная масса тела, так и ожирение разной степени чаще диагностируются у женщин, особенно в странах Ближнего Востока и Северной Африки. Но в развитых странах в последнее время имеется обратная тенденция – у мужчин более часто наблюдается избыточная масса тела. Основными половыми различиями формирования ожирения и избыточной массы тела являются распределение подкожно-жировой клетчатки, активность мобилизации запасов жировой ткани, липидный профиль, различная чувствительность к инсулину, эффекты гонадных гормонов [12].

В последнее десятилетие большое число исследований посвящено питанию и образу жизни беременных женщин, характеру вскармливания ребенка на первом году жизни [13]. Значительное увеличение массы тела у беременных потенцирует развитие ожирения и метаболических нарушений у детей в период наблюдения с 5 до 21 года [14]. Показано, что повышение у беременных женщин индекса массы тела (ИМТ) тесно связано с укорочением теломер лейкоцитов плода [15] и что уменьшение длины теломер коррелирует с увеличением риска возникновения заболеваний сердечно-сосудистой системы (инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца) и метаболических изменений (увеличение окружности талии, ожирение, сахарный диабет 2 типа) [16]. Представленные факторы оказывают влияние на формирование ожирения у ребенка в будущем [13–16]. Вместе с тем недостаточность питания у беременных также способствует развитию метаболических изменений и возможного ожирения у детей в постнатальном периоде. Ученые из Дании показали, что нутритивная недостаточность у матерей во II–III триместрах беременности предрасполагает к развитию ожирения у потомков к 30–40 годам [17].

Одним из методов профилактики ожирения является грудное вскармливание на протяжении хотя бы 4–6 месяцев жизни ребенка, однако эффективность данной меры во многом зависит от характера питания матери. Употребление женщиной в периоде лактации продуктов, содержащих высокое количество углеводов и жиров, может способствовать увеличению процента жировой ткани у ребенка даже без выраженного увеличения ИМТ [18]. Кроме того, показано значительное уменьшение скорости основного обмена на фоне увеличения ИМТ во взрослом состоянии (длительность наблюдения 22 ± 2,2 года) у недоношенных детей, которые, находясь на искусственном вскармливании, получали большое количество белковых и жировых компонентов в составе смесей [19].

Актуальной проблемой остается и активная реклама продуктов типа фастфуд [13]. Испанские исследователи изучили рекламные ролики о продуктах питания на телевидении. Большая часть из них была посвящена высокожировым и высокоуглеводным пищевым продуктам (фастфуд, конфеты, шоколадные батончики), демонстрировавшимся в детских программах и в дневное время [13, 20]. В Дании проводится социальная комплексная программа, основой которой является борьба с ожирением. Осуществляется маркировка продуктов питания, содержащих большое количество углеводов и жиров, с указанием того, что они потенциально вредны. Помимо этого наблюдается увеличение стоимости данных товаров. Кроме того, расположение высокоуглеводных и высокожировых продуктов в определенных отделах или специализированных магазинах также снижает их доступность. Однако в связи с ожидаемым снижением прибыли многие производители, продавцы и дистрибьюторы отказываются от участия в социальной программе [13].

Уровень витамина D, ожирение и избыточная масса тела находятся в неразрывной связи друг с другом. Предполагается, что дефицит витамина D ассоциирован с развитием ожирения, и его содержание может быть использовано как биомаркер различных метаболических нарушений. Вместе с тем в результате увеличения жировой ткани происходит снижение концентрации витамина D в крови в результате его перераспределения [21]. Доказано, что жировая ткань, являясь эндокринным органом с высокой степенью активности,

принимает участие в регуляции обмена веществ, в том числе витамина D.

Установлено, что в группе с ожирением имело место снижение экспрессии в жировой ткани некоторых генов, которые отвечают за трансформацию витамина D, а именно гена *CYP2J2*, кодирующего 25-гидроксилазу (на 71 %, $p < 0{,}0001$), и гена *CYP27B1*, который кодирует 1-α-гидроксилазу (на 49 %, $p < 0{,}05$), в сравнении с лицами с нормальной массой тела [21, 22]. Указанные ферменты осуществляют гидроксилирование и синтез из прогормонов активной формы витамина D, поэтому уменьшение экспрессии кодирующих их генов определяет дефицит витамина D и его влияние на организм [21]. В то же время при ожирении и избыточной массе тела снижение образования витамина D может быть связано с развитием неалкогольного стеатогепатита, являющегося спутником ожирения. Но на сегодняшний день причинно-следственные связи между дефицитом витамина D и ожирением до конца не установлены. На первый взгляд, низкий уровень витамина D является триггерным фактором формирования и прогрессирования ожирения и избыточной массы тела, но установлено непосредственное неблагоприятное воздействие избыточного количества жировой ткани на содержание витамина D в сыворотке крови [21, 23].

Выявлено более 300 генов-кандидатов, способных влиять на ИМТ, развитие и прогрессирование ожирения [13]. К наиболее изученным относятся гены рецептора меланокортина (*MC4R*), проопиомеланокортина (*POMC*), лептина (*LEP*), рецептора лептина (*LEPR*), аденилатциклазы-3 (*ADCY3*), нейротрофического фактора мозга (*BDNF*), белка, ассоциированного с жировой массой и ожирением (*FTO*) и др. [24]. Имеется суждение, что генетический материал в адипоцитах оказывает влияние не только на распределение жировой ткани, но и на степень ее вовлечения в метаболические процессы, тогда как информация, закодированная в клетках головного мозга, ответственна за реализацию синтеза жировой ткани во всем организме [13]. Несмотря на большое количество моногенных форм ожирения, у большей части пациентов заболевание развивается в результате сочетания и взаимного влияния генетических и средовых факторов [24]. Показано, что у лиц при наличии гомозиготного или гетерозиготного состояния по аллелю гена *FTO* имело место увеличение массы тела в диапазоне от 1,2 до 3,0 кг по сравнению с лицами, не унаследовавшими данный аллель. То есть считается, что идентифицированные локусы могут определять различия в ИМТ менее чем на 5 % [25, 26].

В настоящее время проводится достаточно большое количество исследований, посвященных действию эпигенетических факторов на формирование избыточной массы тела и ожирения разной степени. Определены пре- и постнатальные факторы, которые оказывают влияние на метаболические процессы без трансформации ДНК. Эти факторы определяют отличительные особенности ИМТ у каждого пациента [26]. Эпигеномные механизмы преобразования генетического материала включают в себя моделирование гистона (метилирование, фосфорилирование, ацетилирование), способствующее снижению компактности ДНК и ускоряющее метилирование промотора и транскрипцию генов, а также оказывающее тормозящее действие на синтез микроРНК, транскрипцию и блокирующие мРНК. Стресс, окружающая среда, пищевые продукты, прием лекарственных препаратов физическая активность могут воздействовать как эпигеномные факторы. Вместе с тем эффекты, полученные в результате влияния представленных факторов, могут проявляться в нескольких поколениях [13].

В настоящее время жировая ткань рассматривается как активный иммуноэндокринный орган [27]. Доказано, что она способна секретировать собственный специфический спектр цитокинов, называемых адипокинами. Так, лептин, хемерин, резистин, аспрасин способствуют развитию инсулинорезистентности, активируют липолиз и синтез триглицеридов. Напротив, адипонектин и оментин снижают вероятность развития сахарного диабета 2 типа и метаболического синдрома в целом, оказывая противовоспалительное, антифиброзное, антиатерогенное действия [28]. Такие миокины, как ИЛ-13, -15, ирисин, обладают похожими биологическими эффектами, способствуя поглощению глюкозы и жирных кислот поперечно-полосатыми мышечными клетками, тем самым снижая уровень инсулинорезистентности [29].

При ожирении в жировой ткани развивается низкоуровневое хроническое воспаление, индуцированное лептином, насыщенными жирными кислотами, гипоксическим поражением гипертрофированных адипоцитов. М1-макрофаги и адипоциты начинают активную секрецию провоспалительных цитокинов (ФНОα, ИЛ-1β, ИЛ-6), тогда как в микроокружении нормальной жировой ткани превалируют адипонектин и противовоспалительные цитокины (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13), синтезированные М2-популяцией макрофагов. Продуцируемые провоспалительные цитокины способствуют развитию локального воспалительного процесса и через сигнальные

пути индуцируют развитие инсулинорезистентности [28].

Существует нейротрофическая теория развития избыточной массы тела и ожирения. Увеличение массы тела представлено как результат воздействия на жировую ткань нейротрофинов, способствующих изменению метаболизма липидов и углеводов, а также участвующих в воспалительных и иммунных реакциях. В связи с этим сформулирована концепция формирования метаболического синдрома, базирующаяся на нейроиммуноэндокринных взаимодействиях. В результате происходит формирование инсулинорезистентности, сахарного диабета 2 типа и ожирения [30].

Доказано снижение уровня адипонектина и увеличение содержания лептина у пациентов с ожирением [31, 32]. Адипонектин представляет собой гормон пептидной природы, представленный четырьмя различными формами, выполняющими специфические функции. Данный адипокин синтезируется белой жировой тканью, скелетными мышцами, кардиомиоцитами, гипоталамусом, маткой, плацентой и яичниками. Его эффекты реализуются посредством специфических рецепторов ADIPOR1 и ADIPOR2, при этом ADIPOR2 активнее экспрессируется в печени, а ADIPOR1 – в мышцах. Данные рецепторы также представлены на поверхности адипоцитов. Именно их расположение на поверхности адипоцитов позволяет адипонектину оказывать воздействие на жировые клетки не только паракринным, но и по аутокринным способом. Адипонектин обладает антиатерогенным эффектом, участвует в снижении уровня глюкозы, а также повышает чувствительность тканей и клеток к инсулину. Кроме того, считается, что адипонектин оказывает противовоспалительное и антиоксидантное действие [33]. Показано снижение экспрессии рецептора ADIPOR1 при ожирении, что объясняет торможение прохождения гормонального сигнала от адипонектина к избыточному количеству жировых клеток. Казалось бы, увеличение количества адипоцитов должно способствовать повышению концентрации адипонектина. Однако наблюдается обратная тенденция – при гипертрофии и гиперплазии жировых клеток его продукция снижается. Существует теория, что представленный парадокс возникает в результате активной секреции адипоцитами провоспалительных медиаторов, угнетающих транскрипцию гена адипонектина [34].

Лептин является полипептидным гормоном, секретирующимся белыми жировыми клетками скелетных мышц, плаценты, желудка. Функции лептина включают в себя регуляцию чувства голода и насыщения, регуляцию и контроль массы тела, участие в энергетическом обмене. Представленные эффекты реализуются через органы-мишени или через гипоталамические рецепторы. Гиперплазия и гипертрофия адипоцитов способствуют большей секреции лептина. Но описанные выше функции гормон не выполняет в результате формирования лептиновой резистентности, в том числе и на уровне гипоталамуса. Гиперлептинемия и лептиновая резистентность способствуют возникновению окислительного стресса, а также воспалительной реакции [33]. Лептинорезистентность развивается в результате реализации различных механизмов, ведущих к нарушению их чувствительности к представленному гормону [35]. Доказано, что длительное воздействие высоких концентраций лептина способствует резистентности рецепторов к нему, в связи с чем жировые клетки начинают синтезировать лептин в больших количествах, что формирует «порочный круг». Помимо этого, лептинорезистентность способна напрямую воздействовать на развитие снижения чувствительности к инсулину [33].

Хронический стресс является медиаторной базой для развития избыточной массы тела и ожирения. Кортизол, норадреналин, адреналин, компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, симпатический отдел вегетативной нервной системы способны стимулировать развитие каскада провоспалительных иммунных реакций, воздействуя на висцеральную жировую ткань, которая является наиболее метаболически активной [30]. Выделяемые при этом биологически активные вещества стимулируют аппетит, блокируют транспорт глюкозы и ее утилизацию в жировой и мышечной тканях, усиливают глюконеогенез в печени, стимулируют липолиз, способствуют развитию гиперинсулинемии, инсулинорезистентности, лептинорезистентности, гиперглюкагонемии, активируют дифференцировку преадипоцитов [30, 36].

Одним из доказанных факторов риска формирования ожирения является употребление избыточного количества определенных аминокислот в составе белков. Так, аминокислоты с разветвленными боковыми цепями (лейцин, изолейцин, валин), метионин, цистеин, триптофан, глутаминовая кислота играют роль в нарушении метаболизма, повышении аппетита, формировании гиперфагии и инсулинорезистентности. Ограничение их поступления с пищей вместо коррекции белка в целом может стать перспективным терапевтическим подходом в лечении и реабилитации ожирения [1].

Значительную роль в развитии ожирения играет ось «кишечник – мозг». Именно для поддержания метаболического гомеостаза необходима эта особая нейрогуморальная связующая система. Ее составными частями являются компоненты нервной системы (центральной, вегетативной, энтеральной), нейроэндокринная и иммунная системы, а также микробиом кишечника. В результате преобразования сенсорной информации в нейронные, иммунные и гормональные сигналы, распространяющиеся от кишечника до органов центральной нервной системы и обратно, формируются связи внутри оси. Нутриенты, потребляемые человеком, в результате богатой иннервации органов желудочно-кишечного тракта способствуют генерации сигналов в гипоталамус и ствол мозга о собственной калорийности, биологической ценности и т.д. Развитие острых и хронических нарушений в потреблении и расходе энергии возникает посредством потенцирования ряда реакций, возникающих в результате ускорения обработки сигналов в стволе мозга и гипоталамической области [37].

Одним из основных регуляторов оси «кишечник – мозг» является микробиота кишечника. Преобладающий в толстой кишке тип микробиоты синтезирует короткоцепочечные жирные кислоты, регулирующие метаболизм глюкозы и липидов в тканях и влияющие на энергетический метаболизм [7]. Но результаты исследований, касающихся изменения состава кишечной микробиоты, крайне противоречивы.

Ряд авторов указывает на изменение соотношения *Bacteroides*/*Firmicutes* в сторону последних при избыточной массе тела и ожирении [38–40]. В других исследованиях указывается на отсутствие взаимосвязей между ИМТ и представленным соотношением [39–41]. Помимо этого, доказано существование бактерий, потенцирующих увеличение массы тела. К ним относятся *Escherichia coli, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus delbrueckii, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus mucosae, Nocardia asteroids, Candida* spp., *Methanobrevibacter, Clostridium bolteae, Clostridium symbiosum, Clostridium clastridiofarme, Clostridium ramosum, Bilophila wadsworthia* [12, 38–40, 42, 43]. Однако существуют анорексигенные штаммы бактерий, такие как *Lactobacillus gasseri, Faecahbacterium prausnitzti, Actinomycetaceae, Parabacteroides, Rikenellaceae, Bacteroides caccae, Barnesiellaceae, Oscillospira, Roseburia inulinivorans, Coprococcus eutactus, Methanobrevibacter smithii, Bifidobacterium* spp. [39, 40, 42].

Таким образом, ожирение является сложным полиэтиопатогенетическим заболеванием, развитию которого способствует комплекс факторов риска, что обусловливает особый подход к терапии и реабилитации.

Терапия и реабилитация

Основой терапии и профилактики ожирения является смена образа жизни (изменение пищевого поведения, активация физической нагрузки) [44]. Согласно клиническим рекомендациям, только в случае неэффективности изменения образа жизни возможно применение медикаментозных препаратов [44, 45]. Для лечения ожирения у пациентов с 18 лет в настоящее время на территории Российской Федерации зарегистрировано три лекарственных средства: орлистат, лираглутид, сибутрамин. При наличии нарушений углеводного обмена и развития инсулинорезистентности рекомендовано назначение метформина либо комбинации метформина и сибутрамина. Назначение фармакотерапии осуществляется только в комбинации с модификацией образа жизни [45]. В детском возрасте – с 12 лет – разрешены к применению лираглутид и орлистат. Введение в терапию метформина у детей возможно только в случае появления негативных явлений при использовании стандартной терапии [44]. Хирургическое лечение ожирения рекомендовано взрослым пациентам с морбидным ожирением и учетом определенных условий: возраст 18–60 лет; отсутствие эффективности ранее проводимых консервативных мероприятий при ИМТ > 40 кг/м^2 (независимо от наличия сопутствующих заболеваний); отсутствие эффективности ранее проводимых консервативных мероприятий при ИМТ > 35 кг/м^2 и наличии тяжелых заболеваний (сахарный диабет 2 типа, заболевания суставов и др.), на течение которых можно воздействовать путем снижения массы тела [45].

У детей бариатрическая хирургия рекомендована только с подросткового возраста при наличии ИМТ > 35 кг/м^2 в сочетании с тяжелыми осложнениями (неалкогольный стеатогепатит, сахарный диабет 2 типа, синдром обструктивного апноэ во сне, болезнь Блаунта, тяжелая артериальная гипертензия); ИМТ > 40 кг/м^2 (SDS ИМТ > 4,0 для данного пола и возраста) независимо от наличия осложнений; завершенного или близкого к завершению физического развития (частичное или полное закрытие зон роста), достижение 4–5 стадий полового развития по шкале Таннера; документально подтвержденной неэффективности консервативных методов лечения ожире-

ния в течение 12 месяцев в специализированных центрах; отсутствия психических заболеваний и расстройств пищевого поведения (в том числе обусловленных наличием синдромальных и гипоталамических форм ожирения); готовности/способности подростка и членов его семьи к длительному и регулярному послеоперационному динамическому наблюдению [44].

Учитывая ограниченный резерв методов лечения ожирения, необходимо разрабатывать способы эффективной реабилитации и профилактики ожирения. Одной из наиболее сложных проблем при ожирении является долгосрочное поддержание сниженной массы тела. Меры по борьбе с ожирением часто приводят к достаточно ранней и быстрой потере веса, за которой следует фаза «плато», когда масса тела сохранятся на достигнутом уровне в течение определенного времени. Но затем происходит постепенное восстановление массы тела до первоначальных значений и даже превышающих их. Метаанализ 29 долгосрочных исследований показал, что в течение двух лет было восстановлено более 50 % потерянной массы, а за 5 лет – более 80 %. В связи с этим важен комплексный подход к восстановлению пациентов с ожирением [46].

Основой реабилитационных мероприятий является соблюдение диеты с ограничением простых углеводов и жиров [44, 45]. Количество белка в пище должно быть достаточным, и возможно употребление продуктов, содержащих большое количество сывороточных и растительных белков, способствующих снижению массы тела и коррекции метаболических нарушений [1]. Но необходимо указать, что не существует универсальной диеты для лечения и реабилитации ожирения, в связи с чем необходим индивидуальный подход к подбору рациона [11].

Физическая активность представляет собой еще один значимый этап реабилитации. Регулярные физические нагрузки способствуют повышению концентрации адипонектина и снижению уровня ИЛ-6, ФНОα, ингибитора активатора плазминогена, С-реактивного белка [29]. Доказано, что аэробные упражнения значительно улучшают передачу сигналов инсулина и функционирование митохондрий, уменьшают стресс эндоплазматического ретикулума в сравнении с фармацевтическими средствами [46]. Согласно исследованию корейских ученых, именно аэробные нагрузки способствуют значительному снижению массы тела и поддержанию ее на достигнутом уровне в течение длительного времени. Тренировки с отягощением такого эффекта не показали, однако решающую роль играла приверженность пациента к физической активности [47]. В работе J. Berge at al. при изучении влияния интенсивности аэробных упражнений на расход энергии и снижение массы тела при тяжелом ожирении показано, что сочетание аэробных упражнений с интервальными тренировками высокой интенсивности и непрерывными тренировками средней интенсивности сопровождается более значительным уменьшением массы, чем выполнение только анаэробных упражнений с непрерывными тренировкам средней интенсивности. Но в группе с комбинацией тренировок регистрировались высокие показатели отказов и невыполнения упражнений, вследствие чего возникла необходимость адаптации тренировочных программ под каждого конкретного пациента [48].

На современном этапе некоторые надежды влияния на пищевое поведение связаны с методами нейростимуляции головного мозга. К таким методикам относятся транскраниальная магнитная стимуляция и транскраниальная электрическая стимуляция. По данным результатов исследований и проведенного метаанализа, посвященного оценке эффективности предложенных методик, показано, что однократный цикл транскраниальной магнитной или электрической стимуляции оказывает достаточно умеренный и, кроме того, гетерогенный эффектом на влечение к пище. Однако прямого воздействия на фактическое потребление пищевых продуктов при проведении стимуляции мозга не выявлено. В то же время, безусловно, оценка эффективности методов нейростимуляции с целью коррекции пищевого поведения возможна только при длительном проспективном наблюдении за пациентами с различными формами ожирения [25].

Традиционно физиотерапевтические методы реабилитации являются наиболее распространенными. При избыточной массе тела и ожирении используются электролечение (УВЧ- и СВЧ-терапия), импульсное магнитное поле, индуктотермия, электростимуляция, ультразвук, баротерапия, массаж, минеральные воды и др. По данным Н.П. Степаненко и соавт., при проведении программы реабилитации детей и подростков, помимо коррекции питания и физической активности, были использованы душ Шарко и электросон. Все пациенты по данным кардиоинтервалографии были разделены на три группы (ваготоники, нормотоники, симпатотоники). После курса реабилитации наблюдалось снижение массы тела во всех группах (на 2,01 ± 1,99, 2,82 ± 1,96 и 3,32 ± 1,46 кг соответственно). Все дети от-

мечали хорошую переносимость лечения и улучшение самочувствия [49].

Помимо вышеперечисленных способов реабилитации необходима коррекция состава микробиоты кишечника, уровня витамина D, нормализация функции желудочно-кишечного тракта [7, 21, 39, 40, 42]. Но одним из наиболее важных аспектов реабилитационных мероприятий является психологическое консультирование [44, 45, 49]. Часто ожирение и избыточную массу тела сопровождают депрессивные состояния, психоэмоциональное напряжение, чувство неудовлетворенности своей внешностью и т.д. При соблюдении диетических рекомендаций чувство голода, отсутствие удовольствия при приеме непривычной для пациента пищи создают стрессовую ситуацию, которая может приводить к эмоциональному дискомфорту и избыточному приему пищи [49]. В связи с этим необходима психологическая поддержка пациентов с ожирением и избыточной массой тела, направленная на постоянное долгосрочное взаимодействие с пациентом, обучение навыкам самоконтроля, мотивацию и повышение удовлетворенности результатами, когнитивную реструктуризацию и развитие когнитивной гибкости [46].

Заключение

Анализ современной литературы показал, что ожирение является полиэтиологичным заболеванием. Наибольшее влияние на развитие ожирения оказывают генетические и эпигенетические механизмы. Вместе с тем жировая ткань представляет собой сложный иммуноэндокринный орган, деятельность которого регулируется рядом сигнальных молекул в результате локальных межклеточных взаимодействий. Гиподинамия, несбалансированное питание, стрессовые воздействия, качественные и количественные изменения состава микробиоты кишечника, нарушения в работе пищеварительной системы, дефицит витамина D способствуют формированию избыточной массы тела и ожирения. Учитывая многофакторность аспектов патогенеза ожирения, а также сложность проведения лечения, необходимо не только осуществлять терапевтические мероприятия, но и проводить профилактику и реабилитацию. Комплексные реабилитационные программы, включающие коррекцию питания и физической активности, лечебные физические факторы, психологическое консультирование, способствуют снижению массы тела, улучшению самочувствия и коррекции течения сопутствующих заболеваний у взрослых и детей.

Список литературы / References

1. Simonson M., Boirie Y., Guillet C. Protein, amino acids and obesity treatment. *Rev. Endocr. Metab. Disord*. 2020;21(3):341–353. doi: 10.1007/s11154-020-09574-5

2. Мкртумян А.М. Актуальные проблемы консервативного лечения ожирения. *Мед. сов*. 2010;(7-8):21–27.

Mkrtumyan A.M. Actual problems of obesity conservative treatment. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2010;(7-8):21–27.[In Russian]

3. Obradovic M., Sudar-Milovanovic E., Soskic S., Essack M., Arya S., Stewart A.J., Gojobori T., Isenovic E.R. Leptin and obesity: role and clinical implication. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2021;12:585887. doi: 10.3389/fendo.2021.585887

4. Хадарцев А.А., Токарева С.В., Константинова Д.А. К патогенезу ожирения и обоснованию его немедикаментозной коррекции (обзор литературы). *Вестн. нов. мед. технол.* 2020;14(5):100–107. doi: 10.24411/2075-4094-2020-16749

Khadartsev A.A., Tokareva S.V., Konstantinova D.A. On the pathogenesis of obesity and the justification of its non-drug correction (literature review). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy = Journal of New Medical Technologies.* 2020;14(5):100–107. [In Russian]. doi: 10.24411/2075-4094-2020-16749

5. GBD 2015 Obesity Collaborators; Afshin A., Forouzanfar M.H., Reitsma M.B., Sur P., Estep K., Lee A., Marczak L., Mokdad A.H., Moradi-Lakeh M., … Murray C.J.L. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N. Engl. J. Med*. 2017;377(1):13–27. doi: 10.1056/NEJMoa1614362

6. Caballero B. Humans against obesity: who will win? *Adv. Nutr*. 2019;10(suppl_1):S4–S9. doi: 10.1093/advances/nmy055

7. Руяткина Л.А., Руяткин Д.С. Ожирение: «перекрестки» мнений, знаний и возможностей. *Мед. сов.* 2020;(7):108–120. doi: 10.21518/2079-701X-2020-7-108-120

Ruyatkina L.A., Ruyatkin D.S. Obesity: the crossroads of opinion, knowledge, and opportunity. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2020;(7):108–120. [In Russian]. doi: 10.21518/2079-701X-2020-7-108-120

8. Biddle S.J.H., Garcia Bengoechea E., Pedisic Z., Bennie J., Vergeer I., Wiesner G. Screen time, other sedentary behaviours, and obesity risk in adults: A review of reviews. *Curr. Obes. Rep*. 2017;6(2):134–147. doi: 10.1007/s13679-017-0256-9

9. Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по ведению детей с эндокринными заболеваниями. Ред. И.И. Дедов, В.А. Петеркова. М.: Практика, 2014. 442 с.

Federal clinical guidelines (protocols) on the management of children with endocrine diseases. Eds. I.I. Dedov, V.A. Peterkova. Moscow: Praktika, 2014. 442 p.

10. Волкова Н.И. Современные подходы к патогенетической терапии ожирения. *Ожирение и метаболизм*. 2007;4(4):14–18. doi: 10.14341/2071-8713-5000

Volkova N.I. Modern approaches to pathogenetic therapy of obesity. *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism.* 2007;4(4):14–18. [In Russian]. doi: 10.14341/2071-8713-5000

11. Hall K.D., Kahan S. Maintenance of lost weight and long-term management of obesity. *Med. Clin. North Am*. 2018;102(1):183–197. doi: 10.1016/j.mcna.2017.08.012

12. Маматов А.У., Полупанов А.Г., Какеев Б.А., Исмарова Г.С., Сабирова А.И. Половые и возрастные факторы, ассоциированные с развитием ожирения. *The Scientific Heritage*. 2021;(68-2):46–56. doi: 10.24412/9215-0365-2021-68-2-46-56

Mamatov A.U., Polupanov A.G., Kakeev B.A., Ismarova G.S., Sabirova A.I. Sex and age factors associated with the development of obesity. *The Scientific Heritage*. 2021;(68-2):46–56.[In Russian]. doi: 10.24412/9215-0365-2021-68-2-46-56

13. Симаненков В.И., Тихонов С.В., Ильяшевич И.Г., Ледовая А.В., Макиенко В.В., Федорова Н.В. Эпидемиология, социальные аспекты и патогенез ожирения. *Вестн. Сев.-Зап. гос. мед. ун-та им. И. И. Мечникова.* 2017;9(1):21–27.

Simanenkov V.I., Tikhonov S.V. Ilyashevich I.G., Ledovay A.V., Makiyenko V.V., Fedorova N.V. Epidemiology, social aspects and pathogenesis of obesity. *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta imeni Il'yi Il'yicha Mechnikova = Newsletter of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2017;9(1):21–27. [In Russian].

14. Perez-Morales M.E., Bacardi-Gascon M., Jimenez-Cruz A. Childhood overweight and obesity prevention interventions among Hispanic children in the United States: systematic review. *Nutr. Hosp*. 2012; 27(5):1451–1421. doi: 10.3305/nh.2012.27.5.5973

15. Guzzardi M.A., Iozzo P., Salonen M.K., Kajantie E., Eriksson J.G. Maternal adiposity and infancy growth predict later telomere length: a longitudinal cohort study. *Int. J. Obes. (Lond)*. 2016;40(7):1063–1069. doi: 10.1038/ijo.2016.58

16. Fretts A.M., Howard B.V., Siscovick D.S., Best L.G., Beresford S.A., Mete M., Eilat-Adar S., Sotoodehnia N., Zhao J. Processed meat, but not unprocessed red meat, is inversely associated with leukocyte telomere length in the strong heart family study. *J. Nutr*. 2016;146(10):2013–2018. doi: 10.3945/jn.116.234922

17. Kyle U.G., Pichard C. The Dutch Famine of 1944–1945: a pathophysiological model of long-term consequences of wasting disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2006;9(4):388–394. doi: 10.1097/01.mco.0000232898.74415.42

18. Castro H., Pomar C.A., Picó C., Sánchez J., Palou A. Cafeteria diet overfeeding in young male rats impairs the adaptive response to fed/fasted conditions and increases adiposity independent of body weight. *Int. J. Obes. (Lond)*. 2015;39(3):430–437. doi: 10.1038/ijo.2014.125

19. Sipola-Leppänen M., Vääräsmäki M., Tikanmäki M., Matinolli H.M., Miettola S., Hovi P., Wehkalampi K., Ruokonen A., Sundvall J., Pouta A., … Kajantie E. Cardiometabolic risk factors in young adults who were born preterm. *Am. J. Epidemiol*. 2015; 181(11):861–873. doi: 10.1093/aje/kwu443

20. Campos D., Hernández-Torres J.J., Agil A., Comino M., López J.C., Macías V., Campoy C. Analysis of food advertising to children on Spanish television: probing exposure to television marketing. *Arch. Med. Sci*. 2016;12(4):799–807. doi: 10.5114/aoms.2016.60969

21. Суплотова Л.А., Авдеева В.А., Рожинская Л.Я. К вопросу о патогенетических механизмах влияния ожирения на уровень витамина D. *Ожирение и метаболизм.* 2021;18(2):169–174. doi: 10.14341/omet12578

Suplotova L.A., Avdeeva V.A., Rozhinskaya L.Ya. To the question of the pathogenetic mechanisms of the influence of obesity on the level of vitamin D. *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism.* 2021;18(2):169–174. [In Russian]. doi: 10.14341/omet12578

22. Gangloff A., Bergeron J., Lemieux I., Després J.P. Changes in circulating vitamin D levels with loss of adipose tissue. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. 2016;19(6):464–470. doi: 10.1097/MCO.0000000000000315

23. Каронова Т.Л., Михеева Е.П., Красильникова Е.И., Беляева О.Д., Буданова М.В., Галкина О.В., Гринева Е.Н. Дефицит витамина D — фактор риска развития ожирения и сахарного диабета 2-го типа у женщин репродуктивного возраста. *Артериал. гипертензия*. 2012;18(1):25–31. doi: 10.18705/1607-419X-2012-18-1-25-31

Karonova T.L., Mikheeva E.P., Krasilnikova E.I., Belyaeva O.D., Budanova M.V., Galkina O.V., Grineva E.N. Vitamin D deficiency is a risk factor for obesity and type 2 diabetes mellitus in reproductive age women. *Arterial'naya gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2012;18(1):25–31. [In Russian]. doi: 10.18705/1607-419X-2012-18-1-25-31

24. Тимашева Я.Р., Балхиярова Ж.Р., Кочетова О.В. Современное состояние исследований в области ожирения: генетические аспекты, роль микробиома и предрасположенность к COVID-19. *Пробл. эндокринол*. 2021;67(4):20–35. doi: 10.14341/probl12775

Timasheva Ya.R., Balkhiyarova Zh.R., Kochetova O.V. Current state of the obesity research: genetic aspects, the role of microbiome, and susceptibility to COVID-19. *Problemy endocrinologii = Problems of Endocrinology*. 2021;67(4):20–35. [In Russian]. doi: 10.14341/probl12775

25. Pigeyre M., Yazdi F.T., Kaur Y., Meyre D. Recent progress in genetics, epigenetics and metagenomics unveils the pathophysiology of human obesity. *Clin. Sci. (Lond)*. 2016;130(12):543–986. doi: 10.1042/cs20160136

26. Логвинова О.В., Пойдашева А.Г., Бакулин И.С., Лагода О.В., Кремнева Е.И., Трошина Е.А., Мазурина Н.В., Супонева Н.А., Танашян М.М., Дедов И.И., Пирадов М.А. Современные представления о патогенезе ожирения и новых подходах к его коррекции. *Ожирение и метаболизм*. 2018;15(2):11–16. doi: 10.14341/omet9491

Logvinova O.V., Poydasheva A.G., Bakulin I.S., Lagoda O.V., Kremneva E.I., Troshina E.A., Mazurina N.V., Suponeva N.A., Tanashyan M.M., Dedov I.I., Piradov M.A. Modern concepts of the pathogenesis of obesity and new approaches to its correction. *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism.* 2018;15(2):11–16. [In Russian]. doi: 10.14341/omet9491

27. Vadde R., Gupta M.K., Nagaraju G.P. Is adipose tissue an immunological organ? *Crit. Rev. Immunol.* 2019;39(6):481–490. doi: 10.1615/CritRevImmunol.2020033457

28. Щербаков В.И., Скосырева Г.А., Рябиченко Т.И., Обухова О.О. Цитокины и регуляция метаболизма глюкозы и липидов при ожирении. *Ожирение и метаболизм*. 2022;19(3):317–323. doi: 10.14341/omet12863

Scherbakov V.I., Skosyreva G.A., Ryabichenko T.I., Obukhova O.O. Cytokines and regulation of glucose and lipid metabolism in the obesity. *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism.* 2022;19(3):317–323. [In Russian]. doi: 10.14341/omet12863

29. Shi J., Fan J., Su Q., Yang Z. Cytokines and abnormal glucose and lipid metabolism. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2019;10:703. doi: 10.3389/fendo.2019.00703

30. Пальцев М.А., Кветной И.М., Ильницкий А.Н., Прощаев К.И., Кветная Т.В., Совенко Г.Н., Бессарабов В.И. Ожирение: молекулярные механизмы и оптимизация таргетной терапии. *Молекул. мед*. 2013;(2):3–12.

Paltsev M.A., Kvetnoy I.M., Ilnitski A.N., Proshchayev K.I., Kvetnaia T.V., Sovenko G.N., Bessarabov V.I. The obesity: the molecular mechanisms and the optimization of target therapy. *Molekulyarnaya meditsina = Molecular Medicine*. 2013;(2):3–12. [In Russian].

31. Федорин М.М., Ливзан М.А., Гаус О.В. Ассоциации лептина и адипонектина у больных синдромом раздраженного кишечника с избыточной массой тела и ожирением. *Эффектив. фармакотерапия*. 2023;19(8):34–41. doi: 10.33978/2307-3586-2023-19-8-34-41

Fedorin M.M., Livzan M.A., Gaus O.V. Associations of Leptin and Adiponectin in Irritable Bowel Syndrome Patients with Overweight and Obesity. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy*. 2023;19(8):34–41. [In Russian]. doi: 10.33978/2307-3586-2023-19-8-34-41

32. Шестопалов А.В., Ганенко Л.А., Григорьева Т.В., Лайков А.В., Васильев И.Ю., Колесникова И.М., Набока Ю.Л., Волкова Н.И., Румянцев С.А. Адипокины и миокины как индикаторы фенотипов ожирения и их связь с показателями разнообразия микробиома кишечника. *Вестник РГМУ*. 2023;(1):49–58. doi: 10.24075/vrgmu.2023.004

Shestopalov A.V., Ganenko L.A., Grigoryeva T.V., Laikov A.V., Vasilyev I.Yu., Kolesnikova I.M., Naboka Yu.L., Volkova N.I., Rumiantsev S.A. Adipokines and myokines as indicators of obese phenotypes and theirassociation with the gut microbiomediversity indices. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Bulletin of the Russian State Medical University*. 2023;(1):49–58. [In Russian]. doi: 10.24075/vrgmu.2023.004

33. Шевченко Е.А., Потемина Т.Е., Успенский А.Н. Роль адипонектина и лептина в развитии метаболического синдрома и связанных с ним ожирением и сахарным диабетом II типа. *Вестн. мед. ин-та «РЕАВИЗ»*. 2022; 12(1):29–37. doi: 10.20340/vmi-rvz.2022.1 .CUN.3

Shevchenko E.A., Potemina T.E., Uspensky A.N. Role of adiponektin and leptin in the development of metabolic syndrome and related obesity and type II diabetes mellitus. *Vestnik meditsinskogo instituta «REAVIZ» = Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ"*. 2022;12(1):29–37. [In Russian]. doi: 10.20340/vmi-rvz.2022.1.CLIN.3

34. Geagea A.G., Mallat S., Matar C.F., Zerbe R., Filfili1 E., Francis M., Haidar H., Jurjus A. Adiponectin and inflammation in health and disease: an update. *Open Medicine Journal*. 2018;5:20–32. doi: 10.2174/1874220301805010020

35. Perez-Perez A., Toro A., Vilarino-Garcia T., Maymó J., Guadix P., Dueñas J.L., Fernández-Sánchez M., Varone C., Sánchez-Margalet V. Leptin action in normal and pathological pregnancies. *J. Cell. Mol. Med*. 2018;22(2):716–727. doi: 10.1111/jcmm.13369

36. Мазурина Н.В., Лескова И.В., Трошина Е.А., Логвинова О.В., Адамская Л.В., Красниковский В.Я. Ожирение и стресс: эндокринные и социальные аспекты проблемы в современном российском обществе. *Ожирение и метаболизм*. 2019;16(4):18–24. doi: 10.14341/omet9975

Mazurina N.V., Leskova I.V., Troshina E.A., Logvinova O.V., Adamskaya L.V., Krasnikovsky V.Ya. Obesity and stress: endocrineand social aspects of the problem in the modern Russian society. *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism.* 2019;16(4):18–24. [In Russian]. doi: 10.14341/omet9975

37. Bliss E.S., Whiteside E. The gut-brain axis, the human gut microbiota and their integration in the development of obesity. *Front. Physiol.* 2018;(9):900. doi: 10.3389/fphys.2018.00900

38. Корниенко Е.А., Нетребенко О.К. Ожирение и кишечная микробиота: современная концепция взаимосвязи. *Педиатрия. Ж. им. Г.Н. Сперанского.* 2012;91(2):110–122.

Kornienko E.A., Netrebenko O.K. Obesity and intestinal microbiota: a modern concept of the relationship. *Pediatriya. Zhurnal imeni Georgiya Nestorovicha Speranskogo = Pediatrics. Journal named after Georgy Nestorovich Speransky*. 2012;91(2):110–112. [In Russian].

39. Менщикова В.Е., Карцева Т.В., Елисеева Д.В., Рябиченко Т.И., Обухова О.О., Залавина С.В. Патология органов желудочно-кишечного тракта у детей с избыточной массой тела и ожирением. *Сиб. науч. мед. ж*. 2024;44(2):28–38. doi: 10.18699/SSMJ20240203

Menshchikova V.E., Kartseva T.V., Eliseeva D.V., Ryabichenko T.I., Obukhova O.O., Zalavina S.V. Pathology of the gastrointestinal tract in overweight and obese children. *Sibirskij Nauchnyj Medicinskij Zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(2):28–38. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240203

40. Волкова Н.И., Ганенко Л.А., Головин С.Н. Роль микробиоты кишечника в развитии ожирения и его метаболического профиля (часть II). *Мед. вестн. Сев. Кавказа*. 2019;14(2):391–396. doi: 10.14300/mnnc.2019.14098

Volkova N.I., Ganenko L.A., Golovin S.N. The role of gut microbiota in the development of obesity and its metabolic profile (Part II). *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of the North Caucasus*. 2019;14(2):391–396. [In Russian]. doi: 10.14300/mnnc.2019.14098

41. Million M., Lagier J.C., Yahav D., Paul M. Gut bacterial microbiota and obesity. *Clin. Microbiol. Infect*. 2013;19(4):305–313. doi: 10.1111/1469-0691.12172

42. Самойлова Ю.Г., Олейник О.А., Саган Е.В., Ворожцова И.Н., Филиппова Т.А., Денисов Н.С., Дьяков Д.А. Состав и метаболическая активность микробиоты пищеварительной системы у детей и подростков с ожирением. *Сиб. ж. клин. и эксперим. мед*. 2020;35(3):38–46. doi: 10.29001/2073-8552-2020-35-3-38-46

Samoilova J.G., Oleynik O.A., Sagan E.V., Vorozhtsova I.N., Filippova T.A., Denisov N.S., Dyakov D.A. Composition and metabolic activity of the gut microbiota in obese children and adolescents. *Sibirskiy zhurnal klinicheskoy i eksperimental'noy meditsiny = Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2020;35(3):38–46. [In Russian]. doi: 10.29001/2073-8552-2020-35-3-38-46

43. Евдокимова Н.В., Шогирадзе Л.Д., Похлебкина А.А., Петренко Ю.В., Михнина Е.А., Новикова В.П., Беженарь В.Ф. Микробиота тонкой кишки у девочек-подростков, страдающих ожирением. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол*. 2023;(7):34–41. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-215-7-34-41

Evdokimova N.V., Shogiradze L.D., Pokhlebkina A.A., Petrenko Yu.V., Mikhnina E.A., Novikova V.P., Bezhenar V.F. Small gut intestine microbiota in adolescent girls with obesity. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023;(7):34–41. [In Russian]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-215-7-34-41

44. Петеркова В.А., Безлепкина О.Б., Болотова Н.В., Богова Е.А., Васюкова О.В., Гирш Я.В., Кияев А.В., Кострова И.Б., Малиевский О.А., Михайлова Е.Г., … Храмова Е.Б. Клинические рекомендации «Ожирение у детей». *Пробл. эндокринологии*. 2021;67(5):67–83. doi:10.14341/probl12802

Peterkova V.A., Bezlepkina O.B., Bolotova N.V., Bogova E.A., Vasyukova O.V., Girsh Ya.V., Kiyaev A.V., Kostrova I.B., Malievskiy O.A., Mikhailova E.G., … Khramova E.B. Clinical guidelines «Obesity in children». *Problemy endocrinologii = Problems of Endocrinology.* 2021;67(5):67–83. [In Russian]. doi: 10.14341/probl12802

45. Дедов И.И., Мокрышева Н.Г., Мельниченко Г.А., Трошина Е.А., Мазурина Н.В., Ершова Е.В., Комшилова К.А., Андреева Е.Н., Анциферов М.Б., Бирюкова Е.В., … Яшков Ю.И. Ожирение. Клинические рекомендации. *Consilium Medicum*. 2021;23(4):311–325. doi: 10.26442/20751753.2021.4.200832

Dedov I.I., Mokrysheva N.G., Mel'nichenko G.A., Troshina E.A., Mazurina N.V., Ershova E.V., Komshilova K.A., Andreeva E.N., Antsiferov M.B., Biriukova E.V., … Yashkov Iu.I. Obesity. Clinical guidelines. *Consilium Medicum*. 2021;23(4):311–325. [In Russian]. doi: 10.26442/20751753.2021.4.200832

46. Chao A.M., Quigley K.M., Wadden T.A. Dietary interventions for obesity: clinical and mechanistic findings. *J. Clin. Invest*. 2021;131(1):e140065. doi: 10.1172/JCI140065

47. Kim B.Y., Choi D.H., Jung C.H., Kang S.K., Mok J.O., Kim C.H. Obesity and physical activity. *J. Obes. Metab. Syndr*. 2017;26(1):15–22. doi: 10.7570/jomes.2017.26.1.15

48. Berge J., Hjelmesaeth J., Hertel J.K., Gjevestad E., Småstuen M.C., Johnson L.K., Martins C., Andersen E., Helgerud J., Storen O. Effect of aerobic exercise intensityon energy expenditure and weight loss in severe obesity – A randomized controlled trial. *Obesity (Silver Spring).* 2021;29(2):359–369. doi: 10.1002/oby.23078

49. Степаненко Н.П., Кондратьева Е.И., Светлик О.Б., Достовалова О.В., Алайцева С.В. Способ реабилитации детей и подростков с ожирением. Пат. 2440086 РФ; опубл. 20.01.2012.

Stepanenko N.P., Kondrat'eva E.I., Svetlik O.B., Dostovalova O.V., Alajtseva S.V. Method of rehabilitation of children and adolescents suffering obesity. Patent 2440086 RF; published 20.01.2012. [In Russian].

Сведения об авторах:

Менщикова Валерия Евгеньевна, ORCID: 0009-0007-1119-7258, e-mail: vaidurova_valerya@mail.ru
Карцева Татьяна Валерьевна, д.м.н., ORCID: 0000-0001-7007-1996, e-mail: kartseva-t@mail.ru
Рябиченко Татьяна Ивановна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-0990-0078, e-mail: 2925871@mail.ru
Обухова Ольга Олеговна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9834-1799, e-mail: trio188@yandex.ru
Тимофеева Елена Петровна к.м.н., ORCID: 0000-0003-0657-5705, e-mail: timofeevae.p@mail.ru
Космичева Ольга Александровна, ORCID: 0009-0005-5482-9978

Information about the authors:

Valeria E. Menshchikova, ORCID: 0009-0007-1119-7258, e-mail: vaidurova_valerya@mail.ru
Tatyana V. Kartseva, doctor of medical science, ORCID: 0000-0001-7007-1996, e-mail: kartseva-t@mail.ru
Tatyana I. Ryabichenko, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-0990-0078, e-mail: 2925871@mail.ru
Olga O. Obukhova, doctor of medical science, ORCID: 0000-0002-9834-1799, e-mail: trio188@yandex.ru
Elena P. Timofeeva, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0657-5705, e-mail: timofeevae.p@mail.ru
Olga A. Kosmicheva, ORCID: 0009-0005-5482-9978

Поступила в редакцию 04.07.2024
После доработки 30.07.2024
Принята к публикации 18.11.2024

Received 04.07.2024
Revision received 30.07.2024
Accepted 18.11.2024

УДК 613.25 DOI: 10.18699/SSMJ20240607
Обзор литературы / Review article

Окислительный стресс и экзогенно-конституциональное ожирение

О.А. Силизерцева[1], М.А. Даренская[2], Л.В. Рычкова[2], И.Н. Гутник[1], Т.А. Астахова[2], Л.И. Колесникова[1, 2]

[1] Иркутский государственный университет
664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1
[2] Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека
664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16

Резюме

Обзор литературы посвящен проблеме экзогенно-конституционального ожирения и роли окислительного стресса (ОС) при указанной форме ожирения. Рассмотрены вопросы современной диагностики и патогенеза экзогенно-конституционального ожирения. Представлены результаты различных исследований, посвященных изучению ОС при ожирении как у лабораторных животных, так и у человека. Избыточная масса тела часто сопровождается усилением ОС и субклиническим системным воспалением. Необходимость корректировать антиоксидантный статус организма – актуальный вопрос, важной частью которого является индивидуальный подход при подборе средств и дозировок с целью снижения негативного влияния свободных радикалов на клеточном уровне. Существенную проблему представляет отсутствие единого стандарта определения параметров ОС, что требует стандартизированного лабораторного оборудования, в связи с этим выбор конкретного метода является ответственным шагом специалиста-исследователя. В данном направлении по-прежнему остается много вопросов, которые требуют более детальной проработки.

Ключевые слова: ожирение, окислительный стресс, питание, избыточная масса тела.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Силизерцева О.А., e-mail: silolesya@mail.ru
Для цитирования: Силизерцева О.А., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Гутник И.Н., Астахова Т.А., Колесникова Л.И. Окислительный стресс и экзогенно-конституциональное ожирение. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):69–82. doi: 10.18699/SSMJ20240607

Oxidative stress and exogenous constitutional obesity

O.A. Silizertseva[1], M.A. Darenskaya[2], L.V. Rychkova[2], I.N. Gutnik[1], T.A. Astakhova[2], L.I. Kolesnikova[1, 2]

[1] Irkutsk State University
664003, Irkutsk, Karla Marksa st., 1
[2] Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems
664003, Irkutsk, Timiryazeva st., 16

Abstract

The literature review is devoted to the problem of exogenous-constitutional obesity and the role of oxidative stress (OS) in this form of obesity. The issues of modern diagnostics and pathogenesis of exogenous-constitutional obesity are considered. The results of various studies devoted to the study of OS in obesity in both laboratory animals and humans are presented. Excess body weight is often accompanied by increased OS and subclinical systemic inflammation. The need to correct the antioxidant status of the body is a topical issue, an important part of which is an individual approach to the selection of agents and dosages in order to reduce the negative impact of free radicals at the cellular level. A significant problem is the lack of a single standard for determining OS parameters, which requires standardized

laboratory equipment, in this regard, the choice of a specific method is a responsible step for a research specialist. In this area, there are still many questions that require more detailed study.

Key words: obesity, oxidative stress, nutrition, overweight.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author. Silizertseva O.A., e-mail: silolesya@mail.ru
Citation: Silizertseva O.A., Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Gutnik I.N., Astakhova T.A., Kolesnikova L.I. Oxidative stress and exogenous constitutional obesity. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):69–82. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240607

Введение

Ожирение представляет собой не столько эстетическую проблему, сколько серьезный фактор, способствующий ухудшению здоровья населения всех возрастов. Во многих странах в последние десятилетия быстрыми темпами увеличивается количество людей с избыточной массой тела и ожирением. По данным ВОЗ, с 1975 по 2016 г. во всем мире количество лиц, страдающих ожирением, выросло более чем втрое. В 2016 г. более 1,9 млрд человек старше 18 лет имели избыточный вес, из них у 650 млн было ожирение; избыточный вес или ожирение имели около 41 млн детей в возрасте до 5 лет и 340 млн детей и подростков в возрасте от 5 до 19 лет [1]. В последние годы отмечается тенденция к росту заболеваемости ожирением среди всех возрастов [1–3]. Наиболее распространенной является экзогенно-конституциональная форма (ЭКОЖ), которая представляет собой выраженный дисбаланс между потребляемыми калориями и их расходованием [4].

Для диагностики ожирения и избыточного веса у взрослых как первый параметр используется индекс массы тела (ИМТ), который рассчитывается как отношение массы тела в килограммах к квадрату роста в метрах. Согласно ВОЗ, при ИМТ ≥ 25 кг/м^2 ставится диагноз «избыточный вес», ИМТ ≥ 30 кг/м^2 уже считается ожирением [1]. ИМТ имеет свои минусы как диагностический критерий ожирения, так как он не отражает, какой компонент тела обусловливает избыточную массу тела. В зависимости от распределения жировых отложений ЭКОЖ имеет такие формы, как гиноидное (ягодично-бедренное, нижний тип) и андроидное (абдоминальное, висцеральное, верхний тип) [5], для их определения рекомендуется измерение окружности талии (ОТ): значения ОТ ≥ 80 см у женщин и ОТ ≥ 94 см у мужчин соответствуют абдоминальному ожирению и повышенному риску сердечно-сосудистых событий [6]. В связи с отсутствием достоверных данных о взаимосвязи с абдоминальным ожирением, а также из-за того, что не проводились масштабные исследования по их оценке среди взрослых в российской популяции, не рекомендуется использовать такие антропометрические индексы, как отношение ОТ к росту, индекс «продукта накопления липидов» и индекс висцерального ожирения, в повседневной клинической практике [6].

Для получения более информативных данных о компонентном составе тела используют различные методики. Длительное время широко применялась калиперометрия – измерение толщины кожной складки для оценки толщины подкожно-жирового слоя, но существуют определенные сложности для интерпретации результатов, так как большое значение имеет правильность выполнения замеров [7]. Погрешность измерений при калиперометрии составляет 3–11 % [8], что говорит о существенной зависимости результатов от подготовки и практического навыка специалиста, проводящего измерения [8].

В последние годы широкое диагностическое значение получило биоимпедансное исследование состава тела [9] – перспективный метод для повседневной медицинской практики [10], простой в проведении и безболезненный для пациента [11]. Биоимпедансный анализ основан на электрической проводимости тела, позволяет оценивать объемы клеточной и внеклеточной жидкости, а также жировую, безжировую, клеточную и мышечную массу [12]. В качестве диагностического критерия избыточной массы тела и ожирения у детей рекомендовано определение величины стандартных отклонений индекса массы тела (SDS ИМТ). С учетом рекомендаций ВОЗ, ожирение у детей и подростков от 0 до 19 лет следует определять при ИМТ, равном или более +2,0 SDS ИМТ, избыточную массу тела – при величине SDS ИМТ от +1,0 до +2,0, нормальную – при значениях SDS ИМТ в пределах ± 1,0 [13].

Ожирение является фактором риска развития таких заболеваний, как сердечно-сосудистые (атеросклероз, сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда), метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа, неалкогольная жировая болезнь печени, цирроз печени, рак, остеоартрит, легочная дисфункция, снижение когнитивных навыков, недержание

мочи [14]. В связи с этим цель настоящего обзора – на основании анализа экспериментальных и клинических исследований (по данным литературы) обобщить роль окислительного стресса (ОС) в патогенезе ожирения, прогрессировании кардиоваскулярных и метаболических рисков и оценить современные методы его диагностики и коррекции в клинической практике.

Патогенетические аспекты экзогенно-конституционального ожирения

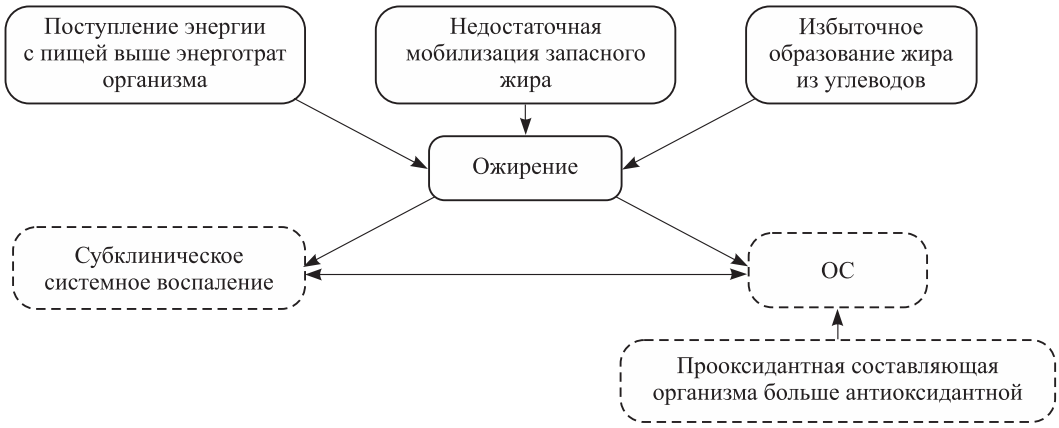
Важное прогностическое значение для ряда заболеваний имеет характер распределения жировой ткани. Андроидный тип ожирения является фактором повышенного риска развития гипертонии, ишемической болезни сердца, сахарного диабета 2 типа, гиперлипидемии. При гиноидном типе ожирения риски развития вышеуказанных заболеваний ниже, чем при андроидном типе ожирения [15].

Долгое время считали, что количество адипоцитов устанавливается в раннем детстве и далее не меняется в течение всей жизни, на основании чего полагали, что при избыточном питании увеличение массы жировой ткани у взрослого человека происходит только за счет гипертрофии адипоцитов. Данный механизм характерен для большинства случаев ожирения (около 80 %) [15]. Установлено, что часть случаев тяжелого ожирения происходит не только за счет гипертрофии адипоцитов, но и за счет гиперплазии [15]. Дифференцировка фибробластических клеток-предшественников в новые адипоциты у взрослых людей является редким исключением, а до рождения и в раннем грудном периоде она вполне возможна [15]. На основании этого считается, что в развитии гиперпластического ожирения огромное значение имеет наследственность, определяющая пролиферативные возможности этих клеток. Однако надо отметить, что и в последующем некоторые периоды (подростковый, преклимактерический) характеризуются усилением пролиферативной активности преадипоцитов. Более того, их пролиферацию может индуцировать избыток калорий. Гиперпластическая фаза ожирения включается, когда масса тела человека превышает на 100 % идеальную [15].

Избыточное накопление жира в жировой ткани возможно при повышенном поступлении пищи, не соответствующем энерготратам организма; при нормальном поступлении пищи, но недостаточной мобилизации запасного жира как источника энергии; при нормальном поступлении пищи, нормальном использовании запасов жира, но избыточном образовании его из углеводов (рисунок) [15].

В настоящее время уже сформировалось понимание, что ожирение сопровождается субклиническим системным воспалением, на фоне которого развиваются различные коморбидные состояния [4, 16–20]. Показано, что в жировой ткани развиваются все пять стадий воспаления, описываются свойственные ему порочные круги: цитокины стимулируют синтез активных форм кислорода, которые, в свою очередь, стимулируют синтез цитокинов [21–23].

Одним из патогенетических механизмов формирования ЭКОЖ является развитие ОС [24, 25] – нарушения баланса между про- и антиоксидантной составляющей организма [22], который имеет важное значение для поддержания жизнеспособности клеток [26, 27]. В качестве маркеров ОС в живом организме исследуют продукты окисления липидов, белков: малоновый диальде-



Этиология ЭКОЖ и взаимосвязь с ОС

Exogenous constitutional obesity etiology and relation to oxidative stress

гид (МДА), простагландин F2a, карбоксилированные протеины. Также определяют активность антиоксидантных ферментов (суперокиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП)), общий антиоксидантный статус плазмы крови [24]. На основании результатов многочисленных исследований Е.С. Прокудина и соавт. отметили, что ожирение может вызывать ОС [28]. Активные формы кислорода являются важным фактором метаболических нарушений в адипоцитах и, как следствие, участвуют в механизме возникновения метаболического синдрома. ОС вызывает инсулинорезистентность адипоцитов, способствует увеличению секреции адипоцитами лептина и провоспалительных цитокинов [29].

Экспериментальные исследования связи ОС и ЭКОЖ

Понимая негативное влияние ОС на живой организм, научное сообщество стало активнее изучать как различные факторы, сопровождающие усиление ОС, так и возможные способы его снижения, в том числе с помощью различных биологически активных добавок в ежедневном рационе [30]. Исследуются взаимосвязи ожирения питания и ОС [31], в том числе на фоне гиперкалорийного питания на лабораторных животных [32]. Н.В. Шарапова и соавт. провели эксперимент по выявлению метаболических эффектов незначительного повышения калорийности пищевого рациона. Продолжительность опыта составила 7 недель. В качестве параметров ОС оценивали активность СОД и каталазы, содержание диеновых конъюгатов и МДА. Авторы зафиксировали, что умеренное увеличение калорийности за счет жира сопровождалось развитием ОС [33].

Проведена работа по изучению влияния витамина D на маркеры ОС и воспаления в сердечной ткани у крыс с ожирением, вызванным диетой с высоким содержанием жиров. В качестве маркеров ОС в гомогенатах сердечной ткани определяли активность ГП, СОД и каталазы, содержание МДА методом спектрофотометрии. Авторы утверждают, что проведенное исследование показало, что введение витамина D защищает от ОС сердечную ткань, о чем свидетельствует повышение активности СОД и ГП, а также способствует уменьшению воспаления сердечной ткани за счет снижения содержания ФНО-альфа [34].

В исследовании S. de Oliveira Marques et al., посвященном влиянию добавок масла авокадо на чувствительность к инсулину, когнитивные функции, маркеры воспаления и ОС в различных тканях мышей с ожирением, вызванным диетой, для изучения редокс-статуса брали жировую ткань придатка яичка, четырехглавую мышцу бедра, печень и гиппокамп. Показано, что назначение масла авокадо способствовало уменьшение окислительного повреждения белков во всех тканях, а также повышению активности СОД, каталазы и уменьшению выраженности воспаления в придатках жировой ткани и тканях скелетных мышц [35]. S.I. Nayan et al. изучали влияние добавления порошка листьев сенны александрийской в рацион крыс с ожирением, получавших диету с высоким содержанием жиров, на окислительный статус. В гомогенате печени и плазме крови определяли уровень МДА, оксида азота, активность СОД, содержание глутатиона восстановленного (GSH), а также оценивали экспрессию генов, регулирующих метаболизм жиров, воспаление и ОС. Установлено, что добавление сенны в рацион сопровождалось нормализацией редокс-статуса животных с ожирением, вызванным высокожировой диетой [36]. Исследование эффекта порошка кардамона на ОС у крыс с ожирением, вызванным высоким содержанием углеводов и жиров в рационе, показало, что присутствие в нем фенольных соединений может быть ответственным за защиту печени и усиление антиоксидантной защиты организма [37].

Имеются данные о том, что вызванные ожирением ОС и воспалительная реакция яичек снижают синтез тестостерона и качество спермы. X. Yi et al. установили, что упражнения с умеренной нагрузкой могут быть эффективными для уменьшения в тканях яичек жировых отложений, выраженности ОС, вызванного ожирением [38]. Ученые обратили внимание, что хотя упражнения с высокой нагрузкой лучше снижают жировые отложения, они оказывают незначительное влияние на подавление ОС, воспалительной реакции в ткани семенников, биосинтеза тестостерона и качество спермы у мышей-самцов с ожирением. Обнаружено, что высококалорийная пища, потребляемая беременными крысами с ожирением, способствует снижению антиоксидантной функции печени крысят, что увеличивает вероятность хронических заболеваний печени у потомства в раннем возрасте [32].

Клинические исследования ОС при ЭКОЖ

Наличие ожирения у женщин репродуктивного возраста представляет собой особенно актуальную проблему из-за его возможного влияния на беременность [39]. Женщины с высоким процентом жировой ткани и ИМТ выше 25 кг/м^2 до и/или во время беременности могут иметь более высокую частоту ее неблагоприятных исходов, включая метаболические и анатомические изменения у детей [40]. Материнское ожирение влияет не только на беременную, но и на здоро-

вье плода [41]. J.M. Gallardo et al. изучили связь между избыточным весом или ожирением матери до беременности и ОС новорожденных. Обследованы 72 пары «мать – ребенок», из которых у 21 женщины в прегестационном периоде была нормальная масса тела, у 32 матерей – избыточная и 19 страдали ожирением. Для определения параметров ОС использовали метод спектрофотометрии. Авторы пришли к выводу, что у потомства матерей с избыточной массой тела и ожирением до гестации чаще развивается ОС [42].

Целью исследования M. Hernández-Trejo et al. было оценить взаимосвязь между выраженностью ОС и концентрацией цитокинов у людей с избыточной массой тела, ожирением и нормальной массой тела и у больных диабетом, беременных женщин и их детей. Большинство (73,5 %) беременных получали поливитамины. Определяли содержание гидроперекисей липидов в мембранах эритроцитов, МДА (методом спектрофотометрии), карбонилированных белков, нитритов и свободных жирных кислот, СОД, ГП, ферментативную активность аргиназы. По результатам исследования авторы сделали заключение, что ожирение и диабет могут влиять на микросреду матери, а связанный с ними ОС – на метаболическое и иммунологическое программирование ребенка [40].

A.K. Ballesteros-Guzmán et al. изучили связь между ожирением до беременности и экспрессией маркеров ОС и антиоксидантной защиты в фетоматеринском отделе, а также их связь с рационом питания. Выборку составили 33 женщины с одноплодной неосложненной беременностью в возрасте от 20 до 40 лет. Для анализа собирали образцы крови матерей и кровь из пуповины, а также плаценты. В качестве параметров ОС изучали МДА, общую антиоксидантную активность сыворотки крови, экспрессию плацентарной ГП4. На основании результатов исследования авторы сделали заключение, что ожирение до беременности связано со снижением экспрессии ГП4 в плаценте, что сопровождается развитием ОС у новорожденного. Влияние потребления микроэлементов на биомаркеры ОС подчеркивает важность оценки питания во время беременности [43].

A. Lopez-Yañez Blanco et al. в своем исследовании изучали взаимосвязь материнского ожирения, диеты и ОС у новорожденных и их матерей. Набор женщин в исследование проходил в третий триместр беременности, в этот же период участницы заполняли опросник по частоте приема пищи. Установлено, что уровень МДА и оксида азота в парах «мать – ребенок» в группе с прегестационным избыточным весом или ожирением выше, чем в парах «мать – ребенок» с нормальным прегестационным весом. Наблюдалась корреляция между маркерами ОС матерей и новорожденных. Независимо от ИМТ или калорийности рациона беременных низкое потребление овощей и фруктов или задержка приема фолиевой кислоты во время беременности вызывали усиление ОС в парах «мать – ребенок». У женщин, которые больше употребляли овощи и фрукты, уровень оксида азота и МДА был ниже [44].

ОС сопровождает различные заболевания. B.A. Nasui et al. изучали влияние диеты и физической активности на ОС у румынских женщин с остеоартритом, в исследовании приняли участие 98 женщин, в образцах крови которых определяли уровень МДА (методом спектрофотометрии), GSH, окисленного глутатиона (GSSG), а также рассчитывали соотношение GSH/GSSG. Содержание маркера ОС МДА отрицательно коррелировало с потреблением овощей и фруктов [45]. Диета является возможным фактором, способствующим образованию активных форм кислорода во время патогенеза ожирения и связанных с ним рисков [18, 46].

Факторы риска кардиометаболических заболеваний, включая ожирение, связаны с повышенным уровнем биомаркеров ОС, таких как оксилипины. Ó.J. Lara-Guzmán et al. провели исследование с участием 105 респондентов (возраст 40,3 ± 11,9 года, ИМТ 27,7 ± 5,0 кг/м^2), изучив связь между содержанием в моче 33 оксилипинов и ожирением, кардиометаболическим статусом, составом кишечной микробиоты, разнообразием пищи и потреблением антиоксидантов. На основании результатов исследования сделан вывод, что ИМТ положительно коррелирует с уровнем оксилипинов в моче. Хотя не все изопростаны имели одинаковую реакцию на увеличение массы тела и ожирение, метаболиты 2,3-динороксилипина были соединениями с более высоким уровнем экскреции, чем их предшественники, и были более тесно связаны с ожирением и резистентностью к инсулину. Отмечено, что чем больше содержание в диете полифенолов, тем меньше выделяется динор-оксилипинов, это позволило предположить, что увеличение потребления пищевых антиоксидантов может способствовать снижению выраженности ОС [47].

В исследовании И.А. Романенко и соавт. изучалась динамика метаболических показателей, маркеров ОС и повреждения сосудистой стенки при лечении больных с ожирением и предиабетом. В качестве параметров ОС определяли уровень МДА и диеновых конъюгатов в плазме крови. На основании полученных результатов исследования сделано несколько выводов, один из

которых говорил о том, что у больных с ожирением и предиабетом показатели ОС и маркеров повреждения сосудистой стенки достоверно превышали таковые у практически здоровых людей [48].

K. Szewczyk-Golec et al. провели исследование влияния 30-дневного приема мелатонина (10 мг в день) на окислительно-восстановительный статус и содержание в крови адипокинов у людей с ожирением, соблюдающих диету с ограничением калорий. Выборка составила 30 человек с ИМТ ≥ 30 кг/м^2. В качестве параметров ОС определяли концентрацию МДА, активность Cu, Zn-СОД, каталазы, цитозольной ГП. Авторы утверждают, что мелатонин значительно снижает ОС и регулирует уровень циркулирующих адипокинов, полезных для энергетического гомеостаза у людей с ожирением, соблюдающих низкокалорийную диету [19].

Учитывая современную тенденцию к увеличению количества детей с ожирением и избыточной массой тела, есть потребность к неинвазивным способам оценки параметров ОС. V. Selvaraju et al. провели исследование маркеров воспаления, ОС и эндотелиальной дисфункции у 88 детей с ожирением в возрасте от 6 до 10 лет. Содержание маркеров воспаления и ОС (8-изопростана и дезоксигуанозина, ИФА) измеряли в моче. Установлено, что уровень С-реактивного белка и 8-изопростана значительно возрастал по мере увеличения показателей ожирения и коррелировал с концентрацией эндотелина-1, маркеров воспаления и ОС. Сделан вывод, что повышение содержания в моче маркеров воспаления и 8-изопростана могут служить неинвазивным критерием раннего выявления риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [49].

A.M. Lechuga-Sancho et al. изучили связь ОС и воспаления с резистентностью к инсулину у детей с ожирением. Участниками исследования были 24 ребенка обоих полов в возрасте от 4 до 14 лет, из них 18 детей страдали ожирением и шестеро были отнесены к контрольной группе (без ожирения). После проведения орального глюкозотолерантного теста группу детей с ожирением разделили в зависимости от наличия или отсутствия нарушения углеводного обмена. Содержание липопероксидов измеряли в плазме крови, эритроцитах, моче, конечных продуктов гликирования – в плазме, окислительно-восстановительный статус определяли в эритроцитах. В качестве параметров ОС и антиоксидантной активности определяли уровень МДА, 8-изопростана в моче, общую антиоксидантную активность, концентрацию глутатиона в эритроцитах, активность каталазы. На основании полученных результатов сделано заключение, что у детей с ожирением и резистентностью к инсулину наблюдаются повышение выраженности ОС и задержка антиоксидантной реакции на оральный глюкозотолерантный тест, что приводит к усилению ОС после однократной нагрузки глюкозой, это обнаруживалось в эритроцитах, но не в плазме [50].

Важное исследование, посвященное оценке влияния ОС на состояние жесткости сосудистой стенки у подростков с ожирением и артериальной гипертензией, выполнили В.В. Бекезин и соавт. Оценку параметров свободнорадикального окисления проводили методом индуцированной хемилюминесценции. На основании полученных результатов авторы сделали заключение, что ОС у детей с ожирением является одним из факторов риска изменений, которые сопровождаются повышением жесткости сосудистой стенки [51]. Еще одной клинически значимой работой стало изучение ОС и обеспеченности витамином D в зависимости от жировой массы тела детей с аллергическим ринитом. Параметры ОС определяли с помощью индуцированной хемилюминесценции сыворотки крови, содержание витамина D в сыворотке крови – методом ИФА. Установлены значительные отличия выраженности ОС и обеспеченности витамином D на фоне избыточной массы тела: в 2,93 раза чаще регистрировался ОС и в 3,13 раза – недостаточность и дефицит витамина D [52].

Изучение ОС необходимо проводить и у людей с нормальным ИМТ, у которых также может быть избыточное содержание жира в организме. Интересное исследование в этом направлении осуществлено с участием 75 подростков. Параметры свободнорадикального окисления оценивали методом индуцированной хемилюминесценции сыворотки крови. Обнаружено, что избыточная доля жировой массы тела вносит свой вклад в ОС даже при нормальных значениях ИМТ [53].

Абдоминальное ожирение является важным фактором различных заболеваний, особенно сердечно-сосудистых. X.J. Jia et al. изучали корреляцию между выраженностью ОС и содержанием внутрибрюшинного жира у мужчин с ожирением. В исследование были включены 136 мужчин в возрасте от 22 до 58 лет с нормальной толерантностью к глюкозе. Критериями исключения служили значительная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, инфаркт мозга и диабет, курение и употребление алкоголя, пероральное применение лекарств или хирургическое лечение в течение последнего месяца. Проводили антропометрические измерения, определение артериального давления, определение уровня лептина, адипонектина, 8-изо-$PGF_{2\alpha}$, МДА, СОД, триглицери-

дов, общего холестерина, липопротеинов низкой (ЛПНП) и высокой (ЛПВП) плотности, инсулина и глюкозы в крови натощак, а также площади внутрибрюшинного жира, измеренной с помощью МРТ на уровне L4/5. Все мужчины были разделены на три группы в соответствии с нормами для Китая: с ожирением (ИМТ ≥ 28 кг/м^2, n = 43), с избыточным весом (24 ≤ ИМТ < 28 кг/м^2 , n = 46) и контрольная (ИМТ < 24 кг/м^2 , n = 47). После анализа полученных результатов сделан вывод, что ОС в значительной степени связан с площадью внутрибрюшинного жира у мужчин с ожирением, а абдоминальное ожирение может повысить выраженность ОС и резистентность к инсулину [54].

B. Kargar et al. провели исследование, целью которого было изучить роль ОС у работающего населения, страдающего метаболическим синдромом и обструктивным апноэ во сне. В выборку вошли 163 пекаря-ремесленника с продолжительностью рабочего стажа минимум 12 мес. и полным рабочим днем. Средний возраст обследованных составил 45,4 года, регулярно занимались спортом 66,3 %, не курили 87,7 %. В качестве маркеров ОС в сыворотке крови были измерены содержание МДА, оксида азота, общая антиоксидантная активность. Из 163 участников исследования 22 человека страдали ожирением, у 20 наблюдался МС, согласно критериям Международной диабетической федерации. На основании результатов исследования авторы пришли к выводу, что ОС причастен к развитию МС у работников пекарни [55].

D. Kupczyk et al. оценили уровень параоксоназы-1 (PON1), рецептора окисленных ЛПНП, антиоксидантных ферментов и интенсивность процессов перекисного окисления липидов при ожирении. В исследовании приняли участие 28 мужчин, 14 из которых страдали ожирением 2-й степени. В качестве параметров ОС определяли содержание МДА; активность Zn, Cu-СОД, каталазы и цитозольной ГП. Сделан вывод, что ожирение является независимым фактором риска выработки активных форм кислорода, которые могут привести к повреждению клеток [56].

K. Uçkan et al. исследовали взаимосвязь между редокс-статусом, эндотелиальной дисфункцией, липидным обменом, риском метаболического синдрома у женщин с синдромом поликистозных яичников. 45 женщин с ИМТ < 30 кг/м^2 были включены в группу без ожирения, 45 пациенток с ИМТ > 30 кг/м^2 – в группу с ожирением. Критериями исключения являлись сахарный диабет, хроническая артериальная гипертензия, сердечно-сосудистые заболевания с дисфункцией щитовидной железы, эндометриоз, прием гиполипидемических или инсулиносенсибилизирующих препаратов. В качестве маркеров ОС определяли уровень МДА, глутатиона, активность СОД, ГП и каталазы. Сделано заключение, что ОС и ослабление антиоксидантной защиты у пациенток коррелирует с гиперинсулинемией, гипертонией и дислипидемией [57].

G.K. Jakubiak et al. изучили взаимосвязь между отдельными антропометрическими и биохимическими параметрами и ОС у 422 молодых людей в возрасте от 18 до 36 лет с метаболически здоровым (16 человек) и нездоровым ожирением (61 человек), а также с нормальным весом (345 человек). В качестве параметров ОС в сыворотке крови определялись общая антиоксидантная активность, концентрация МДА, церулоплазмина, тиоловых групп и гидропероксидов липидов, в эритроцитах – содержание липофусцина и активность СОД. Установлено, что метаболически нездоровые пациенты с ожирением имеют более выраженный ОС по сравнению с лицами с нормальной массой тела и без метаболических нарушений. Существенные различия между мужчинами и женщинами могут указывать на разные механизмы, приводящие к ОС и его осложнениям [17].

Эффективность коррекции ОС у пациентов с ожирением

Уже не вызывает сомнений серьезность изучения вопроса ОС, его взаимосвязи с различными состояниями организма и заболеваниями. Еще более сложная тема – возможности коррекции ОС в клинической практике. В настоящее время нет единого стандарта для определения маркеров ОС; антиоксидантной активностью обладают различные вещества, но существует необходимость определения конкретных эффективных дозировок с учетом персонализированного подхода в лечении пациентов.

J.P. Nederveen et al. провели рандоминизированное двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование эффективности многокомпонентной пищевой добавки для снижения веса и улучшения компонентного состава тела. В состав данной пищевой добавки входили форсколин, экстракты зеленых кофейных зерен, зеленого чая и корня свеклы, альфа-липоевая кислота, витамин Е, коэнзим Q10. Выборка составила 55 лиц с избыточной массой тела и ожирением, возраст 25,9±1,1 года. Участники принимали пищевую добавку ежедневно в течение 12 недель, что привело к значительной потере веса преимущественно за счет жирового компонента и сопровождалось нормализацией содержания молекулярных маркеров здоровья печени и обмена веществ [58].

Многие продукты обладают антиоксидантными свойствами. I. Ruiz-García et al. изучили полезные свойства оливкового масла первого отжима (EVOO), богатого олеоканталом и олеацеином, по сравнению с обычным оливковым маслом (OO). Участниками исследования стали 33 мужчины и 58 женщин в возрасте 40–65 лет с ожирением (ИМТ 30–40 кг/м^2) и преддиабетом (HbA1c 5,7–6,4 %). При неизменной диете и физической активности участникам предлагалось в течение одного месяца заменить масло OO на EVOO. После использования EVOO общий антиоксидантный статус повысился, а содержание липидных и органических пероксидов снизилось [59]. N. Nikrad et al. посвятили свое исследование изучению эффективности приема 5 г/день экстракта шпината, богатого тилакоидами, вместе с уменьшением суточной калорийности рациона на 500 ккал. Участвовали 48 женщин с ожирением и синдромом поликистозных яичников, длительность применения экстракта составила 12 недель. Сделан вывод, что в целом тилакоидные мембраны шпината, дополненные гипокалорийной диетой, снизили концентрацию липополисахарида, половых гормонов, повысили содержание нейротрофического фактора мозга и улучшили гликемический профиль, но повлияли на уровень маркеров ОС [60].

C.T. Sangaleti et al. изучали влияние галантамина на ОС, а также на воспалительные и кардиометаболические параметры у пациентов с МС. Галантамин назначали в первые 4 недели в дозе 8 мг в день, затем 16 мг в день в течение 8 недель. Активность СОД, каталазы и ГП, перекисного окисления липидов и белков, а также уровень нитрита анализировались до и после лечения. Лечение галантамином значительно увеличило активность антиоксидантных ферментов, снизило интенсивность процессов перекисного окисления липидов и системного содержания нитрита по сравнению с плацебо [61].

J.E. Oben et al. сравнили влияние экстракта *Cissus quadrangularis* (CQR-300) с эффектом формулы, содержащей CQR-300 (CORE), на массу тела, содержание липидов в крови и ОС у людей с избыточным весом и ожирением. Участниками стали 153 человека, которые получали две ежедневные дозы CQR-300, CORE или плацебо и были призваны поддерживать нормальный уровень физической активности. Как CQR-300, так и CORE действовали как антиоксиданты *in vivo*, вызывая существенное ($p < 0,001$) уменьшение уровня МДА и карбонилов в плазме, а также значительное снижение веса, жировых отложений, содержания общего холестерина, холестерина ЛПНП, триглицеридов и глюкозы в крови натощак. Эти изменения сопровождались повышением в плазме уровня холестерина ЛПВП, 5-гидрокситриптамина и креатинина [62].

Влияние антиоксидантных добавок на биомаркеры ОС изучали S.B. Murer et al. Участниками исследования стали дети и подростки, опытная группа получала 400 МЕ витамина Е, 500 мг витамина С и 50 мкг селена в течение четырех месяцев, контрольная – плацебо. Были измерены антропометрические показатели, антиоксидантный статус, показатели ОС (содержание F_2-изопростанов и их метаболитов), воспаления, активность печеночных ферментов, уровень инсулина и глюкозы натощак, липидный профиль. Установлено, что прием антиоксидантов в течение четырех месяцев улучшил редокс-баланс и функцию печени [63].

В исследовании G. Block et al. 396 некурящих человека были разделены на две группы, первая принимала 1000 мг/день витамина С, 800 МЕ/день витамина Е в течение двух месяцев, а вторая плацебо. Витамин С и витамин Е снижали уровень F_2-изопростанов в плазме ($p = 0,001$ и $p = 0,043$ соответственно), эффект зависел от их исходного содержания: при значении более 50 мкг/мл назначение витамина С уменьшало концентрацию F_2-изопростанов на 22 % ($p = 0,01$), витамина Е – на 9,8 % ($p = 0,46$). Уровень F_2-изопростанов > 50 мкг/мл был тесно связан с ожирением и присутствовал у 42 % выборки [64].

W.H. Sutherland et al. изучили влияние добавления витамина Е на плазменные концентрации 8-изопростана и адипонектина у лиц с избыточным весом и ожирением. Выборка составила 80 пациентов, часть из них получала плацебо, часть – 800 МЕ/день природного витамина Е в течение трех месяцев с увеличением дозы до 1200 МЕ/день еще на три месяца. Установлено, что после шести месяцев приема витамина Е его концентрация в плазме крови значительно увеличилась (на 76 %, $p < 0,001$), а содержание 8-изопростана снизилось (на 11 %, $p = 0,03$), при этом уровень адипонектина в плазме существенно не изменился [65].

Заключение

Исследования в области ожирения крайне важны, так как оно оказывает множество негативных последствий на организм в целом, включая риски для сердечно-сосудистой и метаболической систем. Последние могут быть обусловлены усилением реакций ОС и развитием последующего воспаления. В связи с этим важно корректировать антиоксидантный статус организма с

индивидуальным подходом при подборе средств и дозировок с целью снижения негативного влияния активных форм кислорода на клеточном уровне. В то же время существенной проблемой является отсутствие единого стандарта определения параметров ОС. Помимо общепринятых методов спектрофотометрии, в настоящее время используются и другие методы лабораторной оценки ОС при ожирении: хемилюминесценция, флуоресцентная спектроскопия, электронный парамагнитный резонанс и др., каждый из которых характеризуется определенными особенностями подготовки материала, проведения исследования проб, результатом, и выбор конкретного метода является ответственным шагом специалиста-исследователя. В данном направлении по-прежнему остается много вопросов, которые требуют более детальной проработки. Серьезной проблемой в области изучения ОС и антиоксидантного статуса при ожирении также является разработка единых клинических рекомендаций по антиоксидантной терапии с позиции доказательной медицины.

Список литературы / References

1. ВОЗ. Ожирение и избыточная масса тела. Режим доступа: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

WHO. Obesity and overweight. Available at: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight [In Russian].

2. Лесная А.С., Даренская М.А., Семенова Н.В., Колесникова Л.И. Новый аспект метаболических нарушений при ожирении: карбонильный стресс. *Сиб. науч. мед. ж.* 2023;43(6):24–33. doi: 10.18699/SSMJ20230603

Lesnaya A.S., Darenskaya M.A., Semenova N.V., Kolesnikova L.I. A new aspect of metabolic disorders in obesity: carbonyl stress. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2023;43(6):24–33. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230603

3. Даренская М.А., Рычкова Л.В., Колесников С.И., Семенова Н.В., Никитина О.А., Лесная А.С., Колесникова Л.И. Показатели окислительного повреждения ДНК, белков и С-реактивного белка у девушек и юношей с экзогенно-конституциональным ожирением. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2023;176(9):307–311. doi: 10.47056/0365-9615-2023-176-9-307-311

Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Kolesnikov S.I., Semenova N.V., Nikitina O.A., Lesnaya A.S., Kolesnikova L.I. Oxidative damage of dna, proteins and c-reactive protein parameters in girls and boys with exogenous constitutional obesity. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2023;176(9):307–311. [In Russian]. doi: 10.47056/0365-9615-2023-176-9-307-311

4. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Гребенкина Л.А., Семенова Н.В., Колесников С.И. Состояние липидного обмена и антиоксидантный статус при экзогенно-конституциональном ожирении у девушек Бурятии. *Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.* 2021;66(1):80–86. doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-80-86

Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Grebenkina L.A., Semenova N.V., Kolesnikov S.I. Lipids methabolism and antioxidant status in exogenous constitutional obesity in girls of Buryatia. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics.* 2021;66(1):80–86. [In Russian]. doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-80-86

5. Недогода С.В. Ожирение в практике терапевта. М.: Эксмо, 2017. 304 с.

Nedogoda S.V. Obesity in the practice of a therapist. Moscow: Eksmo, 2017. 304 p. [In Russian].

6. Дедов И.И., Шестакова М.В., Мельниченко Г.А., Мазурина Н.В., Андреева Е.Н., Бондаренко И.З., Гусова З.Р., Дзгоева Ф.Х., Елисеев М.С., Ершова Е.В., … Шереметьева Е.В. Междисциплинарные клинические рекомендации «Лечение ожирения и коморбидных заболеваний». *Ожирение и метаболизм*. 2021;18(1):5–99. doi: 10.14341/omet12714

Dedov I.I., Shestakova M.V., Melnichenko G.A., Mazurina N.V., Andreeva E.N., Bondarenko I.Z., Gusova Z.R., Dzgoeva F.Kh., Eliseev M.S., Ershova E.V., … Sheremet'eva E.V. Interdisciplinary clinical practice guidelines "Management of obesity and its comorbidities". *Ozhireniye i metabolism = Obesity and Metabolism.* 2021;18(1):5–99. [In Russian]. doi: 10.14341/omet12714

7. Дорохов Р.Н., Чернова В.Н., Бубненкова О.М. Характер распределения жировой массы тела лиц различного возраста мужского и женского пола. *Учен. зап. ун-та им. П.Ф. Лесгафта.* 2015;(9):91–96. doi: 10.5930/issn.1994-4683.2015.09.127.p91-96

Dorokhov R.N., Chernova V.N., Bubnenkova O.M. Nature of distribution of fatty body weight among the people at various ages both male and female. *Uchenye zapiski universiteta imeni Petra Frantsevicha Lesgafta = The Scientific Notes of the P.F. Lesgaft University.* 2015;(9):91–96. [In Russian]. doi: 10.5930/issn.1994-4683.2015.09.127.p91-96

8. Русакова Д.С., Щербакова М.Ю., Гаппарова К.М., Зайнудинов З.М., Ткачев С.И., Сахаровская В.Г. Современные методы оценки состава тела. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2012;(8):71–81.

Rusakova D.S., Shcherbakova M.Yu., Gapparova K.M., Zainudinov Z.M., Tkachev S.I., Sakharovskaya V.G. Modern evaluating methods of the body. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2012;(8):71–81. [In Russian].

9. Перевощикова Н.К., Селиверстов И.А., Дракина С.А., Черных Н.С. Биоимпедансный анализ

в клинической практике. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2021;(3):11–20. doi:10.24412/2686-7338-2021-3-11-20

Perevoshchikova N.K., Seliverstov I.A., Drakina S.A., Chernykh N.S. Bioelectrical impedance analysis in clinical practice. *Mat' i ditya v Kuzbasse = Mother and baby in Kuzbass.* 2021;(3):11–20. [In Russian]. doi:10.24412/2686-7338-2021-3-11-20

10. Павлова З.Ш., Пьяных О.П., Голодников И.И. Биоимпедансный анализ: клинические примеры и интерпретация изменений состава тела человека при воздействии различных факторов. *Эндокринология. Новости. Мнения. Обучение.* 2020;9(4):74–81. doi: 10.33029/2304-9529-2020-9-4-74-81

Pavlova Z.Sh., Pyanykh O.P., Golodnikov I.I. Bioimpedance analysis: clinical cases and explanation of changes in human body composition under the influence of various factors. *Endokrinologiya. Novosti. Mneniya. Obuchenie = Endocrinology. News. Opinions. Training*. 2020;9(4):74–81. [In Russian]. doi: 10.33029/2304-9529-2020-9-4-74-81

11. Семенов М.М., Выборная К.В., Раджабкадиев Р.М., Гаппарова К.М., Шарафетдинов Х.Х., Зайнудинов З.М., Никитюк Д.Б. Оценка типов телосложения пациентов с ожирением I–III степени по схеме Хит–Картера с помощью различных формул. *Вестник восстановительной медицины.* 2022;21(6):78–90. doi:10.38025/2078-1962-2022-21-6-78-90

Semenov M.M., Vybornaya K.V., Radzhabkadiev R.M., Gapparova K.M., Sharafetdinov Kh.Kh., Zainudinov Z.M., Nikityuk D.B. Evaluation of the somatotype of patients with class 1, 2 and 3 obesity according to the Heath-Carter scheme using various formulas. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny = Bulletin of Regenerative Medicine.* 2022;21(6):78–90. [In Russian]. doi:10.38025/2078-1962-2022-21-6-78-90

12. Ахмедова Р.М., Софронова Л.В., Корюкина И.П. Диагностическая значимость клинических и инструментальных показателей при ожирении у детей и подростков. *Перм. мед. ж.* 2013;30(4):67–73.

Akhmedova R.M., Sofronova L.V., Koryukina I.P. Diagnostic significance of clinical and instrumental indices in children and adolescent obesity. *Permskiy meditsinskiy zhurnal = Perm Medical Journal.* 2013;30(4):67–73. [In Russian].

13. Петеркова В.А., Безлепкина О.Б., Болотова Н.В., Богова Е.А., Васюкова О.В., Гирш Я.В., Кияев А.В., Кострова И.Б., Малиевский О.А., Михайлова Е.Г., … Храмова Е.Б. Клинические рекомендации «Ожирение у детей». *Пробл. эндокринол*. 2021;67(5):67–83. doi: 10.14341/probl12802

Peterkova V.A., Bezlepkina O.B., Bolotova N.V., Bogova E.A., Vasyukova O.V., Girsh Ya.V., Kiyaev A.V., Kostrova I.B., Malievskii O.A., Mikhailova E.G., … Khramova E.B. Clinical guidelines "Obesity in children". *Problemy endocrinologii = Problems of Endocrinology.* 2021;67(5):67–83. [In Russian]. doi: 10.14341/probl12802

14. Gonzalez A., Simon F., Achiardi O., Vilos C., Cabrera D., Cabello-Verrugio C. The critical role of oxidative stress in sarcopenic obesity. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2021;2021:4493817. doi: 10.1155/2021/4493817

15. Болезни жировой ткани. Ред. И.И. Дедов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 224 с.

Diseases of adipose tissue. Ed. I.I. Dedov. Moscow: GEOTAR-Media, 2020. 224 p. [In Russian].

16. D'Alessandro A., di Felice G., Manco M., Pastore A., Pezzi S., Mariani M., Fintini D., Onetti Muda A., Porzio O. Study of the association between thiols and oxidative stress markers in children with obesity. *Nutrients.* 2022;14(17):3637. doi: 10.3390/nu14173637

17. Jakubiak G.K., Osadnik K., Lejawa M., Kasperczyk S., Osadnik T., Pawlas N. Oxidative stress in association with metabolic health and obesity in young adults. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2021;2021:9987352. doi: 10.1155/2021/9987352

18. Manna P., Jain S.K. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. *Metab. Syndr. Relat. Disord*. 2015;13(10):423–444. doi: 10.1089/met.2015.0095

19. Szewczyk-Golec K., Rajewski P., Gackowski M., Mila-Kierzenkowska C., Wesołowski R., Sutkowy P., Pawłowska M., Woźniak A. Melatonin supplementation lowers oxidative stress and regulates adipokines in obese patients on a calorie-restricted diet. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017;8494107. doi: 10.1155/2017/8494107

20. Alcalá M., Calderon-Dominguez M., Bustos E., Ramos P., Casals N., Serra D., Viana M., Herrero L. Increased inflammation, oxidative stress and mitochondrial respiration in brown adipose tissue from obese mice. *Sci. Rep.* 2017;7(1):16082. doi: 10.1038/s41598-017-16463-6

21. Аметов А.С. Ожирение. Современный взгляд на патогенез и терапию. Т. 3. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. 184 с.

Ametov A.S. Obesity. Modern view on pathogenesis and therapy. V. 3. Moscow: GEOTAR-Media, 2022. 184 p. [In Russian].

22. Цейликман В.Э., Лукин А.А. Влияние окислительного стресса на организм человека. *Междунар. научно-исслед. ж.* 2022;(3-1):206–211. doi: 10.23670/IRJ.2022.117.3.037

Tseilikman V.E., Lukin A.A. On the effect of oxidative stress on the human body. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal = International Research Journal*. 2022;(3-1):206–211. [In Russian]. doi: 10.23670/IRJ.2022.117.3.037

23. Arshad F., Umbreen H., Aslam I., Hameed A., Aftab K., Al-Qahtani W.H., Aslam N., Noreen R. Therapeutic role of mango peels in management of dyslipidemia and oxidative stress in obese females. *Biomed. Res.* 2021;3094571. doi: 10.1155/2021/3094571

24. 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

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

25. Никитина О.А., Даренская М.А., Рычкова Л.В., Семенова Н.В., Лесная А.С., Прохорова Ж.В., Колесникова Л.И. Антиоксидантный статус у подростков при идиопатическом ожирении. *Соврем. пробл. науки и образ.* 2023;(5):39. doi: 10.17513/spno.33006

Nikitina O.A., Darenskaya M.A., Rychkova L.V., Semenova N.V., Lesnaya A.S., Prokhorova Zh.V., Kolesnikova L.I. Antioxidant status in adolescents with idiopathic obesity. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education.* 2023;(5):39. doi: 10.17513/spno.33006

26. Колесникова Л.И., Рычкова Л.В., Колесников С.И., Даренская М.А., Гаврилова О.А., Кравцова О.В., Гребенкина Л.А., Осипова Е.В. Оценка системы липопероксидации и антиоксидантной защиты у мальчиков-подростков с экзогенно-конституциональным ожирением с использованием коэффициента окислительного стресса. *Вопр. питания.* 2018;87(1):28–34. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10003

Kolesnikova L.I., Rychkova L.V., Kolesnikov S.I., Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Kravtsova O.V., Grebenkina L.A., Osipova E.V. The evaluation of the lipid peroxidation system and antioxidant defense in adolescent boys with exogenously constitutive obesity with using the coefficient of oxidative stress. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2018;87(1):28–34. [In Russian]. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10003

27. 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. *Сиб. науч. мед. ж.* 2022;42(5):25–36. doi: 10.18699/SSMJ20220504

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. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2022;42(5):25–36. doi: 10.18699/SSMJ20220504

28. Прокудина Е.С., Маслов Л.Н., Иванов В.В., Беспалова И.Д., Письменный Д.С., Воронков Н.С. Роль активных форм кислорода в патогенезе дисфункции адипоцитов при метаболическом синдроме: перспективы фармакологической коррекции. *Вестн. РАМН*. 2017;72(1):11–16. doi: 10.15690/vramn798

Prokudina E.S., Maslov L.N., Ivanov V.V., Bespalova I.D., Pismennyi D.S., Voronkov N.S. The role of reactive oxygen species in the pathogenesis of adipocyte dysfunction in metabolic syndrome. prospects of pharmacological correction. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2017;72(1):11–16. [In Russian]. doi: 10.15690/vramn798

29. Метаболический синдром. Ред. А.В. Шабров. СПб.: СПбГПМУ, 2020. 496 с.

Metabolic syndrome. Ed. A.V. Shabrov. Saint-Petersburg, 2020. 496 p. [In Russian].

30. Лудан В.В., Польская Л.В. Роль антиоксидантов в жизнедеятельности организма. *Тавр. мед.-биол. вестн.* 2019;22(3):86–92.

Ludan V.V., Pol'skaya L.V. The role of antioxidants in the vital activity. *Tavricheskiy medico-biologicheskiy vestnik = Tauric Medico-Biological Bulletin*. 2019;22(3):86–92. [In Russian].

31. Даренская М.А., Гаврилова О.А., Гребенкина Л.А., Кравцова О.В., Натяганова Л.В. Состояние процессов липопероксидации у мальчиков-подростков с ожирением. *Acta Biomed. Sci.* 2017;2(5-2):28–32. doi: 10.12737/article_5a3a0d764250a4.87243362

Darenskaya M.A., Gavrilova O.A., Grebenkina L.A., Kravtsova O.V., Natyaganova L.V. The state of lipoperoxidation processes in boys with obesity. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017;2(5-2):28–32. [In Russian]. doi: 10.12737/article_5a3a0d764250a4.87243362

32. Jiang J.T., Jiang Y.J. The influence of palatable high-energy diet in diet-induced obesity pregnant rats on offspring oxidative stress in liver. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci*. 2018;22(8):2468–2476. doi: 10.26355/eurrev_201804_14841

33. Шарапова Н.В., Карманова Д.С., Петрова А.А., Судакова Э.А., Глушихина Е.И., Зобкова Н.В., Красиков С.И. Обесогенные и метаболические эффекты незначительного повышения калорийности пищевого рациона в эксперименте. *Оренбург. мед. вестн.* 2021;9(2):72–76.

Sharapova N.V., Karmanova D.S., Petrova A.A., Sudakova E.A., Glushikhina E.I., Zobkova N.V., Krasikov S.I. Obesogennic and metabolic effects of slight increase in calorie content of food diet in experiment. *Orenburgskiy meditsinskiy vestnik = Orenburg Medical Bulletin.* 2021;9(2):72–76. [In Russian].

34. Farhangi M.A., Nameni G., Hajiluian G., Mesgari-Abbasi M. Cardiac tissue oxidative stress and inflammation after vitamin D administrations in high fat- diet induced obese rats. *BMC Cardiovasc. Disord*. 2017;17(1):161. doi: 10.1186/s12872-017-0597-z

35. de Oliveira Marques S., Muller A.P., Luciano T.F., dos Santos Tramontin N., da Silva Caetano M., Luis da Silva Pieri B., Amorim T.L., de Oliveira M.A.L., de Souza C.T. Effects of avocado oil supplementation on insulin sensitivity, cognition, and inflammatory and oxidative stress markers in different tissues of diet-induced obese mice. *Nutrients.* 2022;14(14):2906. doi: 10.3390/nu14142906

36. Nayan S.I., Chowdhury F.I., Akter N., Rahman M.M., Selim S., Saffoon N., Khan F., Subhan N., Hossain M., Ahmed K.S., … Alam M.A. Leaf powder supplementation of Senna alexandrina ameliorates oxidative stress, inflammation, and hepatic steatosis in high-fat diet-fed obese rats. *PLoS One.* 2021;16(4):e0250261. doi: 10.1371/journal.pone.0250261

37. Rahman M.M., Alam M.N., Ulla A., Sumi F.A., Subhan N., Khan T., Sikder B., Hossain H., Reza H.M., Alam M.A. Cardamom powder supplementation prevents obesity, improves glucose intolerance, inflammation and oxidative stress in liver of high carbohydrate high fat diet induced obese rats. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):151. doi: 10.1186/s12944-017-0539-x

38. Yi X., Tang D., Cao S., Li T., Gao H., Ma T., Yao T., Li J., Chang B. Effect of different exercise loads on testicular oxidative stress and reproductive function in obese male mice. *Oxid. Med. Cell. Longev*. 2020;2020:3071658. doi: 10.1155/2020/3071658

39. Brombach C., Tong W., Giussani D.A. Maternal obesity: new placental paradigms unfolded. *Trends Mol. Med.* 2022;28(10):823–835. doi: 10.1016/j.molmed.2022.05.013

40. Hernández-Trejo M., Montoya-Estrada A., Torres-Ramos Y., Espejel-Núñez A., Guzmán-Grenfell A., Morales-Hernández R., Tolentino-Dolores M., Laresgoiti-Servitje E. Oxidative stress biomarkers and their relationship with cytokine concentrations in overweight/obese pregnant women and their neonates. *BMC Immunol.* 2017;18(1):3. doi: 10.1186/s12865-016-0184-6

41. Аметов А.С. Ожирение. Современный взгляд на патогенез и терапию. Т. 4. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. 208 с.

Ametov A.S. Obesity. Modern view on pathogenesis and therapy. V. 4. Moscow: GEOTAR-Media, 2022. 208 p. [In Russian].

42. Gallardo J.M., Gómez-López J., Medina-Bravo P., Juárez-Sánchez F., Contreras-Ramos A., Galicia-Esquivel M., Sánchez-Urbina R., Klünder-Klünder M. Maternal obesity increases oxidative stress in the newborn. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23(8):1650–1654. doi: 10.1002/oby.21159

43. Ballesteros-Guzmán A.K., Carrasco-Legleu C.E., Levario-Carrillo M., Chávez-Corral D.V., Sánchez-Ramírez B., Mariñelarena-Carrillo E.O., Guerrero-Salgado F., Reza-López S.A. Prepregnancy obesity, maternal dietary intake, and oxidative stress biomarkers in the fetomaternal unit. *Biomed. Res. Int.* 2019;2019:5070453. doi: 10.1155/2019/5070453

44. Lopez-Yañez Blanco A., Díaz-López K.M., Vilchis-Gil J., Diaz-Garcia H., Gomez-Lopez J., Medina-Bravo P., Granados-Riveron J.T., Gallardo J.M., Klünder-Klünder M., Sánchez-Urbina R. Diet and maternal obesity are associated with Increased oxidative stress in newborns: a cross-sectional study. *Nutrients.* 2022;14(4):746. doi: 10.3390/nu14040746

45. Nasui B.A., Talaba P., Nasui G.A., Sirbu D.M., Borda I.M., Pop A.L., Ciortea V.M., Irsay L., Purcar-Popescu A.I., Cinteza D., … Ungur R.A. The influence of diet and physical activity on oxidative stress in romanian females with osteoarthritis. *Nutrients.* 2022;14(19):4159. doi: 10.3390/nu14194159

46. Masenga S.K., Kabwe L.S., Chakulya M., Kirabo A. Mechanisms of oxidative stress in metabolic syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(9):7898. doi: 10.3390/ijms24097898

47. Lara-Guzmán Ó.J., Rivera D.A., Corrales-Agudelo V., Salazar-Jaramillo L., Gil-Izquierdo Á., Medina S., Oger C., Durand T., Galano J.M., Escobar J.S., Muñoz-Durango K., Sierra J.A. Dietary antioxidant intake is inversely associated with 2,3-dinor oxylipin metabolites, the major excreted oxylipins in overweight and obese subjects. *Free Radic. Biol. Med*. 2022;190:42–54. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.07.023

48. Романенко И.А., Полятыкина Т.С., Маврычева Н.В., Будникова Н.В., Гринштейн В.Б. Динамика метаболических показателей, маркеров окислительного стресса и повреждения сосудистой стенки при лечении больных с ожирением и предиабетом. *Клин. мед*. 2016;94(3):221–224. doi: 10.18821/0023-2149-2016-94-3-221-224

Romanenko I.A., Polyatykina T.S., Mavrycheva N.V., Budnikova N.V., Grinshtein V.B. Dynamics of metabolic characteristics, markers of oxidative stress and vascular wall damage during treatment of obese prediabetic patients. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*. 2016;94(3):221–224. [In Russian]. doi: 10.18821/0023-2149-2016-94-3-221-224

49. Selvaraju V., Ayine P., Fadamiro M., Babu J.R., Brown M., Geetha T. Urinary biomarkers of inflammation and oxidative stress are elevated in obese children and correlate with a marker of endothelial dysfunction. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019;2019:9604740. doi: 10.1155/2019/9604740

50. Lechuga-Sancho A.M., Gallego-Andujar D., Ruiz-Ocaña P., Visiedo F.M., Saez-Benito A., Schwarz M., Segundo C., Mateos R.M. Obesity induced alterations in redox homeostasis and oxidative stress are present from an early age. *PLoS One.* 2018;13(1):e0191547. doi: 10.1371/journal.pone.0191547

51. Бекезин В.В., Факих И.М., Пересецкая О.В., Отрохова Е.В. Влияние оксидативного стресса на структурно-функциональное состояние общей сонной артерии (по данным ультразвуковой допплерографии) у детей подросткового возраста

с ожирением и артериальной гипертензией. *Мед. альм*. 2013;(3):127–129.

Bekezin V.V., Fakikh I.M., Peresetskaya O.V., Otrokhova E.V. The influence of oxidative stress on the structural-functional condition of common carotid artery (according to the data of ultrasonic doppler examination) of teenagers with obesity and arterial hypertension. *Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac*. 2013;(3):127–129. [In Russian].

52. Бекезин В.В., Королева А.Е. Оксидативный статус и витамин D у детей с аллергическим ринитом в зависимости от жировой массы тела. *Биорадикалы и антиоксиданты.* 2021;8(2):64–67.

Bekezin V.V., Koroleva A.E. Oxidative status and vitamin D in children with allergic rhinitis depending on body fat mass. *Bioradikaly i antioksidanty = Bioradicals and Antioxidants*. 2021;8(2):64–67. [In Russian].

53. Бекезин В.В., Пересецкая О.В. Состояние оксидативного статуса у детей подросткового возраста с нормальным индексом массы тела в зависимости от состава тела по данным биоимпедансометрии. *Биорадикалы и антиоксиданты*. 2018;5(3):103–106.

Bekezin V.V., Peresetskaya O.V. The state of oxidative status in adolescent children with a normal body mass index depending on body composition according to bioimpedance measurements. *Bioradikaly i antioksidanty = Bioradicals and Antioxidants*. 2018;5(3):103–106. [In Russian].

54. Jia X.J., Liu L.X, Tian Y.M., Wang R., Lu Q. The correlation between oxidative stress level and intra-abdominal fat in obese males. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(7):e14469. doi: 10.1097/md.0000000000014469

55. Kargar B., Zamanian Z., Hosseinabadi M.B., Gharibi V., Moradi M.S., Cousins R. Understanding the role of oxidative stress in the incidence of metabolic syndrome and obstructive sleep apnea. *BMC Endocr. Disord.* 2021;21(1):77. doi: 10.1186/s12902-021-00735-4

56. Kupczyk D., Bilski R., Sokołowski K., Pawłowska M., Woźniak A., Szewczyk-Golec K. Paraoxonase 1: the lectin-like oxidized LDL receptor type I and oxidative stress in the blood of men with type II obesity. *Dis. Markers.* 2019;2019:6178017. doi: 10.1155/2019/6178017

57. Uçkan K., Demir H., Turan K., Sarıkaya E., Demir C. Role of oxidative stress in obese and nonobese PCOS patients. *Int. J. Clin. Pract.* 2022;2022:4579831. doi: 10.1155/2022/4579831

58. Nederveen J.P., Mastrolonardo A.J, Xhuti D., Di Carlo A., Manta K., Fuda M.R., Tarnopolsky M.A. Novel multi-ingredient supplement facilitates weight loss and improves body composition in overweight and obese individuals: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Nutrients*. 2023;15(17):3693. doi: 10.3390/nu15173693

59. Ruiz-García I., Ortíz-Flores R., Badía R., García-Borrego A., García-Fernández M., Lara E., Martín-Montañez E., García-Serrano S., Valdés S., Gonzalo M., … Bermúdez-Silva F.J. Rich oleocanthal and oleacein extra virgin olive oil and inflammatory and antioxidant status in people with obesity and prediabetes. The APRIL study: A randomised, controlled crossover study. *Clin. Nutr*. 2023;42(8):1389–1398. doi: 10.1016/j.clnu.2023.06.027

60. Nikrad N., Farhangi M.A., Fard Tabrizi F.P., Vaezi M., Mahmoudpour A., Mesgari-Abbasi M. The effect of calorie-restriction along with thylakoid membranes of spinach on the gut-brain axis pathway and oxidative stress biomarkers in obese women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J. Ovarian. Res*. 2023;16(1):216. doi: 10.1186/s13048-023-01288-x

61. Sangaleti C.T., Katayama K.Y., de Angelis K., Lemos de Moraes T., Araújo A.A., Lopes H.F., Camacho C., Bortolotto L.A., Michelini L.C., Irigoyen M.C., … Consolim Colombo F.M. The cholinergic drug galantamine alleviates oxidative stress alongside anti-inflammatory and cardio-metabolic effects in subjects with the metabolic syndrome in a randomized trial. *Front. Immunol*. 2021;12:613979. doi: 10.3389/fimmu.2021.613979

62. Oben J.E., Enyegue D.M., Fomekong G.I., Soukontoua Y.B., Agbor G.A. The effect of *Cissus quadrangularis* (CQR-300) and a *Cissus* formulation (CORE) on obesity and obesity-induced oxidative stress. *Lipids Health Dis*. 2007;6:4. doi: 10.1186/1476-511X-6-4

63. Murer S.B., Aeberli I., Braegger C.P., Gittermann M., Hersberger M., Leonard S.W., Taylor A.W., Traber M.G., Zimmermann M.B. Antioxidant supplements reduced oxidative stress and stabilized liver function tests but did not reduce inflammation in a randomized controlled trial in obese children and adolescents. *J. Nutr.* 2014;144(2):193–201. doi: 10.3945/jn.113.185561

64. Block G., Jensen C.D., Morrow J.D., Holland N., Norkus E.P., Milne G.L., Hudes M., Dalvi T.B., Crawford P.B., Fung E.B., Schumacher L., Harmatz P. The effect of vitamins C and E on biomarkers of oxidative stress depends on baseline level. *Free Radic. Biol. Med*. 2008;45(4):377–384. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.04.005

65. Sutherland W.H., Manning P.J., Walker R.J., de Jong S.A., Ryalls A.R., Berry E.A. Vitamin E supplementation and plasma 8-isoprostane and adiponectin in overweight subjects. *Obesity (Silver Spring).* 2007;15(2):386–391. doi: 10.1038/oby.2007.546

Сведения об авторах:

Силизерцева Олеся Александровна, ORCID: 0009-0005-8469-535X, e-mail: silolesya@mail.ru
Даренская Марина Александровна, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0003-3255-2013, e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru
Рычкова Любовь Владимировна, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-0117-2563, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru
Гутник Игорь Нэрисович, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0003-2701-9089, e-mail: gutnikigor@mail.ru
Астахова Татьяна Александровна: к.м.н., ORCID: 0000-0003-1427-4734, e-mail: tatjana_astahova@mail.ru
Колесникова Любовь Ильинична, д.м.н., акад. РАН, ORCID: 0000-0003-3354-2992, e-mail: kolesnikova20121@mail.ru

Information about the authors:

Olesya A. Silizertseva, ORCID: 0009-0005-8469-535X, e-mail: silolesya@mail.ru
Marina A. Darenskaya, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0003-3255-2013, e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru
Lyubov V. Rychkova, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of the RAS, ORCID: 0000-0002-0117- 2563, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru
Igor N. Gutnik, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0003-2701-9089, e-mail: gutnikigor@mail.ru
Tatyana A. Astakhova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-1427-4734, e-mail: tatjana_astahova@mail.ru
Lyubov I. Kolesnikova, doctor of medical sciences, academician of the RAS, ORCID: 0000-0003-3354-2992, e-mail: kolesnikova20121@mail.ru

Поступила в редакцию 18.04 2024
После доработки 11.09.2024
Принята к публикации 03.11.2024

Received 18.04 2024
Revision received 11.09.2024
Accepted 03.11.2024

УДК 615.011.4 DOI: 10.18699/SSMJ20240608
Обзор литературы / Review article

Особенности биораспределения наночастиц золота *in vivo*

Ю.А. Финогенова[1], А.А. Липенгольц[1, 2], В.А. Скрибицкий[1, 2], К.Е. Шпакова[1, 2], А.В. Смирнова[1, 3], Н.Н. Сычева[2], Е.Ю. Григорьева[1]

[1] Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина
115522, г. Москва, Каширское шоссе, 23
[2] Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»
115409, г. Москва, Каширское шоссе, 31
[3] Московский Клинический научный центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы
111123, г. Москва, шоссе Энтузиастов, 86

Резюме

Наночастицы золота обладают уникальными физическими, химическими и оптическими свойствами, благодаря чему на их основе разрабатывают перспективные лекарственные средства: радиосенсибилизаторы, рентгеноконтрастные препараты, агенты для фототермической терапии, лекарственные средства направленной доставки. При этом в каждом случае выбор параметров наночастиц обусловлен не только областью применения, но и характером биораспределения в живом организме: длительностью циркуляции в кровотоке и способностью накапливаться в целевых органах и тканях, включая опухоль. Для этого наночастицы должны избегать фагоцитоза макрофагами печени. Целью данного обзора послужила систематизация информации о влиянии параметров наночастиц золота на их фармакокинетические свойства и биораспределение в организме мелких лабораторных животных, как интактных, так и с трансплантированной опухолью. Рассмотрены такие параметры наночастиц, как размер, стабилизирующее покрытие, форма. Наночастицы меньшего размера, как правило, дольше циркулируют в кровотоке и медленнее накапливаются в печени животного. Для защиты от агрегации, опсонизации и фагоцитоза используют различные варианты покрытия наночастиц, например, цитрат, бычий сывороточный альбумин или полиэтиленгликоль. Влияние формы наночастиц на биораспределение до сих пор недостаточно изучено; предположительно, она имеет меньшее значение, чем размер и покрытие. В целом имеющиеся данные указывают на то, что оптимальными фармакокинетическими свойствами для биомедицинского применения обладают наночастицы золота с диаметром до 50 нм, имеющие экранирующее полимерное покрытие.

Ключевые слова: наночастицы золота, биораспределение, контрастные средства, радиосенсибилизаторы, опухоль, лабораторные животные, экспериментальная онкология.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00446.
Автор для переписки: Финогенова Ю.А., e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru
Для цитирования: Финогенова Ю.А., Липенгольц А.А., Скрибицкий В.А., Шпакова К.Е., Смирнова А.В., Сычева Н.Н., Григорьева Е.Ю. Особенности биораспределения наночастиц золота *in vivo. Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):83–96. doi: 10.18699/SSMJ20240608

Biodistribution of gold nanoparticles *in vivo*

Yu.A. Finogenova[1], A.A. Lipengolts[1, 2], V.A. Skribitsky[1, 2], K.E. Shpakova[1, 2], A.V. Smirnova[1, 3], N.N. Sycheva[2], E.Yu. Grigorieva[1]

[1] N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
115522, Moscow, Kashirskoe highw., 23
[2] National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute)
115409, Moscow, Kashirskoe hwy., 31
[3] Moscow Clinical Scientific Center named after Loginov MHD
111123, Moscow, Entuziastov hwy., 86

Abstract

Gold nanoparticles have unique physical, chemical and optical properties, due to which they are used to develop promising drugs: radiosensitisers, X-ray contrast media, agents for photothermal therapy, drugs for targeted delivery. In each case, the choice of nanoparticle parameters is determined not only by the field of application, but also by the biodistribution in the living organism: blood circulation time and accumulation in target organs and tissues, including the tumor. For long blood circulation, nanoparticles should avoid phagocytosis by liver macrophages. The aim of this review was to systematise information on the influence of gold nanoparticle parameters on their pharmacokinetic properties and biodistribution in intact and tumor-bearing small laboratory animals. Size, shape and stabilising coating were considered. Smaller nanoparticles tend to circulate longer in the bloodstream and accumulate more slowly in the liver. Various coatings such as citrate, bovine serum albumin or polyethylene glycol are used to protect nanoparticles against aggregation, opsonisation and phagocytosis. The influence of nanoparticle shape on biodistribution is not completely understood; presumably, it is less important than size and coating. In general, the available data indicate that gold nanoparticles with a diameter of up to 50 nm with a polymer coating have optimal pharmacokinetic properties for biomedical application.

Key words: gold nanoparticles, biodistribution, contrast agents, radiosensitizers, tumor, laboratory animals, experimental oncology.

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

Financing. The study was funded by Russian Science Foundation project No 24-25-00446.

Correspondence author: Finogenova Yu.A., e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru

Citation: Finogenova Yu.A., Lipengolts A.A., Skribitsky V.A., Shpakova K.E., Smirnova A.V., Sycheva N.N., Grigorieva E.Yu. Biodistribution of gold nanoparticles *in vivo. Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):83–96. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240608

Введение

Наночастицы золота широко используются в современных биомедицинских исследованиях благодаря своим уникальным физическим, химическим и оптическим свойствам. В различных областях экспериментальной онкологии они выступают в качестве агентов для фототермической терапии, радиосенсибилизаторов для лучевой терапии, рентгеноконтрастных веществ, платформ для направленной доставки лекарственных средств [1, 2]. При этом для успешного терапевтического применения наночастицы должны не только накапливаться в злокачественных новообразованиях в более высокой концентрации по сравнению с нормальными тканями, но и удерживаться в течение достаточно длительного времени. Это ставит перед исследователями задачу изучения динамики их накопления в опухолях различной природы и локализации. Кроме того, необходима информация о биораспределении наночастиц во внутренних органах и длительности удержания в них, а также о возможных путях экскреции из организма.

Основными параметрами, определяющими фармакокинетику и биораспределение наночастиц золота, являются размер, форма, свойства стабилизирующего покрытия, заряд поверхности, наличие в структуре таргетных (нацеливающих) агентов. Оптимальное сочетание данных параметров зависит от цели биомедицинского применения. Например, в случае создания агентов для фототермической терапии выбор размера и формы определяется эффективностью поглощения лазерного излучения определенной длины волны. При этом с точки зрения биораспределения приходится идти на компромисс. Радиосенсибилизирующими свойствами обладают любые наночастицы золота. Единственное требование – успешное накопление в экспериментальной опухоли и удержание в течение времени, достаточного для проведения внешнего терапевтического облучения. Поэтому в многочисленных исследованиях *in vivo* в качестве потенциальных радиосенсибилизаторов рассматривались наночастицы различного размера, в диапазоне от 1 до 200 нм, и различной формы, иногда весьма причудливой.

Для большинства наночастиц характерно более или менее избирательное накопление в опухолевой ткани, которое определяется совокупностью механизмов под общим названием «усиленное проникновение и удержание» (enhanced permeation and retention, EPR). Согласно классическим представлениям, EPR-эффект обусловлен повышенной проницаемостью опухолевых сосудов, высоким уровнем васкуляризации опухолей и нарушением лимфооттока [3]. Вследствие локального повышения давления наночастицы проходят через множественные поры в стенках капилляров, выходят в опухолевую ткань и задерживаются в ней.

Впоследствии, на этапе клинических исследований наноразмерных лекарственных средств, обнаружена гетерогенность степени выраженности EPR-эффекта в опухолях различных типов: в некоторых он наблюдался, а в других – нет [4, 5]. Это привело к необходимости уточнить и частично пересмотреть факторы EPR-эффекта. Помимо транспорта наночастиц сквозь поры в стенках капилляров, показан значительный вклад активного эндоцитоза и трансцитоза клетками эндотелия [6]. Доказана роль опухоль-ассоциированных макрофагов и дендритных клеток в захвате наночастиц [7]. Предложены способы локального расширения опухолевых сосудов с целью повышения эффективности доставки наночастиц в злокачественные новообразования [8]. В целом EPR-эффект оказался сложным и комплексным явлением, изучение которого продолжается и в настоящее время. Выявленная гетерогенность проявления EPR-эффекта требует использования широкого спектра разнообразных опухолевых моделей для изучения динамики накопления наночастиц как в подкожных, так и ортотопических опухолях различной гистологической природы.

Накопление наночастиц в модельной опухоли нельзя рассматривать в отрыве от биораспределения в целом организме, поскольку в ситуации *in vivo* захват наночастиц опухолью и здоровыми внутренними органами – это конкурирующие процессы. Биораспределение существенно различается в зависимости от пути введения: ингаляционный приводит к задержке наночастиц в легких [9], пероральный – в органах желудочно-кишечного тракта [10]. Однако чаще всего в биомедицинских исследованиях применяется внутривенный путь введения.

Биораспределение наночастиц золота после внутривенной инъекции лабораторным животным может существенно различаться, однако общим правилом остается преимущественное накопление в печени. Главная роль в этом процессе принадлежит не гепатоцитам, а клеткам Купфера – резидентным макрофагам печени. При прохождении через синусоидные капилляры печени наночастицы фагоцитируются клетками Купфера и при электронной микроскопии визуализируются в лизосомах. Именно этот процесс определяет основной путь элиминации наночастиц из кровотока [11]. Помимо клеток Купфера, в удалении наночастиц могут участвовать макрофаги селезенки, костного мозга и циркулирующие в крови моноциты [12].

При внутривенном введении на биораспределение наночастиц в значительной мере влияет формирование так называемой белковой короны. Она состоит из белков плазмы крови, которые адсорбируются на поверхности за счет электростатических, гидрофобных и ван-дер-ваальсовых сил. В белковую корону могут входить белки, как усиливающие (опсонины), так и подавляющие фагоцитоз (дезопсонины). К опсонинам, в частности, относятся компоненты системы комплемента, иммуноглобулины и фибронектин, а к дезопсонинам – альбумин, фибриноген и аполипопротеины. Конкретный состав короны зависит от концентрации различных белков в плазме крови и времени экспозиции, а также физико-химических параметров самих наночастиц [12].

Для успешного накопления в опухоли наночастицы должны достаточно длительно циркулировать в кровотоке. До настоящего времени не определена зависимость между временем полувыведения из крови и достижимой концентрацией золота в опухоли, но в целом ее наличие считается достаточно обоснованным. Каждый раз при прохождении порции крови через кровеносные сосуды, питающие опухоль, с определенной вероятностью некоторое число наночастиц выйдет за пределы кровеносного русла и проникнет в опухолевую ткань. Когда в крови наночастиц уже не осталось, то и накопление золота в опухоли прекращается.

Поскольку основной путь элиминации из кровотока – фагоцитоз макрофагами, с целью увеличения продолжительности циркуляции необходимо ингибировать данный процесс. Для этого используют частицы меньшего размера, применяют специальное экранирующее покрытие, изменяют заряд поверхности. Но, к сожалению, не всегда снижение фагоцитоза *in vitro* приводит к значимому изменению биораспределения *in vivo*. До настоящего времени неизвестны способы полностью избежать накопления наночастиц в печени. Можно лишь замедлить его, отодвинуть на несколько часов или даже суток, но в конечном итоге все равно бóльшая часть наночастиц будет захвачена печенью. Попытки радикально изменить это на данный момент не привели к какому-либо приемлемому решению [13]. Тем не менее путем подбора наночастиц с оптимальным набором параметров можно удлинить время их циркуляции в кровотоке настолько, что концентрация золота в опухолевой ткани достигнет значения, достаточного для определенного вида терапии. Снизить захват здоровыми внутренними органами, пролонгировать время циркуляции в кровотоке и увеличить эффективность накопления в опухоли – задачи, для решения которых нужны выбор и модификация параметров наночастиц.

Целью данного обзора была систематизация информации о влиянии параметров наночастиц на особенности биораспределения *in vivo*. Для

достижения цели был выполнен поиск литературы в базах данных Google Scholar, eLIBRARY.ru, PubMed по ключевым словам «наночастицы золота + размер», «наночастицы золота + покрытие», «наночастицы золота + форма», «наночастицы золота + биораспределение», «усиленное проникновение и удержание», «EPR-эффект», «пассивное нацеливание», «активное нацеливание» (gold nanoparticles size, gold nanoparticles coating, gold nanoparticles shape, gold nanoparticles biodistribution, enhanced permeation and retention, EPR-effect, passive targeting, active targeting). Отобраны экспериментальные статьи и литературные обзоры, опубликованные с 2014 по 2024 г. Кроме того, в отдельных разделах упоминаются классические экспериментальные статьи 2008–2014 гг. в тех случаях, когда это необходимо для понимания ключевых выводов раздела.

Влияние размера наночастиц на биораспределение

В настоящий момент в отечественной и зарубежной литературе существует расхождение по вопросу о том, какого размера объекты можно называть наночастицами. В литературных источниках наночастица определяется как объект, имеющий размеры от 1 до 100 нм во всех измерениях [14]. Однако во многих исследованиях *in vitro* и *in vivo* используют наночастицы золота с диаметром 150–180 нм. По-видимому, в случае биомедицинского применения следует рассматривать наночастицы золота в диапазоне размеров от 1 до 200 нм. Наночастицы крупнее 200 нм используются крайне редко.

Взаимодействие с клетками наночастиц разного размера было детально исследовано *in vitro*. В работе [15] сферические наночастицы с диаметром 14, 30, 50, 74 и 100 нм инкубировали с клетками линии HeLa в среде с добавлением сыворотки. Частицы были покрыты цитратом, а добавление сыворотки обеспечивало формирование белковой короны. Полученная в результате зависимость интенсивности эндоцитоза от размера частиц была не линейной, а колоколообразной: клетки наиболее активно поглощали частицы с диаметром 50 нм, а частицы большего и меньшего размера – менее активно. Максимальное число наночастиц на одну клетку достигло: для 50 нм – 6160 шт., для 14 нм – 3000 шт., для 74 нм – 2988 шт. Однако в другой работе *in vitro* получены несколько отличающиеся результаты [16]. Поскольку в макроорганизме элиминация наночастиц происходит преимущественно клетками иммунной системы, авторы в качестве объекта исследования выбрали макрофаги мыши J774A.1 и варьировали не только размер, но и покрытие наночастиц. В случае использования наночастиц без покрытия значимых отличий в интенсивности эндоцитоза не было выявлено. В случае же покрытия частиц полиэтиленгликолем (ПЭГ) зависимость была прямо пропорциональной: наиболее интенсивно захватывались наночастицы с размером 90 нм, наименее – 15 и 30 нм, частицы размером 60 нм занимали промежуточное положение.

Хотя результаты, полученные *in vitro*, нельзя прямо переносить на поведение наночастиц *in vivo*, известно, что после внутривенного введения они преимущественно накапливаются в печени за счет фагоцитоза резидентными макрофагами. Отчасти этим объясняется более активное накопление в печени животных крупных наночастиц. Например, в работе [17] исследовали биораспределение наночастиц золота с размером 6, 24, 43 или 61 нм после внутривенной инъекции здоровым мышам. Во все временные точки, от 4 ч до 90 сут, накопление наночастиц в печени коррелировало с их диаметром: наибольшим оно было для частиц размером 61 нм, наименьшим – для частиц размером 6 нм; через 24 ч после инъекции их концентрация в печени равнялась соответственно ~55 и ~6 % ID/г (процент введенной дозы на грамм ткани).

Активный фагоцитоз наночастиц происходит и в других органах, содержащих большое количество макрофагов. В частности, общим правилом является накопление их значительного количества в селезенке. В работе [18] наночастицы золота после внутривенного введения преимущественно накапливались в печени и селезенке мыши, по данным масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS), при этом для обоих органов захват наночастиц размером 50 нм был более интенсивным, чем частиц диаметром 20 и 5 нм. Наночастицы вводили в дозе 0,5 мг Au/кг веса тела мыши. Через 24 ч после инъекции наночастиц размером 5, 20 и 50 нм в печени определялось ~4500, ~5200 и ~9500 нг/г золота соответственно. В селезенке содержание золота было ниже: ~1200, ~900 и ~4300 нг/г для тех же размеров наночастиц. Для сравнения, максимальное содержание золота в легких достигало ~116 нг/г, а для других органов было еще ниже.

Группа W.-S. Cho et al. показала значительное накопление и удержание наночастиц золота размером 4, 13 и 100 нм не только в печени и селезенке, но и в мезентериальном лимфатическом узле здоровых мышей. Для наночастиц размером 13 нм концентрация золота в период с 7 сут по 3 мес. в лимфатическом узле и печени была сравнимой [19]. Но поскольку печень гораздо больше селезенки и, тем более, лимфатических узлов,

элиминация наночастиц из кровотока определяется преимущественно ею.

В целом длительность циркуляции наночастиц в кровотоке обратно пропорциональна накоплению золота в печени: чем они больше, тем интенсивнее накапливаются в печени и тем быстрее выводятся из кровотока и наоборот. Поскольку золото – рентгеноплотное вещество, за распределением наночастиц в организме животного можно прижизненно неинвазивно наблюдать с помощью компьютерной томографии (КТ) [20]. В работе [21] мышам вводили наночастицы различного размера, от 4 до 152 нм, а затем выполняли КТ через 5 мин, 30 мин, 1 ч и 2 ч. Мелкие частицы размером 4 и 15 нм продолжали циркулировать в кровотоке в течение 2 ч (на КТ отмечалось контрастирование камер сердца и кровеносных сосудов), крупные (79, 100 и 152 нм) уже через 30 мин в кровотоке отсутствовали, так как полностью захватывались печенью и селезенкой. Наночастицы размером 50 нм циркулировали в кровотоке в течение 1 ч, а затем быстро накапливались в селезенке и несколько медленнее – в печени.

Длительная циркуляция мелких наночастиц приводит к тому, что они в относительно большей концентрации накапливаются в различных внутренних органах. W.H. de Jong et al. показали, что частицы размером 10 нм определялись в легких, яичках и тимусе крыс в концентрации 0,1–0,4 % ID, по данным ICP-MS, в то время как для наночастиц размером 100 и 250 нм накопление в этих органах было менее 0,1 % ID [22]. В классической работе G. Sonavane наночастицы размером 15 нм выявлялись в легких, почках и желудке мыши в значительно большей концентрации, чем 50, 100 и 200 нм [23]. Таким образом, для более крупных наночастиц характерно интенсивное накопление практически исключительно в печени и селезенке, а для мелких – распределение в различных внутренних органах.

Отдельно следует рассмотреть вопрос о накоплении наночастиц золота в головном мозге. В ряде работ различными методами показано, что после внутривенного введения наночастиц золото в крайне малом количестве определяется в мозге здоровых животных [24]. Это заставляет предполагать наличие некоего механизма, позволяющего наночастицам проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [25]. Как и в других органах, в мозге интенсивнее накапливаются более мелкие наночастицы. Например, в работе [26] частицы размером 1,4 нм, меченные ^{198}Au, обнаруживались в головном мозге крыс в концентрации ~0,064 % ID/г через 24 ч после внутривенной инъекции. Для более крупных наночастиц, от 5 до 80 нм, концентрация в мозге была на порядок меньше.

При росте интракраниальных опухолей происходит повреждение ГЭБ, поэтому в них наночастицы различного размера могут накапливаться в значительной концентрации. Например, в исследовании [27] наночастицы золота размером 11 нм избирательно накапливались в ортотопической глиоме мышей Tu-2449, что подтверждалось полученными КТ-изображениями. По данным атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-AES), содержание золота в опухоли было в 18,8 раза больше, чем в здоровой ткани мозга. Избирательное накопление наночастиц золота вследствие повреждения ГЭБ позволяет использовать их как для диагностики, так и для терапии опухолей мозга [28, 29].

Как и в здоровых внутренних органах, в злокачественных новообразованиях любой локализации интенсивнее накапливаются наночастицы меньшего размера. Это связано, с одной стороны, с более длительным временем циркуляции в кровотоке, характерным для мелких наночастиц [30]. С другой стороны, мелкие частицы успешнее проникают сквозь стенку кровеносных капилляров и продвигаются глубже в опухолевую ткань [31]. Влияя на эффективность накопления в модельных опухолях, размер наночастиц определяет возможности их применения в экспериментальной онкологии. Например, в работе [32] в качестве радиосенсибилизаторов исследовали наночастицы размером 8, 50 или 187 нм. Препараты вводили внутривенно в дозировке 4 мг Au/кг мышам с подкожной карциномой H22 за 30 мин до терапевтического облучения в дозе 5 Гр. Через 19 сут торможение роста опухоли в группе «8 нм» составило 52 %, в группе «50 нм» – 58 %, а в группе «187 нм» динамика роста опухоли была такой же, как в контрольной облученной группе. Несмотря на то, что любые наночастицы золота обладают свойствами радиосенсибилизаторов, в эксперименте *in vivo* эти свойства проявили только частицы, размер которых позволил им накопиться в опухолевой ткани. В целом, сделанный авторами вывод подтверждается и в других работах: оптимальными фармакокинетическими свойствами *in vivo* обладают наночастицы с размером до 50 нм.

Наночастицы с гидродинамическим размером менее 5,5 нм проявляют уникальную способность проникать через поры гломерулярного фильтра почек и выводиться из организма с мочой. Почечная экскреция показана для наночастиц различного химического состава в экспериментах на мышах, крысах и приматах [33, 34]. Кроме того, и в клинических исследованиях наноразмерного

гадолинийсодержащего препарата AGuiX (размер частиц 4 нм) установлено, что наночастицы выводились с мочой из организма пациентов [35]. Наличие эффективного пути экскреции сокращает время удержания наночастиц в организме и снижает вероятность побочных эффектов.

Следует подчеркнуть, что пороговое значение 5,5 нм – это гидродинамический размер, который всегда больше, чем величина золотого ядра, поскольку он включает и стабилизирующее покрытие, и слой гидратации. Влияние гидродинамического размера иллюстрирует работа [36], в которой одинаковые наночастицы с величиной ядра около 1,5 нм покрывали в одном случае глутатионом (трипептид GSH, 307 Да), а в другом – бычьим сывороточным альбумином (БСА, ~69 кДа). Наночастицы, покрытые GSH, имели гидродинамический размер ~2,4 нм, покрытие БСА увеличивало его до ~6 нм. В течение 24 ч после внутрибрюшинной инъекции здоровым мышам в моче определялось суммарно 36 % ID наночастиц, покрытых GSH, и только 1 % ID – покрытых БСА. Через 28 сут после введения в организме мыши сохранялось 95 % ID наночастиц с БСА и только 6 % ID наночастиц с GSH. Таким образом, при одинаковом размере золотого ядра только наночастицы с гидродинамическим размером менее 5,5 нм эффективно выводились с мочой.

Хотя почечная экскреция, предположительно, снижает количество побочных эффектов от применения наночастиц в биомедицине, существует вопрос об эффективности их накопления в опухолевой ткани. Для более крупных наночастиц существует один основной путь элиминации из кровотока – фагоцитоз макрофагами печени, для мелких добавляется второй путь элиминации – выведение почками. Теоретически существование двух путей выведения может уменьшить время циркуляции наночастиц в кровотоке и снизить эффективность накопления в опухолях. Однако на практике в ряде исследований получены данные, свидетельствующие о том, что экскретируемые наночастицы имеют достаточное время циркуляции для самостоятельного накопления в опухолевой ткани. Например, в работе [37] при исследовании наночастиц, покрытых тиопронином, показано, что наночастицы с размером золотого ядра 2 нм дольше циркулировали в кровотоке мышей, чем более крупные (6 и 15 нм), а также успешнее накапливались в подкожной экспериментальной опухоли (ксенографт MCF-7S). Положительные результаты получила и группа X.-D. Zhang et al. в ряде экспериментов с золотыми нанокластерами с размером золотого ядра до 2 нм [38–40], которые не только интенсивно накапливались в подкожной модельной опухоли у мышей (карцинома шейки матки U14), но и демонстрировали свойства радиосенсибилизаторов. Однако в этих работах использовался интраперитонеальный путь введения препарата, что затрудняет сравнение результатов с полученными другими группами авторов. Следует отметить, что несмотря на малый размер экскретируемых наночастиц, они все равно постепенно захватываются макрофагами. После фагоцитоза покрытие наночастиц разрушается ферментами макрофагов, и наночастицы агрегируют друг с другом, вследствие чего размер частиц увеличивается, и дальнейшая почечная экскреция уже невозможна.

Наночастицы крупнее 5,5 нм не могут эффективно выводиться почками, но при этом они в незначительном количестве определяются в моче лабораторных животных. Гломерулярная фильтрация для них невозможна, а изучение механизма проникновения наночастиц в мочу в настоящее время продолжается. В работе [41] исследован процесс экскреции наночастиц оксида железа (Fe_3O_4) с размером ядра ~36 нм и гидродинамическим размером ~139 нм с помощью прижизненной конфокальной микроскопии коркового слоя почек мышей. Обнаружено, что крупные наночастицы не фильтруются в почечных клубочках, а проникают в клетки канальцевого эпителия (преимущественно проксимального канальца) напрямую из почечного интерстиция. Конкретный механизм не вполне ясен, авторы предполагают, что это может быть трансцитоз клетками эндотелия и канальцевого эпителия. Логично предположить, что данный механизм может работать для различных металлических наночастиц, в том числе и для наночастиц золота.

Таким образом, можно резюмировать, что оптимальными фармакокинетическими свойствами для применения в экспериментальной онкологии обладают наночастицы размером не более 50 нм, более крупные слишком быстро захватываются печенью и элиминируются из кровотока, вследствие чего их накопление в опухолевой ткани в достаточном количестве затруднено. Вопрос о целесообразности применения мелких экскретируемых наночастиц (нанокластеров) с гидродинамическим размером <5,5 нм не решен окончательно, однако развитие данной области выглядит перспективно.

Влияние стабилизирующего покрытия наночастиц на биораспределение

В простом случае структура наночастицы золота включает металлическое ядро и стабилизирующее покрытие, защищающее их от агрегации в растворе. Следует отметить, что методом

лазерной абляции в деионизованной воде можно получать наночастицы золота без какого-либо покрытия, которые, обладая отрицательным зарядом поверхности, не агрегируют за счет сил электростатического отталкивания [42]. Однако концентрация золота в растворе при этом получается очень низкой (от 0,1 мг Au/мл), что недостаточно для биомедицинского применения *in vivo* [43]. При попытках концентрировать раствор методом центрифугирования или выпаривания такие наночастицы агрегируют.

При синтезе наночастиц золота классическим химическим методом Туркевича в качестве восстановителя используется цитрат натрия, в результате образуются сферические наночастицы, сразу покрытые цитратом [44]. Впоследствии цитратное покрытие можно заменить на вещество другой химической природы – например, тиолы, фосфины, амины, соединения кремния и полимеры [45]. Стабилизирующее покрытие не только защищает наночастицы от агрегации, но и влияет на фармакокинетические свойства, в частности, замедляя формирование белковой короны [46]. При синтезе наночастиц для биомедицинского применения используют варианты покрытия, которые защищают их от опсонизации и фагоцитоза, благодаря чему пролонгируется время циркуляции в кровотоке. На практике в биомедицинских исследованиях чаще других используются цитрат, ПЭГ или БСА.

Исследование [47] демонстрирует различия в фармакокинетических свойствах наночастиц, покрытых ПЭГ и БСА. Золотые наностержни с оболочкой из оксида кремния (SiO_2), суммарным размером 110×70 нм, модифицированные либо ПЭГ 2 кДа, либо БСА, вводили мышам внутривенно. Концентрацию золота в плазме крови оценивали методом ICP-MS в интервале времени от 1 мин до 24 ч. Наностержни с ПЭГ и БСА демонстрировали разное время полувыведения $t_{1/2\beta}$ (соответственно 6,32 и 0,75 ч) и, как следствие, разную эффективность накопления через 24 ч в подкожной модельной опухоли 4T1 (соответственно 0,83 и 0,45 % ID). Наблюдаемые различия можно объяснить тем, что покрытие изменяет гидродинамический размер и заряд поверхности наночастиц. Помимо более крупного размера молекулы альбумина по сравнению с ПЭГ, ζ-потенциал частиц, покрытых БСА, был отрицательным (–14,1 мВ), а покрытых ПЭГ – практически нейтральным (–0,06 мВ).

Для изучения влияния заряда поверхности наночастиц на биораспределение в работе [48] синтезировали частицы с размером золотого ядра 2 нм и различными вариантами полимерного покрытия: TEGOH (–1,1 мВ), TTMA (+24,4 мВ), TCOOH (–37,9 мВ) или Tzwit (–2,0 мВ, цвиттер-ион с положительным и отрицательным полюсом, отрицательный заряд на внешней стороне покрытия). После внутривенного введения мышам наибольшее время полувыведения из кровотока было у нейтральных и цвиттер-ионных наночастиц (304 и 229 мин соответственно), у отрицательно заряженных оно составило 18 мин. Положительно заряженные наночастицы уже через 5 мин после инъекции определялись в крови мышей в 10 раз меньшей концентрации, чем нейтральные, т. е. их элиминация из крови происходила очень быстро. В подкожной опухоли (ксенографт CP-70) через 24 ч после инъекции нейтральные и цвиттер-ионные наночастицы накапливались в концентрации 20–25 мкг/г. Отрицательно заряженные наночастицы накапливались умеренно (до ~15 мкг/г), а содержание положительно заряженных не превышало 5 мкг/г.

Аналогичный результат получен и в работе [49]: через 24 ч после инъекции положительно заряженные наночастицы в большем количестве определялись в печени, селезенке и легких мышей, нейтральные в существенно большей концентрации выявлялись в крови и в меньшей – в печени, а отрицательно заряженные занимали промежуточное положение. В целом полученные результаты позволяют утверждать, что нейтральные наночастицы обладают оптимальными свойствами для биомедицинского применения.

На практике в абсолютном большинстве исследований *in vivo* покрытием наночастиц золота служит ПЭГ – водорастворимый неионный полимер, обеспечивающий нейтральный заряд частиц [50]. Обычно используют ПЭГ-тиол, цепи которого связываются с золотой поверхностью через SH-группу. Наночастицы, покрытые ПЭГ, гораздо более устойчивы к агрегации в солевом растворе, при этом они меньше опсонизируются сывороточными белками и дольше остаются невидимыми для макрофагов, что приводит к существенному замедлению их элиминации из кровотока. «Маскировка» наночастиц от клеток иммунной системы с помощью специального покрытия получила название «технология стелс» (stealth technology). Например, в работе [51] покрытие золотых наностержней ПЭГ (5 кДа) увеличило время их циркуляции в кровотоке мыши с 30 мин до 24 ч по сравнению со стержнями, покрытыми только цетилтриметиламмония бромидом.

В биомедицинских исследованиях в качестве покрытия наночастиц чаще других используется ПЭГ 5 кДа [52], однако встречаются варианты ПЭГ с другой молекулярной массой. В работе [31] последовательно изучено время полувыведения из кровотока наночастиц золота с диаметром золотого ядра от 18 до 87 нм и молекулярной массой

ПЭГ 2, 5 и 10 кДа. После внутривенной инъекции здоровым мышам, как и ожидалось, время полувыведения было обратно пропорционально размеру частиц. При одинаковом размере ядра медленнее элиминировались наночастицы с большей молекулярной массой ПЭГ. Максимальное время полувыведения (51 ч) демонстрировали частицы с наименьшим размером (18 нм), покрытые ПЭГ 10 кДа. Полученные результаты отчасти контринтуитивны: при одинаковом размере золотого ядра максимальное время циркуляции в кровотоке было у наночастиц с наибольшим гидродинамическим размером. Однако более длинные цепи ПЭГ лучше защищают наночастицы от опсонизации и фагоцитоза, таким образом увеличивая время до элиминации [53].

К сожалению, в физиологических условиях покрытие ПЭГ подвергается постепенной деградации. В частности, показано, что цистеин плазмы крови в физиологической концентрации может вытеснять цепи ПЭГ из связи с поверхностью золотой наночастицы. В конечном итоге это приводит к адсорбции белков на поверхности наночастицы, формированию белковой короны и распознаванию наночастиц макрофагами. Для предотвращения данного процесса в работе [54] предложено включать в структуру наночастицы алкильный линкер между ПЭГ и тиоловым фрагментом, однако на сегодняшний день эта технология не получила распространения.

Стабилизирующее покрытие предоставляет функциональные группы для присоединения к поверхности наночастиц других агентов: молекул лекарственных средств, радионуклидной или флуоресцентной метки, таргетных (нацеливающих) лигандов, антител или их фрагментов. Таргетные наночастицы активнее накапливаются в экспериментальных опухолях и, что особенно важно, длительно в них удерживаются [55, 56]. По данным метаанализа [57], присутствие в структуре наночастиц таргетных агентов повышало медиану накопления наночастиц в модельных солидных опухолях с 0,6 до 0,9 % ID. Поиск новых таргетных агентов и оценка эффективности накопления наночастиц в опухолях различной природы остаются актуальной задачей современной экспериментальной онкологии.

Влияние формы наночастиц на биораспределение

В настоящее время существуют технологии синтеза наночастиц золота с разнообразной формой ядра [58], выбор которой для биомедицинского применения определяется конкретной целью исследования. Для фотоакустической визуализации и фототермической терапии необходимы наночастицы, у которых пик поглощения поверхностного плазмонного резонанса находится в ближней инфракрасной области спектра (650–900 нм), в этих случаях применяют наностержни или нанооболочки, реже – нанозвезды и наноклетки [59, 60]. В настоящее время клинические испытания проходит технология AuroLase – фототермическая терапия рака предстательной железы с применением препарата AuroShell, представляющего собой нанооболочки с внешним диаметром ~150 нм, толщиной золотого слоя 10–20 нм и ядром из диоксида кремния [61, 62].

В качестве радиосенсибилизаторов и рентгеноконтрастных средств для КТ могут использоваться наночастицы любой формы. Значительно чаще других применяются обычные сферические наночастицы, однако возможны и другие варианты. Например, в работе [63] показаны рентгеноконтрастные свойства нанозвезд, а в исследовании [64] нанозвезды демонстрировали радиосенсибилизирующие свойства. В работе [65] в качестве радиосенсибилизаторов исследовали наночастицы специфической треугольной формы. Хотя форма не влияет на способность наночастиц поглощать рентгеновское излучение, она может изменять характер их биораспределения в организме, что определяет возможность разработки перспективных препаратов для биомедицинского применения.

Следует признать, что на данный момент влияние формы наночастиц на фармакокинетические свойства изучено недостаточно. Закономерно считается, что свойства нанооболочек аналогичны свойствам сферических наночастиц соответствующего диаметра [66, 67]. Тот же принцип сформулирован для нанозвезд: в работе [68] при исследовании биораспределения сферических наночастиц золота с диаметром золотого ядра 47 нм и нанозвезд со средним расстоянием между кончиками лучей 54 нм характер биораспределения был схожим, с одним исключением: звезды в существенно большем количестве накапливались в легких мышей.

Более сложным вопросом остается биораспределение наностержней. Поскольку они активно используются в фототермической терапии, в целом их биораспределение достаточно хорошо изучено [69, 70]. Однако сравнение биораспределения сферических наночастиц и наностержней дает противоречивые результаты. В исследовании [71] наностержни размером 45×10 нм или сферические наночастицы диаметром 50 нм вводили внутривенно мышам с ортотопическим ксенографтом рака яичника человека A2780. Все наночастицы были покрыты ПЭГ 5 кДа. Однако заряд поверхности наностержней был нейтраль-

ным (+1,13 мВ), а сферических наночастиц – отрицательным (–27,1 мВ). Биораспределение оценивали по данным ICP-MS в сроки от 30 мин до 7 сут. Во все временные точки сферические наночастицы определялись в печени в значительно большей концентрации. Время полувыведения из кровотока наностержней было значительно больше, и в экспериментальной опухоли они накапливались интенсивнее: через 6 ч после инъекции концентрация золота в опухоли составляла ~3 % ID/г, а после инъекции сферических наночастиц – не более 1 % ID/г. В рамках той же работы проведен эксперимент *in vitro*, показавший, что мышиными макрофагами RAW 264.7 сферические наночастицы захватывались намного активнее, чем стержни. Этим объясняется относительно медленное накопление стержней в печени мышей, длительное время циркуляции и эффективное аккумулирование в опухоли. Однако в данной работе, несмотря на покрытие ПЭГ, заряд поверхности сферических наночастиц оставался отрицательным, в то время как у наностержней он был практически нейтральным. Кроме того, стержни были меньше сфер (45×10 и 50 нм соответственно). Таким образом, полученные данные о различии в биораспределении нельзя связать исключительно с формой наночастиц.

В работе [68] получены аналогичные результаты: наностержни (62×27 нм, –22,9 мВ) менее интенсивно накапливались в печени и селезенке и дольше циркулировали в кровотоке мышей, чем сферические наночастицы (47 нм, –33,2 мВ). Но в исследовании [72] результат оказался противоположным: сферические наночастицы продемонстрировали наибольшее время циркуляции в крови, наименьшее содержание в печени и селезенке и наилучшее накопление в экспериментальной подкожной опухоли EMT6 по сравнению с наностержнями, нанодисками и наноклетками. При этом сферические частицы даже по размеру были больше стержней (соответственно 57 и 39×9 нм), а ζ-потенциал не измерялся.

Уникально в своем роде исследование [73], в котором изучали способность наностержней превращаться в сферические наночастицы под влиянием лазерного излучения в импульсном режиме. Величина наностержней до облучения составляла 50×10 нм. После облучения наночастицы принимали более или менее эллипсовидную форму со средним размером 27×17 нм. Количество золота в каждой наночастице сохранялось неизменным. Покрытием служил ПЭГ 5 кДа, заряд поверхности был нейтральным как до, так и после облучения: +0,48 и +1,83 мВ соответственно. Биораспределение наночастиц определяли через 72 ч после внутривенного введения мышам с подкожной опухолью C26. По данным ICP-MS, единственным различием была несколько более высокая концентрация наностержней в селезенке ($0,1 > p > 0,05$). В печени, напротив, наностержни накапливались в меньшем количестве, но различия не достигали статистической значимости. В остальных органах, а также в экспериментальной опухоли, наночастицы аккумулировались с одинаковой интенсивностью.

Неоднозначные результаты исследований *in vivo* оставляют открытым вопрос о том, имеют ли наностержни преимущество перед сферическими наночастицами с точки зрения биораспределения. При создании агентов для фототермической терапии наностержни используются благодаря оптимальному положению пика плазмонного резонанса. Но при создании препаратов-радиосенсибилизаторов могут применяться наночастицы золота любого размера и формы, в том числе и стержни [74, 75]. Эффективность терапии при этом определяется практически исключительно способностью наночастиц накапливаться в опухолевой ткани. Однако на данный момент не обоснована необходимость в синтезе наностержней для радиосенсибилизации. По-видимому, с равным успехом можно использовать более простые в синтезе сферические наночастицы.

Для исследования влияния формы наночастиц на биораспределение необходимо исключить влияние других факторов, в частности размера и заряда поверхности. При синтезе классическим химическим методом Туркевича сферические наночастицы получаются с цитратным покрытием и отрицательным зарядом поверхности, в то время как при синтезе наностержней используется цетилтриметиламмония бромид, придающий положительный заряд. Он токсичен, поэтому впоследствии его заменяют на другое покрытие, например ПЭГ. Тем не менее при неполной замене покрытия сферические наночастицы могут сохранять отрицательный заряд, а стержни – положительный, что существенно влияет на биораспределение. Поэтому при сравнении наночастиц различной формы определение ζ-потенциала является обязательным.

Исключить влияние размера при сравнении наночастиц разной формы практически невозможно. Если у сферических наночастиц есть только один размер (диаметр), то у наностержней следует принимать во внимание и длину, и диаметр цилиндра. Возникает вопрос, какие измерения можно сравнивать между собой. В работе [76] здоровым мышам вводили внутривенно наночастицы различной формы и размера с покрытием БСА: сферические наночастицы диаметром 50 нм, 20 нм или наностержни размером

57×18 нм. Несмотря на то что все исследованные наночастицы продемонстрировали крайне малое время циркуляции в кровотоке, отличия в скорости захвата печенью были заметны: после инъекции наночастиц диаметром 50 нм через 10 мин в печени находилось 90 % ID, наностержней 57×18 – 60 % ID, а наночастиц диаметром 20 нм – 40 % ID. Авторы делают вывод, что поведение наночастиц в организме зависит преимущественно от размера, а не от формы, поскольку наностержни демонстрировали промежуточную скорость накопления в печени между более крупными и более мелкими сферическими наночастицами. В целом следует признать, что вопрос о влиянии формы наночастиц на взаимодействие с клетками и биораспределение *in vivo* требует дополнительного изучения. Однако имеющиеся на данный момент результаты свидетельствуют о том, что влияние формы наночастиц на характер их биораспределения и способность накапливаться в опухолях имеет существенно меньшую значимость по сравнению с размером частицы и типом покрытия.

Заключение

Наночастицы золота – потенциальная основа диагностических и терапевтических препаратов с широкой перспективой применения в различных сферах биомедицины. Их биораспределение зависит от структуры, пути введения, физиологического состояния организма и протекающего в нем патологического процесса. Накопление наночастиц золота в модельных опухолях лабораторных животных определяется длительностью циркуляции в кровотоке. Основной путь элиминации из крови – захват макрофагами печени и, в меньшей степени, селезенки. В многочисленных исследованиях *in vivo* показано, что набольшее время циркуляции демонстрируют наночастицы меньшего размера (до 50 нм) с полимерным покрытием и нейтральным зарядом. Тем не менее на ряд вопросов еще предстоит ответить. В частности, потенциал применения мелких экскретируемых наночастиц золота (<5,5 нм) не раскрыт полностью, для развития данного направления необходимы всесторонние токсикологические исследования. Остается проблемой накопление большого количества золота в печени животных.

Есть и другие нерешенные вопросы. На данный момент не сформирована методика сравнения биораспределения для наночастиц различной формы. Во многих работах не проводится определение ζ-потенциала наночастиц в связи с техническими сложностями, хотя известно, что значение этого фактора очень велико, и без его исключения нельзя сделать вывод о вкладе других факторов. Продолжается в настоящее время поиск новых таргетных агентов и изучение их влияния на эффективность накопления наночастиц в опухолях. Таким образом, несмотря на огромное количество накопленного фактологического материала, необходимо продолжение исследований *in vivo* в области биораспределения наночастиц золота и систематизация полученных результатов.

Список литературы / References

1. Milan J., Niemczyk K., Kus-Liśkiewicz M. Treasure on the earth-gold nanoparticles and their biomedical applications. *Materials (Basel)*. 2022;15(9):3355. doi: 10.3390/ma15093355

2. Kesharwani P., Ma R., Sang L., Fatima M., Sheikh A., Abourehab M.A.S., Gupta N., Chen Z.S., Zhou Y. Gold nanoparticles and gold nanorods in the landscape of cancer therapy. *Mol. Cancer*. 2023;22(1):98. doi: 10.1186/s12943-023-01798-8

3. Matsumura Y., Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res*. 1986;46(12 Pt 1):6387–6392.

4. Danhier F. To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine? *J. Control. Release*. 2016;244(Pt A):108–121. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.11.015

5. Natfji A.A., Ravishankar D., Osborn H.M.I., Greco F. Parameters affecting the enhanced permeability and retention effect: the need for patient selection. *J. Pharm. Sci*. 2017;106(11):3179–3187. doi: 10.1016/j.xphs.2017.06.019

6. Liu X., Jiang J., Meng H. Transcytosis – an effective targeting strategy that is complementary to “EPR effect” for pancreatic cancer nano drug delivery. *Theranostics*. 2019;9(26):8018–8025. doi: 10.7150/thno.38587

7. Golombek S.K., May J.N., Theek B., Appold L., Drude N., Kiessling F., Lammers T. Tumor targeting via EPR: strategies to enhance patient responses. *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2018;130:17–38. doi: 10.1016/j.addr.2018.07.007

8. Ejigah V., Owoseni O., Bataille-Backer P., Ogundipe O.D., Fisusi F.A., Adesina S.K. Approaches to improve macromolecule and nanoparticle accumulation in the tumor microenvironment by the enhanced permeability and retention effect. *Polymers (Basel)*. 2022;14(13):2601. doi: 10.3390/polym14132601

9. Wang L., Rao Y., Liu X., Sun L., Gong J., Zhang H., Shen L., Bao A., Yang H. Administration route governs the therapeutic efficacy, biodistribution and macrophage targeting of anti-inflammatory nanoparticles in the lung. *J. Nanobiotechnology*. 2021;19(1):56. doi: 10.1186/s12951-021-00803-w

10. Enea M., Pereira E., Silva D.D., Costa J., Soares M.E., de Lourdes Bastos M., Carmo H. Study of the intestinal uptake and permeability of gold nanoparticles using both *in vitro* and *in vivo* approaches. *Nanotechnology*. 2020;31(19):195102. doi: 10.1088/1361-6528/ab6dfb

11. Khlebtsov N., Dykman L. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies. *Chem. Soc. Rev*. 2011;40(3):1647–1671. doi: 10.1039/c0cs00018c

12. Sodipo B., Kasim Mohammed Z. Advances in biodistribution of gold nanoparticles: the influence of size, surface charge, and route of administration. *Biomed. Mater*. 2024;19:042010. doi: 10.1088/1748-605X/ad5484

13. Haute D.V., Berlin J.M. Challenges in realizing selectivity for nanoparticle biodistribution and clearance: lessons from gold nanoparticles. *Ther. Deliv*. 2017;8(9):763–774. doi: 10.4155/tde-2017-0057

14. Vert M., Doi Y., Hellwich K., Hess M., Hodge P., Kubisa P., Rinaudo M., Schué F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*. 2012;84(2):377–410. doi: 10.1351/PAC-REC-10-12-04

15. Chithrani B.D., Ghazani A.A., Chan W.C. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano lett*. 2006;6(4):662–668. doi: 10.1021/nl052396o

16. Walkey C.D., Olsen J.B., Guo H., Emili A., Chan W.C. Nanoparticle size and surface chemistry determine serum protein adsorption and macrophage uptake. *J. Am. Chem. Soc*. 2012;134(4):2139–2147. doi: 10.1021/ja2084338

17. Li X., Hu Z., Ma J., Wang X., Zhang Y., Wang W., Yuan Z. The systematic evaluation of size-dependent toxicity and multi-time biodistribution of gold nanoparticles. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2018;167:260–266. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.04.005

18. Xia Q., Huang J., Feng Q., Chen X., Liu X., Li X., Zhang T., Xiao S., Li H., Zhong Z., Xiao K. Size- and cell type-dependent cellular uptake, cytotoxicity and in vivo distribution of gold nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine*. 2019;14:6957–6970. doi: 10.2147/IJN.S214008

19. Cho W.S., Cho M., Jeong J., Choi M., Han B.S., Shin H.S., Hong J., Chung B.H., Jeong J., Cho M.H. Size-dependent tissue kinetics of PEG-coated gold nanoparticles. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 2010;245(1):116–123. doi: 10.1016/j.taap.2010.02.013

20. Skribitsky V.A., Finogenova Y.A., Lipengolts A.A., Pozdniakova N.V., Smirnova A.V., Shpakova K.E., Grigorieva E.Y. *In vivo* studies of laser-ablated gold nanoparticles as dose enhancers for binary radiotherapy of cancer. *Physics of Atomic Nuclei*. 2022;85(9):1598–1602. doi: 10.1134/S1063778822090356

21. Dong Y.C., Hajfathalian M., Maidment P.S.N., Hsu J.C., Naha P.C., Si-Mohamed S., Breuilly M., Kim J., Chhour P., Douek P., Litt H.I., Cormode D.P. Effect of gold nanoparticle size on their properties as contrast agents for computed tomography. *Sci. Rep*. 2019;9(1):14912. doi: 10.1038/s41598-019-50332-8

22. de Jong W.H., Hagens W.I., Krystek P., Burger M.C., Sips A.J., Geertsma R.E. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials*. 2008;29(12):1912–1919. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.12.037

23. Sonavane G., Tomoda K., Makino K. Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: effect of particle size. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2008;66(2):274–280. doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.07.004

24. Behroozi Z., Rahimi B., Kookli K., Safari M.S., Hamblin M.R., Razmgir M., Janzadeh A., Ramezani F. Distribution of gold nanoparticles into the brain: a systematic review and meta-analysis. *Nanotoxicology*. 2021;15(8):1059–1072. doi: 10.1080/17435390.2021.1966116

25. Male D., Gromnicova R., McQuaid C. Gold nanoparticles for imaging and drug transport to the CNS. *Int. Rev. Neurobiol*. 2016;130:155–198. doi: 10.1016/bs.irn.2016.05.003

26. Hirn S., Semmler-Behnke M., Schleh C., Wenk A., Lipka J., Schäffler M., Takenaka S., Möller W., Schmid G., Simon U., Kreyling W.G. Particle size-dependent and surface charge-dependent biodistribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Eur. J. Pharm. Biopharm*. 2011;77(3):407–416. doi: 10.1016/j.ejpb.2010.12.029

27. Hainfeld J.F., Smilowitz H.M., O'Connor M.J., Dilmanian F.A., Slatkin D.N. Gold nanoparticle imaging and radiotherapy of brain tumors in mice. *Nanomedicine (Lond)*. 2013;8(10):1601–1609. doi: 10.2217/nnm.12.165

28. Lansangan C., Khoobchandani M., Jain R., Rudensky S., Perry C.C., Patil R. Designing gold nanoparticles for precise glioma treatment: challenges and alternatives. *Materials (Basel).* 2024;17(5):1153. doi: 10.3390/ma17051153.

29. Norouzi M. Gold nanoparticles in glioma theranostics. *Pharmacol. Res*. 2020;156:104753. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104753

30. Zhang G., Yang Z., Lu W., Zhang R., Huang Q., Tian M., Li L., Liang D., Li C. Influence of anchoring ligands and particle size on the colloidal stability and in vivo biodistribution of polyethylene glycol-coated gold nanoparticles in tumor-xenografted mice. *Biomaterials*. 2009;30(10):1928–1936. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.038

31. Perrault S.D., Walkey C., Jennings T., Fischer H.C., Chan W.C. Mediating tumor targeting efficiency of nanoparticles through design. *Nano Lett*. 2009;9(5):1909–1915. doi: 10.1021/nl900031y

32. Liu S., Piao J., Liu Y., Tang J., Liu P., Yang D., Zhang L., Ge N., Jin Z., Jiang Q., Cui L. Radiosensi-

tizing effects of different size bovine serum albumin-templated gold nanoparticles on H22 hepatoma-bearing mice. *Nanomedicine (Lond)*. 2018;13(11):1371–1383. doi: 10.2217/nnm-2018-0059

33. Du B., Yu M., Zheng J. Transport and interactions of nanoparticles in the kidneys. *Nature Reviews Materials*. 2018;3(10):358–374. doi: 10.1038/s41578-018-0038-3

34. Xie M., Xu Y., Huang J., Li Y., Wang L., Yang L., Mao H. Going even smaller: Engineering sub-5 nm nanoparticles for improved delivery, biocompatibility, and functionality. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol*. 2020;12(6):e1644. doi: 10.1002/wnan.1644

35. Verry C., Dufort S., Villa J., Gavard M., Iriart C., Grand S., Charles J., Chovelon B., Cracowski J.L., Quesada J.L., … Balosso J. Theranostic AGuIX nanoparticles as radiosensitizer: A phase I, dose-escalation study in patients with multiple brain metastases (NANO-RAD trial) *Radiother. Oncol*. 2021;160:159–165. doi: 10.1016/j.radonc.2021.04.021

36. Zhang X.D., Wu D., Shen X., Liu P.X., Fan F.Y., Fan S.J. *In vivo* renal clearance, biodistribution, toxicity of gold nanoclusters. *Biomaterials*. 2012;33(18):4628–4638. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.03.020

37. Huang K., Ma H., Liu J., Huo S., Kumar A., Wei T., Zhang X., Jin S., Gan Y., Wang P.C., … Liang X.J. Size-dependent localization and penetration of ultrasmall gold nanoparticles in cancer cells, multicellular spheroids, and tumors in vivo. *ACS Nano*. 2012;6(5):4483–4493. doi: 10.1021/nn301282m

38. Zhang X.D., Chen J., Luo Z., Wu D., Shen X., Song S.S., Sun Y.M., Liu P.X., Zhao J., Huo S., … Xie J. Enhanced tumor accumulation of sub-2 nm gold nanoclusters for cancer radiation therapy. *Adv. Healthc. Mater*. 2014;3(1):133–141. doi: 10.1002/adhm.201300189

39. Zhang X.D., Luo Z., Chen J., Song S., Yuan X., Shen X., Wang H., Sun Y., Gao K., Zhang L., … Xie J. Ultrasmall glutathione-protected gold nanoclusters as next generation radiotherapy sensitizers with high tumor uptake and high renal clearance. *Sci. Rep*. 2015;5:8669. doi: 10.1038/srep08669

40. Zhang X.D., Luo Z., Chen J., Shen X., Song S., Sun Y., Fan S., Fan F., Leong D.T., Xie J. Ultrasmall $Au_{(10-12)}(SG)_{(10-12)}$ nanomolecules for high tumor specificity and cancer radiotherapy. *Adv. Mater*. 2014;26(26):4565–4568. doi: 10.1002/adma.201400866

41. Naumenko V., Nikitin A., Kapitanova K., Melnikov P., Vodopyanov S., Garanina A., Valikhov M., Ilyasov A., Vishnevskiy D., Markov A., … Majouga A. Intravital microscopy reveals a novel mechanism of nanoparticles excretion in kidney. *J. Control. Release*. 2019;307:368–378. doi: 10.1016/j.jconrel.2019.06.026

42. Popov A.A., Tselikov G., Al-Kattan A., Kabashin A.V. Femtosecond laser-ablative synthesis of plasmonic Au and TiN nanoparticles for biomedical applications. *Synthesis and Photonics of Nanoscale Materials XVI:* proc. conf., 4 March 2019. 2019;10907:1090708. doi: 10.1117/12.2513970

43. Skribitsky V.A., Pozdniakova N.V., Lipengolts A.A., Popov A.A., Tikhonowski G.V., Finogenova Yu.A., Smirnova A.V., Grigorieva E.Y. A Spectrophotometric method for estimation of the size and concentration of laser ablated gold nanoparticles. *Biophysics.* 2022;67(1):22–26. doi: 10.1134/S0006350922010171

44. Turkevich J., Stevenson P.C., Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society.* 1951;11:55–75. doi: 10.1039/DF9511100055

45. Mahato K., Nagpal S., Shah M.A., Srivastava A., Maurya P.K., Roy S., Jaiswal A., Singh R., Chandra P. Gold nanoparticle surface engineering strategies and their applications in biomedicine and diagnostics. *3 Biotech*. 2019;9(2):57. doi: 10.1007/s13205-019-1577-z

46. Gao H., He Q. The interaction of nanoparticles with plasma proteins and the consequent influence on nanoparticles behavior. *Expert Opin. Drug Deliv*. 2014;11(3):409–420. doi: 10.1517/17425247.2014.877442

47. Wang J., Bai R., Yang R., Liu J., Tang J., Liu Y., Li J., Chai Z., Chen C. Size- and surface chemistry-dependent pharmacokinetics and tumor accumulation of engineered gold nanoparticles after intravenous administration. *Metallomics*. 2015;7(3):516–524. doi: 10.1039/c4mt00340c

48. Arvizo R.R., Miranda O.R., Moyano D.F., Walden C.A., Giri K., Bhattacharya R., Robertson J.D., Rotello V.M., Reid J.M., Mukherjee P. Modulating pharmacokinetics, tumor uptake and biodistribution by engineered nanoparticles. *PLoS One*. 2011;6(9):e24374. doi: 10.1371/journal.pone.0024374

49. Elci S.G., Jiang Y., Yan B., Kim S.T., Saha K., Moyano D.F., Yesilbag Tonga G., Jackson L.C., Rotello V.M., Vachet R.W. Surface charge controls the suborgan biodistributions of gold nanoparticles. *ACS Nano*. 2016;10(5):5536–5542. doi: 10.1021/acsnano.6b02086

50. Shi L., Zhang J., Zhao M., Tang S., Cheng X., Zhang W., Li W., Liu X., Peng H., Wang Q. Effects of polyethylene glycol on the surface of nanoparticles for targeted drug delivery. *Nanoscale*. 2021;13(24):10748–10764. doi: 10.1039/d1nr02065j

51. Niidome T., Yamagata M., Okamoto Y., Akiyama Y., Takahashi H., Kawano T., Katayama Y., Niidome, Y. PEG-modified gold nanorods with a stealth character for *in vivo* applications. *J. Control. Release*. 2006;114(3):343-347. doi: 10.1016/j.jconrel.2006.06.017

52. Kozics K., Sramkova M., Kopecka K., Begerova P., Manova A., Krivosikova Z., Sevcikova Z., Liskova A., Rollerova E., Dubaj T., … Gabelova A. Pharmacokinetics, biodistribution, and biosafety of PEGylated gold nanoparticles *in vivo*. *Nanomaterials (Basel)*. 2021;11(7):1702. doi: 10.3390/nano11071702

53. Lipka J., Semmler-Behnke M., Sperling R.A., Wenk A., Takenaka S., Schleh C., Kissel T., Parak W.J., Kreyling W.G. Biodistribution of PEG-modified gold nanoparticles following intratracheal instillation and intravenous injection. *Biomaterials*. 2010;31(25):6574–6581. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.05.009

54. Larson T.A., Joshi P.P., Sokolov K. Preventing protein adsorption and macrophage uptake of gold nanoparticles via a hydrophobic shield. *ACS Nano*. 2012;6(10);9182–9190. doi: 10.1021/nn3035155

55. Goddard Z.R., Marín M.J., Russell D.A., Searcey M. Active targeting of gold nanoparticles as cancer therapeutics. *Chem. Soc. Rev*. 2020;49(23):8774–8789. doi: 10.1039/d0cs01121e

56. Ahmad A., Khan F., Mishra R.K., Khan R. Precision cancer nanotherapy: evolving role of multifunctional nanoparticles for cancer active targeting. *J. Med. Chem*. 2019;62(23):10475–10496. doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b00511

57. Wilhelm S., Tavares A.J., Dai Q., Ohta S., Audet J., Dvorak H.F., Chan W.C. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. *Nature Reviews Materials*. 2016;1(5):1–12. doi: 10.1038/natrevmats.2016.14

58. Ortiz-Castillo J.E., Gallo-Villanueva R.C., Madou M.J., Perez-Gonzalez V.H. Anisotropic gold nanoparticles: A survey of recent synthetic methodologies. *Coordination Chemistry Reviews*. 2020;425:213489. doi: 10.1016/j.ccr.2020.213489

59. Liu Y., Crawford B.M., Vo-Dinh T. Gold nanoparticles-mediated photothermal therapy and immunotherapy. *Immunotherapy*. 2018;10(13):1175–1188. doi: 10.2217/imt-2018-0029

60. Zhou R., Zhang M., Xi J., Li J., Ma R., Ren L., Bai Z., Qi K., Li X. Gold nanorods-based photothermal therapy: interactions between biostructure, nanomaterial, and near-infrared irradiation. *Nanoscale Res. Lett*. 2022;17(1):68. doi: 10.1186/s11671-022-03706-3

61. Jue J.S., Coons S., Hautvast G., Thompson S.F., Geraats J., Richstone L., Schwartz M.J., Rastinehad A.R. Novel automated three-dimensional surgical planning tool and magnetic resonance imaging/ultrasound fusion technology to perform nanoparticle ablation and cryoablation of the prostate for focal therapy. *J. Endourol*. 2022;36(3):369–372. doi: 10.1089/end.2021.0266

62. Sung D., Sanchez A., Tward J.D. Successful salvage brachytherapy after infusion of gold auroshell nanoshells for localized prostate cancer in a human patient. *Adv. Radiat. Oncol*. 2023;8(4):101202. doi: 10.1016/j.adro.2023.101202

63. Zu L., Liu L., Qin Y., Liu H., Yang H. Multifunctional BSA-Au nanostars for photoacoustic imaging and X-ray computed tomography. *Nanomedicine*. 2016;12(7):1805–1813. doi: 10.1016/j.nano.2016.05.003

64. Ma N., Liu P., He N., Gu N., Wu F.G., Chen Z. Action of gold nanospikes-based nanoradiosensitizers: cellular internalization, radiotherapy, and autophagy. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2017;9(37):31526–31542. doi: 10.1021/acsami.7b09599

65. Bhattarai S.R., Derry P.J., Aziz K., Singh P.K., Khoo A.M., Chadha A.S., Liopo A., Zubarev E.R., Krishnan S. Gold nanotriangles: scale up and X-ray radiosensitization effects in mice. *Nanoscale*. 2017;9(16):5085–5093. doi: 10.1039/c6nr08172j

66. Terentyuk G.S., Maslyakova G.N., Suleymanova L.V., Khlebtsov B.N., Kogan B.Y., Akchurin G.G., Shantrocha A.V., Maksimova I.L., Khlebtsov N.G., Tuchin V.V. Circulation and distribution of gold nanoparticles and induced alterations of tissue morphology at intravenous particle delivery. *J. Biophotonics*. 2009;2(5):292–302. doi: 10.1002/jbio.200910005

67. Pannerec-Varna M., Ratajczak P., Bousquet G., Ferreira I., Leboeuf C., Boisgard R., Gapihan G., Verine J., Palpant B., Bossy E., … Janin A. *In vivo* uptake and cellular distribution of gold nanoshells in a preclinical model of xenografted human renal cancer. *Gold Bulletin*. 2013;46:257–265. doi: 10.1007/s13404-013-0115-8

68. Talamini L., Violatto M.B., Cai Q., Monopoli M.P., Kantner K., Krpetić Ž., Perez-Potti A., Cookman J., Garry D., Silveira C.P., … Bigini P. Influence of size and shape on the anatomical distribution of endotoxin-free gold nanoparticles. *ACS Nano*. 2017;11(6):5519–5529. doi: 10.1021/acsnano.7b00497

69. Niidome T., Akiyama Y., Yamagata M., Kawano T., Mori T., Niidome Y., Katayama Y. Poly(ethylene glycol)-modified gold nanorods as a photothermal nanodevice for hyperthermia. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed*. 2009;20(9):1203–1215. doi: 10.1163/156856209X452953

70. Akiyama Y., Mori T., Katayama Y., Niidome T. The effects of PEG grafting level and injection dose on gold nanorod biodistribution in the tumor-bearing mice. *J. Control Release*. 2009;139(1):81–84. doi: 10.1016/j.jconrel.2009.06.006

71. Arnida, Janát-Amsbury M.M., Ray A., Peterson C.M., Ghandehari H. Geometry and surface characteristics of gold nanoparticles influence their biodistribution and uptake by macrophages. *Eur. J. Pharm. Biopharm*. 2011;77(3):417–423. doi: 10.1016/j.ejpb.2010.11.010

72. Black K.C., Wang Y., Luehmann H.P., Cai X., Xing W., Pang B., Zhao Y., Cutler C.S., Wang L.V., Liu Y., Xia Y. Radioactive 198Au-doped nanostructures with different shapes for in vivo analyses of their biodistribution, tumor uptake, and intratumoral distribution. *ACS Nano*. 2014;8(5):4385–4394. doi: 10.1021/nn406258m

73. Akiyama Y., Mori T., Katayama Y., Niidome T. Conversion of rod-shaped gold nanoparticles to spherical forms and their effect on biodistribution in tumor-bearing mice. *Nanoscale Res. Lett*. 2012;7(1):565. doi: 10.1186/1556-276X-7-565

74. Wolfe T., Chatterjee D., Lee J., Grant J.D., Bhattarai S., Tailor R., Goodrich G., Nicolucci P.,

Krishnan S. Targeted gold nanoparticles enhance sensitization of prostate tumors to megavoltage radiation therapy *in vivo*.. 2015;11(5):1277–1283. doi: 10.1016/j.nano.2014.12.016

75. Zhao N., Yang Z., Li B., Meng J., Shi Z., Li P., Fu S. RGD-conjugated mesoporous silica-encapsulated gold nanorods enhance the sensitization of triple-negative breast cancer to megavoltage radiation therapy. *Int. J. Nanomedicine*. 2016;11:5595–5610. doi: 10.2147/IJN.S104034

76. Zhang J., Nie X., Ji Y., Liu Y., Wu X., Chen C., Fang X. Quantitative biokinetics and systemic translocation of various gold nanostructures are highly dependent on their size and shape. *J. Nanosci. Nanotechnol*. 2014;14(6):4124–4138. doi: 10.1166/jnn.2014.8274

Сведения об авторах:

Финогенова Юлия Андреевна, ORCID: 0000-0002-5144-1039, e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru
Липенгольц Алексей Андреевич, к.ф.-м.н., ORCID: 0000-0002-5631-9016, e-mail: lipengolts@mail.ru
Скрибицкий Всеволод Андреевич, ORCID: 0000-0003-2942-7895, e-mail: skvseva@yandex.ru
Шпакова Кристина Евгеньевна, ORCID: 0000-0003-0246-1794, e-mail: shpakova.k.e@gmail.com
Смирнова Анна Вячеславовна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-0386-9732, e-mail: smirn-ova@mail.ru
Сычева Наталья Николаевна, ORCID: 0000-0001-5398-0565, e-mail: natalia.n.sycheva@gmail.com
Григорьева Елена Юрьевна, д.б.н., ORCID: 0000-0001-7726-7991, e-mail: grig-elen11@mail.ru

Information about the authors:

Yulia A. Finogenova, ORCID: 0000-0002-5144-1039, e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru
Alexey A. Lipengolts, candidate of physico-mathematical sciences, ORCID: 0000-0002-5631-9016, e-mail: lipengolts@mail.ru
Vsevolod A. Skribitsky, ORCID: 0000-0003-2942-7895, e-mail: skvseva@yandex.ru
Kristina E. Shpakova, ORCID: 0000-0003-0246-1794, e-mail: shpakova.k.e@gmail.com
Anna V. Smirnova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-0386-9732, e-mail: smirn-ova@mail.ru
Natalia N. Sycheva, ORCID: 0000-0001-5398-0565, e-mail: natalia.n.sycheva@gmail.com
Elena Yu. Grigorieva, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0001-7726-7991, e-mail: grig-elen11@mail.ru

Поступила в редакцию 11.06.2024
После доработки 18.09.2024
Принята к публикации 13.11.2024

Received 11.06.2024
Revision received 18.09.2024
Accepted 13.11.2024

УДК 612.17:599.323.4-092.91618.43-001.8 DOI: 10.18699/SSMJ20240609
Оригинальное исследование / Research article

Состояние нуклео-нуклеолярного аппарата кардиомиоцитов половозрелых самцов белых крыс, подвергнутых внутриутробной гипоксии и неонатальному введению неопиатных аналогов лей-энкефалина

И.А. Гусев[1], А.В. Фоменко[1], О.И. Сорочинская[1], Е.Н. Сазонова[1, 2]

[1] Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России
680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35
[2] Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания – НИИ охраны материнства и детства
680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49, корп. 1

Резюме

Внутриутробная гипоксия (ВУГ) изменяет постнатальное развитие сердца и вносит вклад в индивидуальную предрасположенность к сердечно-сосудистым заболеваниям, в том числе путем нарушения белок-синтетической функции кардиомиоцитов (КМЦ). Неопиатные аналоги лей-энкефалина, пептиды НАЛЭ (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Arg) и G (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Gly), являются цитопротекторами с широким спектром биологической активности, которые улучшают состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ в неонатальном возрасте после ВУГ. Цель исследования – проанализировать состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ у половозрелых белых крыс, подвергнутых ВУГ и неонатальному введению неопиатных аналогов лей-энкефалина. **Материал и методы.** Потомство самок белых крыс Вистар, подвергнутых гипобарическому воздействию (15–19 день гестации, pO_2 = 65 мм рт. ст., экспозиция 4 ч), получало со вторых по шестые сутки жизни внутрибрюшинно пептиды НАЛЭ и G в дозе 100 мкг/кг, а также НАЛЭ в сочетании с блокатором NO-синтазы L-NAME (50 мг/кг), после чего выводилось из эксперимента в половозрелом возрасте (60 суток). Животные контрольной группы и группы сравнения получали эквиобъемное количество физиологического раствора натрия хлорида. Проанализированы карио- и нуклеолометрические параметры КМЦ, а также количество ядрышек при окраске срезов сердца методом AgNOR. **Результаты и их обсуждение.** ВУГ индуцировала достоверное снижение количества ядрышек в КМЦ обоих желудочков, а также привела к нарушению карио- и нуклеолометрических показателей КМЦ половозрелых животных. Введение пептида НАЛЭ в дозе 100 мкг/кг в неонатальном периоде корректировало постгипоксические изменения нуклео-нуклеолярного аппарата. Неонатальное введение неселективного блокатора NO-синтазы (L-NAME, 50 мг/кг) устраняло выявленные эффекты НАЛЭ. Коррекция отсроченных постгипоксических изменений, сходная с действием пептида НАЛЭ, наблюдалась при неонатальном введении его безаргининового аналога, пептида G. **Заключение.** Кардиопротективное действие НАЛЭ частично опосредовано через L-аргинин – потенциальный донор оксида азота. Неопиатные аналоги лей-энкефалина – пептиды НАЛЭ и G – могут рассматриваться в качестве перспективных кардиопротективных средств с отсроченной активностью, предотвращающих отдаленные кардиальные последствия ВУГ.

Ключевые слова: кардиомиоциты, внутриутробная гипоксия, оксид азота, ядрышки, неопиатные аналоги лей-энкефалина.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания № 124022900081-9 по теме «Регуляторные олигопептиды как потенциальные корректоры изменений при типовых патологических процессах».

Автор для переписки: Гусев И.А., e-mail: gusilia99@mail.ru

Для цитирования: Гусев И.А., Фоменко А.В., Сорочинская О.И., Сазонова Е.Н. Состояние нуклео-нуклеолярного аппарата кардиомиоцитов половозрелых самцов белых крыс, подвергнутых внутриутробной гипоксии и неонатальному введению неопиатных аналогов лей-энкефалина. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):97–104. doi: 10.18699/SSMJ20240609

The state of the nucleo-nucleolar apparatus of the mature albino rat males cardiomyocytes exposed to intrauterine hypoxia and neonatal administration of non-opiate analogues of leu-enkephalin

I.A. Gusev[1], A.V. Fomenko[1], O.I. Sorochinskaya[1], E.N. Sazonova[1, 2]

[1] *Far Eastern State Medical University of Minzdrav of Russia*
680000, Khabarovsk, Muravyova-Amurskogo st., 35
[2] *Khabarovsk branch of the Far Eastern Scientific Center for Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute for the Protection of Motherhood and Childhood*
680022, Khabarovsk, Voronezhskaya st., 49, bld. 1

Abstract

Intrauterine hypoxia (IUH) changes the postnatal heart development and contributes to the individual susceptibility to cardiovascular diseases, also by impairment of protein-synthetic function of cardiomyocytes (CMC). Non-opiate analogues of leu-enkephalin, peptides NALE (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Arg) and G (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Gly), cytoprotectors with the wide spectrum of biological activity, improve the state of the CMC nucleo-nucleolar apparatus in neonatal age after IUH. The aim of the study was to analyze the parameters of CMC nucleo-nucleolar apparatus in mature albino rats, exposed to IUH and to the neonatal administration of peptides-analogues of leu-enkephalin. **Material and methods.** The offspring of Wistar rat females, subjected to hypobaric exposure (15–19 days of gestation, pO_2 = 65 mm. Hg, duration – 4 hours), received from day 2 to day 6 of life daily intraperitoneal injections of NALE and G peptides (100 µg/kg), as well as NALE in combination with non-selective NO synthase blocker L-NAME (50 mg/kg), after that they were withdrawn from the experiment in mature age (60 days). The animals of control group and the comparison group received an equal volume of isotonic sodium chloride solution. The karyo- and nucleolometric parameters of CMC, and also the CMC nucleoli number were analyzed in heart sections, stained by using AgNOR method. **Results and their discussion.** IUH induced the significant decrease in nucleoli number of the CMC of both heart ventricles, and also led to the impairment of karyo- and nucleolometric parameters of the CMC in the mature offspring. Administration of NALE peptide in dose of 100 µg/kg in neonatal period corrected the posthypoxic changes of the CMC nucleo-nucleolar apparatus. Neonatal administration of non-selective NO-synthase blocker (L-NAME, 50 mg/kg) obviated the registered effects of NALE. The correction of delayed posthypoxic changes, similar to the effects of NALE, was observed after administration of its argininelessness analogue– the G peptide. **Conclusions.** The cardioprotective effect of NALE is partially mediated by L-arginine – a potential donator of nitric oxide. Non-opiate analogues of leu-enkephalin – the NALE and G peptides, might be considered as perspective cardioprotective substances with the delayed activity, preventing the long-term consequences of the IUH.

Key words: cardiomyocytes, intrauterine hypoxia, nitric oxide, nucleoli, non-opiate analogues of leu-enkephalin.

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

Financing. The study was carried out within the framework of the state assignment № 124022900081-9 by the subject «The regulatory oligopeptides as correctors of changes during typical pathological processes».

Correspondence author: Gusev I.A., e-mail: gusilia99@mail.ru

Citation: Gusev I.A., Fomenko A.V., Sorochinskaya O.I., Sazonova E.N. The state of the nucleo-nucleolar apparatus of the mature albino rat males cardiomyocytes exposed to intrauterine hypoxia and neonatal administration of non-opiate analogues of leu-enkephalin. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):97–104. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240609

Введение

Внутриутробная гипоксия (ВУГ) может определять предрасположенность к развитию сердечно-сосудистой патологии в отдаленных возрастных периодах, являясь фактором фетального программирования кардиомиоцитов (КМЦ) [1]. «Перепрограммирование» состояния миокарда при ВУГ включает дисрегуляцию синтеза структурных и сократительных белков [2]. Белок-синтетическая активность КМЦ определяется состоянием их ядрышек, которые координируют синтез рРНК [3]. Помимо этого, ядрышки участвуют в синтезе микроРНК КМЦ [4], а также регулируют активность циклин-зависимых киназ, что может определять пролиферативную способность неонатальных КМЦ и формирование структурного резерва сердца [5]. Морфологические и молекулярные изменения нуклеолярного аппарата КМЦ

являются неспецифическим маркером клеточного стресса и могут возникать на фоне генотоксических воздействий, а также при окислительном стрессе и гипоксии [6].

В наших предыдущих исследованиях продемонстрированы нарушения нуклеолярного аппарата КМЦ у новорожденных белых крыс, перенесших ВУГ [7]. Данные нарушения частично корректировались введением неопиатных аналогов лей-энкефалина – пептидов НАЛЭ (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Arg) и G (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Gly) [8]. Цель настоящего исследования – проанализировать состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ у половозрелых белых крыс, подвергнутых ВУГ и неонатальному введению пептидов – неопиатных аналогов лей-энкефалина.

Материал и методы

Работа выполнена на 3-месячных беременных самках белых крыс Вистар и их потомстве в возрасте 60 суток. Животных содержали в виварии ФГБОУ ВО Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России, уход за животными и постановку опытов проводили в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». На исследование получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России (протокол № 1 от 15.11.2023).

В исследовании использовали два структурных аналога лей-энкефалина: неопиатный аналог лей-энкефалина НАЛЭ (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Arg) и пептид G (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Gly). Данные пептиды не обладают аффинностью к опиатным рецепторам, так как остаток тирозина в N-концевом положении пептидной цепи заменен на фенилаланин [9]. Для моделирования внутриутробной гипоксии (ВУГ) беременных крыс (n = 6) ежедневно подвергали 4-часовому гипоксическому воздействию в экспериментальной гипобарической камере КГЭ-750/170 (ООО «Барогипоксия») с 15-х по 19-е сутки гестации (давление воздуха – 310 мм рт. ст., парциальное давление кислорода – 65 мм рт. ст.). Контролем служило потомство шести интактных самок.

После рождения потомства формировали пять экспериментальных групп: животные, получавшие со 2-х по 6-е сутки жизни ежесуточно внутрибрюшинно 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия (n = 12, группа «Контроль»); подвергнутые воздействию ВУГ с 15-го по 19-й день внутриутробного развития и получавшие со 2-х по 6-е сутки жизни ежесуточно внутрибрюшинно 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия (n = 12, группа «ВУГ»); подвергнутые воздействию ВУГ с 15-го по 19-й день внутриутробного развития и получавшие со 2-х по 6-е сутки жизни ежесуточно внутрибрюшинно 100 мкг/кг пептида НАЛЭ либо пептида G (ООО «Алмабион», РФ) в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия (соответственно группы «ВУГ+НАЛЭ» и «ВУГ + G», по 12 крыс в каждой); подвергнутые воздействию ВУГ с 15 по 19 день внутриутробного развития и получавшие со 2 по 6 сутки жизни ежесуточно внутрибрюшинно 100 мкг/кг НАЛЭ и 50 мг/кг неселективного ингибитора активности NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME; Sigma-Aldrich, США) в 0,1 мл изотонического раствора хлорида натрия (n = 12, группа «ВУГ + НАЛЭ + L-NAME»). Все группы формировали методом расщепления выводков, в каждую входили животные из шести выводков (по 2–3 животных из выводка). Всего в эксперименте использовано 72 крысы.

Животных выводили из эксперимента на 61-е сутки жизни путем быстрой декапитации под раунш-наркозом парами хлороформа. Ткань сердца фиксировали в 10%-м забуференном нейтральном формалине, после стандартной гистологической обработки получали гистотопографические парафиновые срезы и окрашивали нитратом серебра по методике AgNOR в модификации Д.Э. Коржевского [10]. Подсчитывали количество ядрышек в ядрах КМЦ субэндокардиальных зон миокарда левого и правого желудочков сердца на основании оценки не менее 200 клеток каждой зоны, определяли среднее количество ядрышек на ядро КМЦ, а также долю субпопуляций КМЦ с различным количеством ядрышек. Морфометрию нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ проводили с использованием программно-аппаратного комплекса «МЕКОС-Ц», оценивали площадь ядер и среднюю площадь ядрышек при анализе не менее 50 КМЦ субэндокардиальных зон миокарда левого и правого желудочков.

Статистическую обработку полученных данных выполняли в программе «Statistica 6.0». Проверку на нормальность распределения проводили с помощью тестов Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. Достоверность отличий между группами определяли при помощи непараметрического критерия Краскела – Уоллиса. Межгрупповые различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в виде M ± SEM, где M – среднее арифметическое, SEM – ошибка среднего.

Результаты и их обсуждение

У 60-суточных самцов белых крыс, перенесших ВУГ, выявлено достоверное снижение количества ядрышек в ядрах КМЦ по сравнению с контролем: на 15 % в левом желудочке и на 28 % – в правом (рис. 1, *а*, рис. 2). Данные изменения подтверждались статистически значимым повышением доли КМЦ с одним ядрышком (в 2,15 раза) и уменьшением доли четырехъядрышковых КМЦ (в 2,34 раза) в миокарде левого желудочка по сравнению с контролем (таблица). В правом желудочке сердца самцов, перенесших ВУГ, доля одноядрышковых КМЦ статистически значимо превышала контрольный уровень в 1,91

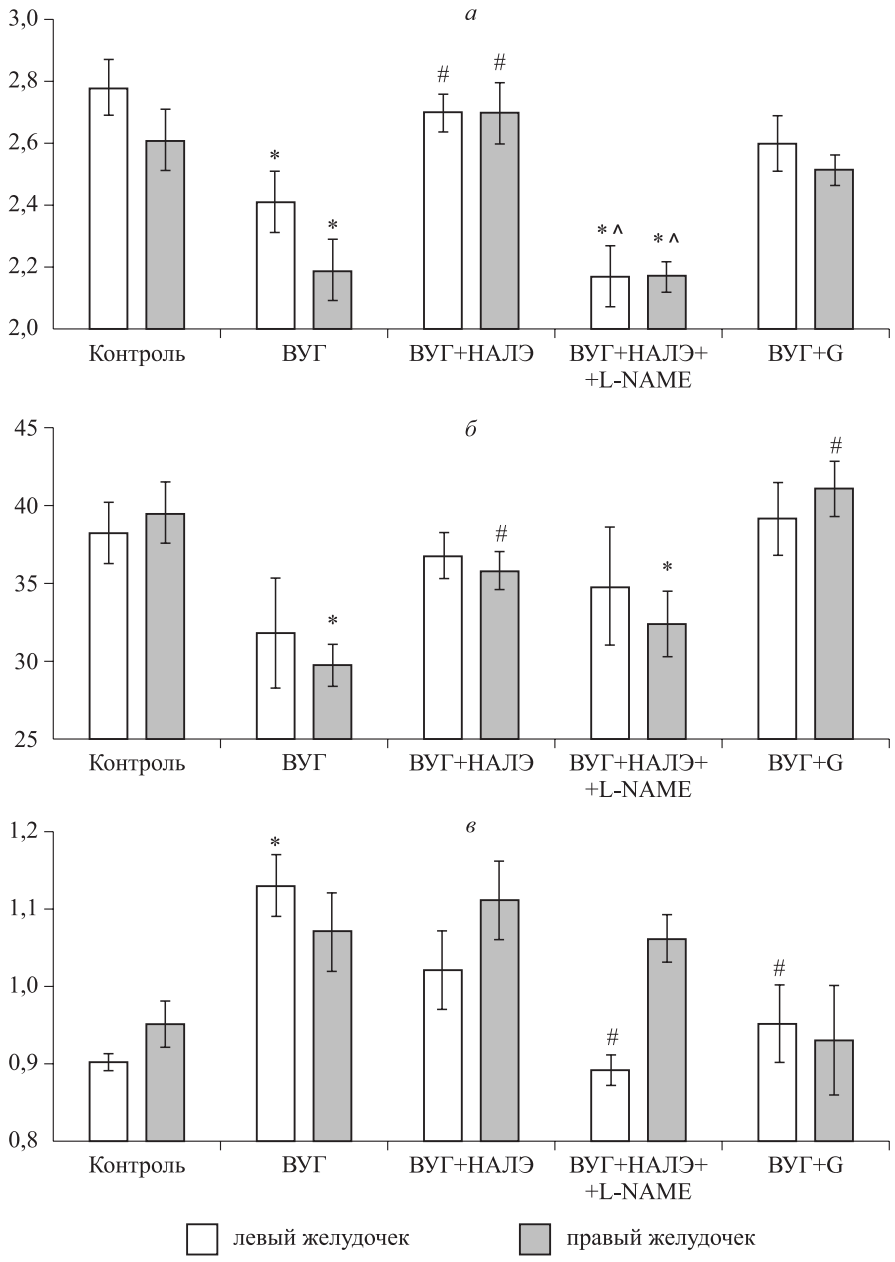


Рис. 1. *Количество ядрышек (а), площадь ядер (б) и ядрышек КМЦ (мкм²) (в) в субэндокардиальной зоне миокарда желудочков крыс исследуемых групп; обозначены статистически значимые (p < 0,05) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы «Контроль», # – группы «ВУГ», ^ – группы «ВУГ + НАЛЭ»*

Fig. 1. *Nucleoli number (a), nuclei (б) and nucleoli square (μm²) of cardiomyocytes in subendocardial zone of the ventricle myocardium of albino rats of the examined groups; p < 0.05: * – compared to group «Control», # – compared to group «IUH», ^ – группы compared to group «IUH + NALE»*

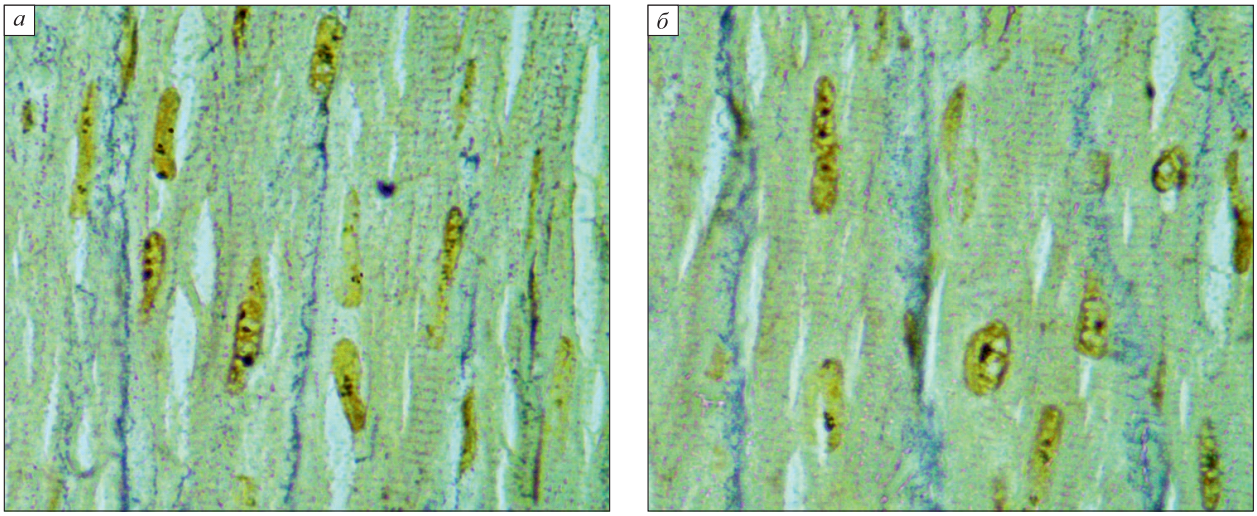


Рис. 2. *Нуклео-нуклеолярный аппарат кардиомиоцитов правого желудочка крыс групп «Контроль» (а) и «ВУГ» (б)*

Fig. 2. *Nucleo-nucleolar apparatus of the right ventricle cardiomyocytes of rats in groups «Control» (a) and «IUH» (б)*

раза, двухъядрышковых – на 32 %, при этом количество КМЦ с 4 ядрышками снижалось в 3,63 раза (см. таблицу). Дестабилизация ядрышек на фоне клеточного стресса способна привести к активации проапоптотического белка p53 [11], а также к повышению уровня аутофагии [12]. Повреждения нуклеолярного аппарата КМЦ на фоне увеличенной экспрессии маркера макроаутофагии беклина-1 и выраженного окислительного стресса выявлены в наших предыдущих исследованиях у новорожденных белых крыс, перенесших ВУГ [8].

Анализ кариометрических параметров КМЦ животных группы «ВУГ» выявил статистически значимое снижение площади ядер по сравнению с группой «Контроль» в миокарде правого желудочка (на 33 %) (см. рис. 1, *б*) и рост площади

Доля КМЦ с разным количеством ядрышек в субэндокардиальной зоне миокарда крыс исследуемых групп, %

The proportion of cardiomyocytes with different number of nucleoli in myocardial subendocardial zone of rats in the examined group, %

Группа	КМЦ с 1 ядрышком, % (p = 0,01)	КМЦ с 2 ядрышками, % (p = 0,24)	КМЦ с 3 ядрышками, % (p = 0,01)	КМЦ с 4 и более ядрышками, % (p = 0,004)
Левый желудочек				
Контроль	8,0 ± 2,05	28,85 ± 3,02	40,0 ± 2,09	23,15 ± 2,95
ВУГ	17,27 ± 4,14*	33,93 ± 3,85	38,93 ± 4,40	9,87 ± 1,62*
ВУГ + НАЛЭ	6,53 ± 1,59#	31,53 ± 2,28	47,47 ± 3,35	14,47 ± 2,02
ВУГ + НАЛЭ + L-NAME	24,69 ± 6,21*,^	40,89 ± 3,88	27,11 ± 3,17*,^	7,33 ± 1,65,^
ВУГ + G	11,15 ± 1,80	34,73 ± 3,04	36,91 ± 2,05	17,21 ± 3,05
Правый желудочек				
Контроль	10,36 ± 0,97	33,87 ± 2,65	40,49 ± 3,34	15,27 ± 2,9
ВУГ	19,87 ± 3,94*	44,73 ± 2,82*	33,0 ± 4,54	4,20 ± 1,43*
ВУГ + НАЛЭ	7,00 ± 1,69*,#	31,33 ± 3,91#	46,40 ± 3,70#	15,27 ± 2,89#
ВУГ + НАЛЭ + L-NAME	20,3 ± 2,4*,^	47,89 ± 1,76*,^	26,78 ± 2,14*,^	5,0 ± 1,33*,^
ВУГ + G	12,55 ± 1,53	37,58 ± 2,10	35,58 ± 2,41	14,30 ± 1,70#

Примечание. *Обозначены статистически значимые (p < 0,05) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы «Контроль», # – группы «ВУГ», ^ – группы «ВУГ + НАЛЭ»*

ядрышек на 20 % в миокарде левого желудочка (см. рис. 1, *в*). Тенденция к увеличению средней площади ядрышек также имела место в правом желудочке, однако данные изменения не были статистически значимы (см. рис. 1, *в*). Нарушения нуклеолярного аппарата при клеточном стрессе могут включать увеличение ядрышек в объеме [6], которое сопровождается изменением соотношения фибриллярного и гранулярного компонентов, повышением экспрессии нуклеолина [6] и наблюдается на фоне ишемии миокарда [13], а также при диабетической кардиомиопатии [14]. Таким образом, в сердце 60-суточных животных выявлены отдаленные последствия ВУГ в отношении нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ, которые способны изменить реакцию миокарда на кардиальную патологию.

Неонатальное введение пептида НАЛЭ изменяло состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ половозрелых животных, перенесших ВУГ. В группе «ВУГ + НАЛЭ» доля КМЦ левого желудочка с одним ядрышком достоверно снижалась по сравнению с группой «ВУГ» (в 2,6 раза), соотношение субпопуляций КМЦ не имело значимых отличий от контроля (см. таблицу). Достоверных изменений карио- и нуклеометрических показателей по сравнению с контролем также не выявлено (см. рис. 1, *б*, *в*). В миокарде правого желудочка группы «ВУГ + НАЛЭ» все показатели субпопуляций КМЦ с разным количеством ядрышек имели достоверные отличия от соответствующих параметров группы «ВУГ»: доля КМЦ с одним и с двумя ядрышками уменьшалась в 2,83 раза и на 43 % соответственно, при этом количество КМЦ с тремя и с четырьмя ядрышками увеличивалось на 71 % и в 3,63 раза соответственно (см. таблицу). Доля КМЦ с 2, 3, 4 ядрышками была такой же, как в группе «Контроль», а доля КМЦ с одним ядрышком – достоверно меньше (на 32 %). Наблюдалось статистически значимое повышение площади ядер КМЦ правого желудочка (на 20 %) по сравнению с группой «ВУГ» (рис. 1, *в*). При этом все исследованные морфометрические показатели КМЦ не имели статистически значимых отличий от группы «Контроль». Следовательно, неонатальное введение пептида НАЛЭ корректирует постгипоксические изменения ядер и ядрышек КМЦ крыс в отдаленных возрастных периодах.

Аминокислота L-аргинин в С-концевом положении пептида НАЛЭ может служить потенциальным донором оксида азота. Для проверки вовлеченности системы NO в реализацию эффектов НАЛЭ в неонатальном возрасте пептид вводили в комбинации с неселективным блокатором синтазы оксида азота L-NAME (группа «ВУГ + НАЛЭ + L-NAME). Ингибирование системы оксида азота устраняло ряд эффектов НАЛЭ на карио- и нуклеометрические параметры миокарда животных, подвергнутых ВУГ. Доля ядер КМЦ левого желудочка с одним ядрышком в группе «ВУГ+НАЛЭ+L-NAME» статистически значимо превышала показатель в группах «Контроль» (в 3,08 раза) и «ВУГ+НАЛЭ» (в 3,78 раза) (см. таблицу). Количество трехъядрышковых КМЦ, число ядрышек на фоне введения L-NAME достоверно уменьшались по сравнению с контролем (на 47 и 28 % соответственно) и группой «ВУГ + НАЛЭ» (на 42 и 24 % соответственно) (см. таблицу, рис. 1, *а*), также снижалась доля КМЦ с 4 ядрышками по сравнению с группой «ВУГ+НАЛЭ» (в 1,97 раза) (см. таблицу). Постгипоксические нарушения нуклеометрических параметров КМЦ левого желудочка модифицировались на фоне блокады NO-синтазы в неонатальном периоде – площадь ядрышек уменьшалась по сравнению с группой «ВУГ» на 27 % (см. рис. 1, *в*). Аналогичные, более выраженные изменения количества ядрышек наблюдались в правом желудочке сердца: доля всех популяций КМЦ с разным количеством ядрышек, а также количество ядрышек имели достоверные отличия от величин соответствующих показателей групп «Контроль» и «ВУГ + НАЛЭ» (см. рис. 1, *а*, таблицу). Площадь ядер КМЦ правого желудочка в группе «ВУГ + НАЛЭ + L-NAME» значимо снижалась по сравнению с контролем (на 22 %) (см. рис. 1, *б*). Таким образом, неселективная блокада системы оксида азота на фоне введения пептида НАЛЭ в неонатальном периоде онтогенеза не только нивелирует часть эффектов НАЛЭ, но и приводит к усугублению постгипоксических нарушений нуклеолярного аппарата КМЦ.

Для дальнейшей оценки вовлеченности L-аргинина в кардиопротективные эффекты НАЛЭ применяли его модифицированный аналог, не содержащий данной аминокислоты – оригинальный пептид G. Введение пептида G, которое проводили животным отдельной экспериментальной группы в неонатальном периоде аналогично пептиду НАЛЭ, оказывало сходное кардиопротективное действие. Все исследованные показатели нуклео-нуклеолярного апарата КМЦ как левого, так и правого желудочков сердца животных группы «ВУГ + G» не имели достоверных отличий от контрольных параметров. При этом по сравнению с группой «ВУГ» площадь ядрышек КМЦ левого желудочка снижалась на 19 % (см. рис. 1, *в*); в правом желудочке отмечено

увеличение доли КМЦ с 4 ядрышками в 3,4 раза (см. таблицу), количества ядрышек – на 14 % (см. рис. 1, *а*), площади ядер КМЦ – на 38 % (см. рис. 1, *б*). Таким образом, пептид G, как и его структурный аналог пептид НАЛЭ, улучшал состояние нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ половозрелых животных, перенесших ВУГ в позднефетальном периоде онтогенеза.

Сохранение кардиопротективной активности пептида НАЛЭ при удалении из его структуры остатка L-аргинина предполагает наличие иных механизмов действия у данного пептида. Поскольку оба исследуемых аналога лей-энкефалина обладают структурным сходством с N-концевым фрагментом пептида ноцицептина, вероятно предположить вовлеченность NOR-рецепторов в их эффекты [15]. Кроме того, важным свойством многих пептидных молекул является способность к функциональному белок-белковому взаимодействию, при котором изменение трехмерной пространственной структуры белков под действием пептидов оказывает прямое влияние на их функциональную активность, включая внутриклеточную сигнализацию и регуляцию метаболизма [16]. Пептиды могут имитировать естественные места белок-белкового взаимодействия и связываться с обширными участками белковых молекул благодаря небольшим размерам и гибкости своей структуры. [17] Белок-белковое взаимодействие тесно вовлечено в регуляцию внутриклеточной сигнальной активности опиоидных пептидов и их аналогов и может обеспечивать их неспецифическое цитопротективное действие [18].

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что перенесенная ВУГ индуцирует отсроченные нарушения со стороны нуклео-нуклеолярного аппарата КМЦ половозрелых белых крыс. Данные эффекты можно рассматривать в качестве проявления клеточного стресса КМЦ в отдаленных возрастных периодах. Неонатальное введение белым крысам, перенесшим ВУГ, пептида НАЛЭ и оригинального пептида G частично корректирует постгипоксические изменения карио- и нуклеолометрических параметров КМЦ животных в половозрелом возрасте. Это свидетельствует о долгосрочной кардиопротективной активности неопиатных аналогов лей-энкефалина. Кардиопротективные эффекты пептида НАЛЭ в отношении отдаленных кардиальных последствий ВУГ частично опосредованы наличием в его структуре L-аргинина – потенциального донора NO и активатора системы оксида азота.

Список литературы / References

1. Patterson A.J., Zhang L. Hypoxia and fetal heart development. *Curr. Mol. Med.* 2010;10(7):653–666. doi: 10.2174/156652410792630643

2. Gao Y., Dasgupta C., Huang L., Song R., Zhang Z., Zhang L. Multi-omics integration reveals short and long-term effects of gestational hypoxia on the heart development. *Cells.* 2019;8(12):1608. doi: 10.3390/cells8121608

3. Kressler D., Hurt E., Bassler J. Driving ribosome assembly. *Biochim. Biophys. Acta.* 2010;1803(6):673–683. doi: 10.1016/j.bbamcr.2009.10.009

4. Boisvert F.M., van Koningsbruggen S., Navascués J., Lamond A.I. The multifunctional nucleolus. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2007;8(7):574–585. doi: 10.1038/nrm2184

5. Hayashi Y., Fujimura A., Kato K., Udagawa R., Hirota T., Kimura K. Nucleolar integrity during interphase supports faithful Cdk1 activation and mitotic entry. *Sci. Adv.* 2018;4(6):eaap7777. doi: 10.1126/sciadv.aap7777

6. Hariharan N., Sussman M.A. Stressing on the nucleolus in cardiovascular disease. *Biochim. Biophys. Acta.* 2014;1842(6):798–801. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.09.016

7. Sazonova E.N., Tcimbalist N.A., Kaplieva O.V., Lebed'ko O.A. The influence of non-opiate analogue of leu-enkephalin to the cardiac consequences of intrauterine hypoxia of albino rats. *Russ. Open Med. J.* 2019;8(4):e0401 doi: 10.15275/rusomj.2019.0401

8. Sazonova E.N., Lebedko O.A., Tsimbalist N.A., Gusev I.A., Samarina E.Yu., Malofey Yu.B. The role of amino acid arginine and nitric oxide system in implementing cardioprotective effect of non-opioid analogue of leu-enkephalin in newborn albino rats after intrauterine hypoxia. *Russ. Open Med. J.* 2020;9(4):404. doi: 10.15275/rusomj.2020.0404

9. Dolle R.E., Michaut M., Martinez-Teipel B., Belanger S., Graczyk T.M., DeHaven R.N. Further studies of tyrosine surrogates in opioid receptor peptide ligands. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007;17(9):2656–2660. doi: 10.1016/j.bmcl.2007.01.092

10. Коржевский Д.Э., Гилерович Е.Г., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г., Григорьев И.П. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии: руководство. СПб.: СпецЛит, 2013. 127 с.

Korzhevskii D.E., Gilerovich E.G., Kirik O.V., Sukhorukova E.G., Grigor'ev I.P. Morphological diagnostics. Preparation of the material for histological study and electron microscopy: a guideline. Saint-Petersburg: SpetsLit, 2013. 127 p. [In Russian].

11. James A., Wang Y., Raje H., Rosby R., DiMario P. Nucleolar stress with and without p53. *Nucleus.* 2014;5(5):402–426. doi: 10.4161/nucl.32235

12. Katagiri N., Kuroda T., Kishimoto H., Hayashi Y., Kumazawa T., Kimura K. The nucleolar protein nucleophosmin is essential for autophagy induced by inhibiting Pol I transcription. *Sci. Rep.* 2015;5:8903. doi: 10.1038/srep08903

13. Roselló-Lletí E., Rivera M., Cortés R., Azorín I., Sirera R., Martínez-Dolz L., Hove L., Cinca J., Lago F., González-Juanatey J.R., Salvador A., Portolés M. Influence of heart failure on nucleolar organization and protein expression in human hearts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012;418(2):222–228. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.12.151

14. Sun L., He X., Wang J., Jiang B., Tong Z., Liu Y., Li Y., Xiao X. Nucleolus expression in diabetic cardiomyopathy. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2014;39(10):1056–1060. Chinese. doi: 10.11817/j.issn.1672-7347.2014.10.012

15. Denys I.B., Gao J., Sutphen J.C., Zaveri N.T., Kapusta D.R. Cardiovascular and renal effects of novel nonpeptide nociceptin opioid peptide receptor agonists. *Br. J. Pharmacol.* 2022;179(2):287–300. doi: 10.1111/bph.15717

16. Monti A., Vitagliano L., Caporale A., Ruvo M., Doti N. Targeting protein-protein interfaces with peptides: the contribution of chemical combinatorial peptide library approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(9):7842. doi: 10.3390/ijms24097842

17. Wright P., Dyson H. Intrinsically disordered proteins in cellular signalling and regulation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2015;16(1):18–29. doi: 10.1038/nrm3920

18. Georgoussi Z., Georganta E.M., Milligan G. The other side of opioid receptor signalling: regulation by protein-protein interaction. *Curr. Drug. Targets.* 2012;13(1):80–102. doi: 10.2174/138945012798868470

Сведения об авторах:

Гусев Илья Алексеевич, ORCID: 0000-0002-6199-4278, e-mail: gusilia99@mail.ru
Фоменко Артем Витальевич, ORCID: 0009-0007-9751-804X, e-mail: artem_fomenko98@mail.ru
Сорочинская Ольга Игоревна, ORCID: 0009-0008-4351-7188, e-mail: lelya200147@yandex.ru
Сазонова Елена Николаевна, д.м.н., проф., ORCID: 000-0002-8668-492X, e-mail: sazen@mail.ru

Information about the authors:

Ilia A. Gusev, ORCID: 0000-0002-6199-4278, e-mail: gusilia99@mail.ru
Artem V. Fomenko, ORCID: 0009-0007-9751-804X, e-mail: artem_fomenko98@mail.ru
Ol'ga I. Sorochinskaya, ORCID: 0009-0008-4351-7188, e-mail: lelya200147@yandex.ru
Elena N. Sazonova, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 000-0002-8668-492X, e-mail: sazen@mail.ru

Поступила в редакцию 21.05.2024
После доработки 20.06.2024
Принята к публикации 27.09.2024

Received 21.05.2024
Revision received 20.06.2024
Accepted 27.09.2024

УДК 612.015:599.323.4 DOI: 10.18699/SSMJ20240610
Оригинальное исследование / Research article

Сравнение эффектов трех глипролинов при пятидневном внутрибрюшинном введении

А.А. Колесникова, М.Ю. Флейшман, Ю.Б. Малофей, И.В. Толстенок, Н.В. Дузенко, А.А. Сальников

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

Резюме

На сегодняшний день зарегистрировано около 70 препаратов на основе регуляторных пептидов, в том числе пролинсодержащих, таких как ноотропы семакс и селанк. Актуально дальнейшее изучение свойств глипролиновых пептидных последовательностей с целью описания их нейропротекторных свойств и возможной разработки новых лекарственных средств на их основе. Цель исследования – сравнить эффекты влияния трех пептидов глипролинового ряда на морфометрические характеристики и пролиферативную активность клеток головного мозга белых крыс. **Материал и методы**. Половозрелым самцам крыс Вистар в течение 5 дней внутрибрюшинно вводили пептиды Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (TKPRPGP), Arg-Pro-Gly-Pro (RPGP) и Pro-Gly-Pro-Leu (PGPL) в дозе 0,1 мг/кг. Контролем служили интактные животные и получавшие 0,9%-й раствор NaCl эквиобъемно. На препаратах правого полушария мозга после окраски гематоксилином и эозином проводили морфоцитометрию. Оценивали размерные (площадь тел, ядер и ядрышек) и числовые (количество ядрышек) характеристики клеток. Рассматривали параметры нейронов и глиоцитов в пяти локализациях (II и V слой переднетеменной доли, II и V слой собственно теменной доли, поле CA1 гиппокампа). Применяя иммуногистохимическое окрашивание, определяли интенсивность пролиферации (маркер Ki-67, клон MIB1). **Результаты.** Пептид TKPRPGP в большей степени, чем RPGP и PGPL, изменял морфометрические показатели клеток нервной ткани и индекс пролиферации глиоцитов. В нашем эксперименте на пролиферативную активность нейронов максимально влияет глипролин PGPL. Аргининсодержащее соединение RPGP активирует пролиферативную активность глиоцитов. Лейцинсодержащее PGPL в большей степени изменяет морфометрические показатели нейронов. **Заключение.** Оба изученных тетрапептида влияют на морфометрические характеристики и пролиферативную активность клеток нервной ткани при пятикратном внутрибрюшинном введении в дозе 0,1 мг/кг. При сравнении глипролинов более выраженный эффект наблюдали после введения PGPL.

Ключевые слова: глипролины, пептиды, Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, Arg-Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Авторы выражают благодарность начальнику лаборатории молекулярной фармакологии пептидов ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт» академику РАН Н.Ф. Мясоедову.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № 124022900081-9.

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

Для цитирования: Колесникова А.А., Флейшман М.Ю., Малофей Ю.Б., Толстенок И.В., Дузенко Н.В., Сальников А.А. Сравнение эффектов трех глипролинов при пятидневном внутрибрюшинном введении. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):105–113. doi: 10.18699/SSMJ20240610

Comparison of the effects of three glyprolines after five days of intraperitoneal administration

A.A. Kolesnikova, M.Yu. Fleishman, Yu.B. Malofey, I.V. Tolstenok, N.V. Duzenko, A.A. Salnikov

Far Eastern State Medical University of Minzdrav of Russia
680000, Khabarovsk, Murav'yeva-Amurskogo st., 35

Abstract

To date, about 70 drugs based on regulatory peptides have been registered, including proline-containing ones, such as the nootropics Semax and Selank. Further study of the properties of glyproline peptide sequences is relevant in order to describe their neuroprotective properties and the possible development of new drugs based on them. The purpose of the study was to compare the effects of three glyproline peptides on the morphometric characteristics and proliferative activity of brain cells in albino rats. **Material and methods**. Sexually mature Wistar male rats were intraperitoneally injected with the peptides Thy-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (TKPRPGP), Arg-Pro-Gly-Pro (RPGP) and Pro-Gly-Pro-Leu (PGPL) at a dose of 0.1 mg/kg for 5 days. The intact animals that received 0.9 % sodium chloride solution in equivolume served as controls. Morphocytometry was performed on preparations of the right hemisphere of the brain after staining with hematoxylin and eosin. The dimensional (area of bodies, nuclei, and nucleoli) and numerical (number of nucleoli) characteristics of cells were assessed. We examined the parameters of neurons and gliocytes in five localizations (the second and fifth layers of the anterior parietal lobe, the second and fifth layers of the proprietal lobe, field CA1 of the hippocampus). Using immunohistochemical staining, the proliferation intensity was determined (marker Ki-67, clone MIB1). **Results.** The TKPRPGP peptide changed the morphometric parameters of nervous tissue cells and the gliocyte proliferation index to a greater extent than RPGP and PGPL. In our experiment, the proliferative activity of neurons is maximally influenced by glyproline PGPL. The arginine-containing compound RPGP activates the proliferative activity of gliocytes. Leucine-containing PGPL, to a greater extent, changes the morphometric parameters of neurons. **Conclusions**. Both studied tetrapeptides affect the morphometric characteristics and proliferative activity of nervous tissue cells when administered five times intraperitoneally at a dose of 0.1 mg/kg. When comparing glyprolines, a more pronounced effect was observed after the administration of PGPL.

Key words: glyprolines, peptides, Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, Arg-Pro-Gly-Pro, Arg-Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro-Leu.

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

Acknowledgement. The authors express their gratitude to the head of the laboratory of molecular pharmacology of peptides of the Federal State Budgetary Institution National Research Center “Kurchatov Institute”, academician of RAS N.F. Myasoedov.

Financing. The work was carried out within the framework of state assignment No. 124022900081-9.

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

Citation: Kolesnikova A.A., Fleishman M.Yu., Malofey Yu.B., Tolstenok I.V., Duzenko N.V., Salnikov A.A. Comparison of the effects of three glyprolines after five days of intraperitoneal administration. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):105–113. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240610

Введение

Регуляторные пептиды, содержащие аминокислотную последовательность Pro-Gly-Pro, или глипролины, имеют множество биологических эффектов, в том числе и в отношении тканей головного мозга. Особенностью этих соединений является каскадный механизм действия, что позволяет рассчитывать на долговременный эффект даже при краткосрочном введении [1, 2]. Влияние регуляторных пептидов на регенеративные свойства и морфологические параметры тканей организма является предметом постоянного изучения. На сегодняшний день в мире зарегистрировано около 70 препаратов на их основе, 14 зарегистрировано в России [3]. Регуляторные глипролины поступают в организм из эндогенных и экзогенных источников. Большинство пролинсодержащих пептидов образуется в результате деградации коллагена или поступающих с пищей белков. Короткие олигопептиды с большим содержанием пролина получаются также при деградации инсулинподобного фактора роста-1 (IGF-1). Продолжается изучение молекулярных механизмов биологических эффектов глипролинов, предполагают рецепторно-опосредованные механизмы. Например, N-ацетилированный Pro-Gly-Pro (PGP) действует как лиганд рецепторов хемокинов CXCR1/2, взаимодействует с коллаген-специфическими рецепторами, а циклический глипролин контролирует биодоступность IGF-1, изменяя его связывание с протеином-3 [4, 5].

Данные литературы свидетельствуют о перспективности изучения как механизмов действия глипролинов, так и регулирования их уровня в организме и поиска мишеней для терапии заболеваний, зависимых от метаболизма пролинсодержащих пептидов [4]. Рассматривая фрагментацию белков внеклеточного матрикса и производство пептидных цитокинов (матрикинов), исследователи отмечают их способность к ремоделированию окружающих структур, повреждение которых усиливается с возрастом и при болезнях. N-ацетилированный PGP может оказывать противоположные эффекты на пролиферацию различных типов клеток, на заживление и процесс неоваскуляризации посредством CXCR2-зависимого

механизма, отмечается необходимость дальнейших хорошо спланированных мультимодальных исследований [5].

Глипролины обладают нейроторопной и иммуномодулирующей активностью, реализуемой различными биохимическими путями. Ткани мозга характеризуются как высокочувствительные к стрессорным воздействиям различного генеза. Они отличаются высокой скоростью метаболизма и низкой скоростью регенерации [6, 7]. Эксперименты *in vitro* на клетках нейробластомы линии SH-SY5Y показали, что нейропротекторные свойства глипролинов, замещенных по N-концу, проявляют только соединения, потенциально способные метаболизироваться в биологических средах до циклопролилглицина. Этот аналог эндогенного пептида по фармакологической активности подобен пирацетаму – оказывает положительное модулирующее действие на глутаматные AMPA-рецепторы и усиливает синтез нейротрофина BDNF [8]. Создатели пептидных препаратов отмечают, что пептиды могут иметь сложные и нелинейные корреляции между своей структурой и нейропротекторными свойствами. Наличие остатка PGP повышает метаболическую резистентность олигопептидов. Представляют интерес челночные пептиды, являющиеся переносчиками биологически активных молекул через гематоэнцефалический барьер. Комплексы интернализуемых пептидов и белков (например, с супероксиддисмутазой) обеспечивают эффективное проникновение фермента в целевой участок клетки, тем самым усиливая терапевтическое действие. Считается перспективным и синтез пептидов, образующихся путем слияния нескольких молекул с разными свойствами или имитирующих природные регуляторные вещества и гормоны [9]. Оценка интенсивности пролиферации и синтеза белка в нейронах и нейроглии животных, получавших различные пролинсодержащие пептиды, является продолжением работы по изучению эффектов потенциальных ноотропов.

Цель исследования – сравнить эффекты влияния глипролинов на морфометрические характеристики и пролиферативную активность клеток головного мозга белых крыс после пятидневного введения трех пептидов глипролинового ряда в дозе 0,1 мг/кг.

Материал и методы

Исследовали головной мозг половозрелых самцов Вистар (60 животных). Дизайн планировали в соответствии с требованиями Приказа № 199 МЗ РФ от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и Директивы Европейского союза по защите животных, используемых в научных целях (2010/63/EU). При содержании крыс и выведении их из эксперимента руководствовались законом «О защите животных от жестокого обращения» (гл. V, ст. 104679-ГД от 01.12.1999). Протокол исследования утвержден на заседании этического комитета при ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 2 от 05.02.2019). В работе использовали пептиды Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (TKPRPGP), Arg-Pro-Gly-Pro (RPGP) и Pro-Gly-Pro-Leu (PGPL). Для проведения эксперимента формировали пять групп: «Интактные» (n = 10) – интактные животные; «NaCl» (n = 20) – крысы, получавшие в течение пяти дней внутрибрюшинные инъекции 0,9%-го раствора NaCl, «TKPRPGP» (n = 10), «RPGP» (n = 10) и «PGPL» (n = 10) – животные, получавшие в течение пяти дней внутрибрюшинные инъекции соответствующих пептидов в дозе 0,1 мг/кг, растворенных в 0,9%-м растворе NaCl.

Животных выводили из эксперимента на 6-е сутки путем быстрой декапитации под ингаляционным наркозом парами хлороформа. Правое полушарие мозга фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде, подвергали стандартной гистологической обработке [10], после чего изготавливали парафиновые срезы толщиной 7 мкм для окраски гематоксилином и эозином и последующего морфометрического исследования, а также срезы толщиной 3 мкм для иммуногистохимического окрашивания. Исследовали окрашенные гематоксилином и эозином препараты. Количество клеток в поле зрения подсчитывали визуально на увеличении ×1000. Размерные характеристики клеток и органелл определяли при увеличении ×400 с использованием программного обеспечения Флуденситоморфометрия (МЕКОС-ФДММ) «Мекос-Ц1» ООО «Медицинские компьютерные системы (МЕКОС)». Для определения морфометрических характеристик оценивали 25 клеток в каждой локализации. Для этого в пяти локализациях (II и V слои переднетеменной доли (ПТД), II и V слои собственно теменной доли (СТД), поле CA1 гиппокампа) оценивали размерные (площадь тел, ядер и ядрышек) и числовые (количество ядрышек) характеристики.

Указанные локации головного мозга были выбраны с учетом того, что вещества тестируются как потенциальные ноотропы. Слой V состоит из пирамидных клеток, аксоны которых составляют пирамидную систему (дающие ей начало пирамидные клетки находятся в предцентральной извилине), а верхние слои (I и II) относятся к ассоциативным путям коры. Гиппокамп – это от-

дел старой коры, который считается важным звеном связи с новой корой, обеспечивающим такие функции мозга, как внимание и память. Информация из различных регионов неокортекса поступает в гиппокамп, перерабатывается и возвращается в новую кору. Афферентные и эфферентные связи гиппокампа формируют циклические системы, в пределах которых происходит переработка информации. Афферентная связь представлена лимбическим кругом, который начинается от поля CA1. Лобная область коры большого мозга человека играет важную роль в организации и регуляции процессов, лежащих в основе сложных форм поведения и высших познавательных функций. Для иммуногистохимического окрашивания использовали набор Novolink TM Polymer Detection System (Leica Biosystems, США) в соответствии с протоколом производителя. На световом микроскопе «Микмед-6» АО «ЛОМО», Россия (×1000, не менее 500 клеток в каждой локализации) подсчитывали меченые ядра (маркер Ki-67, клон MIB1), имеющие коричневое окрашивание, и определяли их процент среди немеченых. Одновременно подсчитывали количество нейронов и клеток глии в поле зрения.

Поскольку применение критерия Шапиро – Уилка показало, что распределение признаков отличалось от нормального, рассчитывали медиану и межквартильный интервал (Me [Q1; Q3]). Различия между группами оценивали по критерию Вальда – Вольфовица и считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [11–13].

Результаты и их обсуждение

Показатели морфометрии клеток нервной ткани половозрелых самцов крыс Вистар в пяти локализациях представлены в табл. 1. В группе «TKPRPGP» по сравнению с группой «NaCl» статистически значимо уменьшалась площадь тел нейронов (II и V слои ПТД) и ядер (II и V слои ПТД и II слой СТД), увеличивалась суммарная площадь ядрышек (V слой СТД, поле CA1 гиппокампа), количество нейронов в поле зрения (II слой ПТД, V слой СТД и поле CA1 гиппокампа) и глиоцитов (II слой ПТД, II и V слои СТД, поле CA1 гиппокампа). Все эти изменения свидетельствуют о приближении изучаемых параметров к показателям в группе интактных животных по сравнению с показателями в группе с введением 0,9%-го раствора NaCl, т. е. о нивелировании глипролином TKPRPGP стрессирующего эффекта процедуры внутрибрюшинного введения. В группе «RPGP» по сравнению с группой «NaCl» выявлено достоверное уменьшение площади ядер нейронов (V слой ПТД, II слой СТД), как снижение (V слой СТД и поле CA1 гиппокампа), так и увеличение количества нейронов в поле зрения (II и V слои ПТД), возрастание количества ядрышек (II и V слои ПТД, II слой СТД и поле CA1 гиппокампа). Введение пептида RPGP также приближало морфометрические показатели к показателям интактной группы по сравнению с группой «NaCl», в более глубоких слоях эффект выражен меньше.

У животных группы «RPGP» по сравнению с крысами группы «TKPRPGP» были статистически значимо больше площадь тел нейронов (II слой ПТД, V слой СТД) и количество ядрышек (II слой ПТД, II слой СТД и поле CA1 гиппокампа), меньше – суммарная площадь ядрышек (II слой ПТД, II СТД и поле CA1 гиппокампа), количество нейронов в поле зрения (V слой ПТД, V слой СТД и поле CA1 гиппокампа) и количество глиальных клеток в поле зрения (II и V слои СТД, поле CA1 гиппокампа). Перечисленные изменения указывают на возможное увеличение клеточного отека и уменьшение белоксинтетической активности клеток и их плотности. В группе «PGPL» по сравнению с группой «NaCl» достоверно больше количество нейронов (II и V слои ПТД) и клеток глии (II слой ПТД, II и V слои СТД) в поле зрения, т. е. показатели после введения пептида ближе к показателям в группе «Интактные».

Результаты, отражающие уровень пролиферативной активности клеток нервной ткани (доля клеток с наличием белка Ki-67), представлены в табл. 2. Нейроны являются медленно пролиферирующими клетками, размножение которых связано с определенными областями мозга с последующей миграцией [13], поэтому в некоторых группах метки были единичными либо отсутствовали, что в некоторых случаях обусловливало большую статистическую ошибку. Однонаправленные статистически значимые различия наблюдали между группами «PGPL» и «NaCl», в этом случае доля меченых нейронов больше в группе, получавшей пептид (V слой СТД и поле CA1 гиппокампа), также в данной группе доля меток была больше, чем в группе «TKPRPGP» (V слой ПТД и поле CA1 гиппокампа), что может указывать на нивелирование стрессового воздействия в обоих случаях. В группе «TKPRPGP» индекс пролиферации клеток глии достоверно больше, чем в группе «NaCl» (V слой ПТД), что свидетельствует о протективном эффекте пептида. Введение раствора аминокислотной последовательности RPGP привело к уменьшению пролиферативной активности глиоцитов по сравнению с показателями в группе «NaCl» (V слой СТД и поле CA1 гиппокампа) и в группе «TKPRPGP» (V слой ПТД, V слой СТД); назначение TKPRPGP

Таблица 1. *Показатели морфометрии клеток нервной ткани самцов крыс Вистар в пяти локализациях*

Table 1. *Morphometric indices of nervous tissue cells of mature male Wistar rats in five localizations*

Объект морфометрии	Интактные	NaCl	TKPRPGP	RPGP	PGPL
1	2	3	4	5	6
Площадь тел, ядер и ядрышек нейронов во II и V слоях ПТД, мкм^2					
Нейроны II слоя	97,60 [91,96-100,08]	142,69 [92,88; 149,96] **	100,90 [97,67; 104,42] ##	117,52 [108,06; 127,26] **,#	91,46 [88,48; 95,08] ^^
Нейроны V слоя	177,65 [160,80; 195,52]	221,32 [192,37; 243,89]	160,55 [136,87; 176,37] ##	171,31 [149,85; 217,74]	196,75 [120,96; 211,46] ##,^^
Ядра нейронов II слоя	54,22 [50,77; 60,39]	71,65 [52,22; 81,77]	56,60 [54,91; 62,26] ##	48,83 [40,64; 55,85]	53,56 [52,88; 55,34]
Ядра нейронов V слоя	95,80 [78,31; 106,45]	119,55 [100,80; 125,36]	80,84 [72,06; 89,64] ##	64,55 [58,98; 85,33] ##	106,86 [65,94; 113,36] ^^,†
Ядрышки нейронов II слоя	3,44 [3,21; 3,59]	3,96 [3,52; 4,34]	4,62 [4,06; 5,24]	3,66 [3,09; 3,92] ^^	4,16 [3,73; 4,35] ^^
Ядрышки нейронов V слоя	5,70 [4,30; 6,30]	6,15 [5,72; 6,69]	6,16 [5,69; 6,32]	5,01 [4,19; 5,87]	6,26 [3,98; 6,94]
Количество нейронов, ядрышек в нейроне и глиоцитов во II и V слоях ПТД					
Нейроны II слоя	16,15 [14,75; 20,21]	14,25 [14,12; 14,75] *	20,05 [17,60; 24,9] ##	21,30 [21,00; 21,4] ##,^^	23,06 [22,00; 24,10] ##,^^,††
Нейроны V слоя	28,90 [22,35; 35,94]	25,50 [25,50; 25,70] **	23,90 [22,99; 29,50] ##	22,80 [22,50; 23,00] ##,^^	27,95 [27,90; 28,12] ##,^^,†
Ядрышки, II слоя	1,29 [1,22; 1,43]	1,04 [1,00; 1,11] **	1,04 [1,04; 1,12]	1,36 [1,17; 1,49] ##,^^	1,00 [1,00; 1,00] ^,††
Ядрышки V слоя	1,16 [1,09; 1,23]	1,03 [1,00; 1,08]	1,08 [1,04; 1,18]	1,19 [1,09; 1,53] ##	1,00 [1,00; 1,00] #,^,††
Глиоциты II слоя	22,50 [21,25; 27,45]	19,10 [18,72; 19,70] **	22,93 [20,49; 25,29] ##	20,60 [20,40; 20,80] ##	22,60 [22,50; 23,50] ##,^^,††
Глиоциты V слоя	7,60 [7,12; 8,58]	9,40 [9,00; 9,50] **	9,15 [7,45; 9,52] ##	7,10 [7,00; 7,10] ##	8,25 [7,80; 8,72] ##,^^,††
Площадь тел, ядер и ядрышек нейронов во II и V слоях СТД, мкм^2					
Нейроны II слоя	97,97 [97,27; 102,46]	118,00 [93,43; 125,08]	100,65 [96,41; 107,32]	106,48 [100,69; 116,58]	91,68 [88,02; 96,32] †
Нейроны V слоя	173,96 [168,27; 183,84]	203,04 [184,89; 222,57]	157,51 [145,72; 168,93]	211,47 [179,75; 222,13] ^	177,72 [163,77; 184,08]
Ядра нейронов II слоя	54,09 [46,67; 59,55]	66,74 [53,87; 74,18]	56,96 [54,87; 59,75] ##	33,61 [33,58; 50,62] ##,^^	51,05 [49,70; 57,73]
Ядра нейронов V слоя	92,51 [82,72; 99,15]	110,37 [98,91; 121,92]	87,02 [77,37; 94,88]	65,99 [57,49; 87,92]	96,56 [93,84; 103,55] †
Ядрышки нейронов II слоя	3,09 [2,85; 3,72]	3,88 [3,16; 4,19]	4,70 [4,21; 5,25]	3,45 [2,87; 4,23]^	3,95 [3,68; 4,28]

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6
Ядрышки нейронов V слоя	5,40 [4,40; 6,07]	5,65 [5,28; 5,99]	6,15 [5,48; 6,48]	6,02 [4,59; 6,29]	5,91 [5,14; 6,91]
Количество нейронов, ядрышек в нейроне и глиоцитов во II и V слоях СТД					
Нейроны II слоя	18,00 [17,56; 19,08]	20,90 [20,80; 21,00]**	27,50 [27,00; 28,07] ##	19,60 [19,37; 19,77] ##,^^	22,20 [21 ,12; 23,10] ##,^^,†
Нейроны V слоя	8,10 [7,18; 9,51]	8,25 [7,85; 8,72]**	10,30 [7,92; 12,62]##	5,15 [5,08; 5,25] ##,^^	5,00 [6,00; 7,50] ##,^^,††
Ядрышки II слоя	1,28 [1,14; 1,43]	1,08 [1,04; 1,20]**	1,08 [1,04; 1,15]	1,40 [1,34; 1,49] ##,^	1,00 [1,00; 1,04]
Ядрышки V слоя	1,20 [1,14; 1,43]	1,01 [1,00; 1,07]**	1,08 [1,04; 1,15]	1,30 [1,09; 1,39]	1,00 [1,00; 1,00] †
Глиоциты II слоя	22,00 [20,25; 26,05]	19,20 [19,00; 19,50]**	26,30 [24,10; 27,87] ##	23,30 [23,15; 23,45] ##,^^	22,60 [22,52; 22,67] ##,^^,††
Глиоциты V слоя	30,90 [24,35; 33,86]	24,50 [23,35; 25,55]**	30,36 [29,10; 33,19] ##	26,20 [25,75; 26,50] ##,^^	25,50 [25,00; 26,60] ##,^^
Площадь тел, ядер и ядрышек нейронов в поле CA1 гиппокампа, мкм^2					
Нейроны	109,31 [91,39; 114,63]	113,43 [107,94; 171,61]**	111,53 [103,73; 122,96]	105,30 [102,47; 115,53] ##,^^	102,33 [96,02; 117,83] ##,††
Ядра нейронов	68,55 [52,37; 73,12]	71,78 [63,49; 103,09]	66,18 [63,34; 78,30]	66,08 [43,71; 69,98]	62,30 [60,39; 70,15] †
Ядрышки нейронов	3,64 [2,67; 4,30]	4,22 [3,61; 5,14]**	5,90 [5,45; 6,99]	4,09 [3,48; 4,41] ##,^^	4,74 [4,17; 4,87] ##,^
Количество нейронов, ядрышек в нейроне и глиоцитов в поле CA1 гиппокампа					
Нейроны	26,90 [24,81; 27,25]	26,50 [25,85; 27,72]	35,80 [30,37; 50,20] ##	21,30 [21,00; 22,50] ^^	22,50 [22,00; 23,50] ^^
Ядрышки нейронов	1,35 [1,26; 1,55]	1,12 [1,04; 1,20]	1,16 [1,16; 1,29]	1,63 [1,36; 1,67] ##,^^	1,00 [1,00; 1,03] ^^,††
Глиоциты	6,27 [5,04; 9,68]	6,55 [6,32; 6,70]	9,90 [9,37; 10,80] ##	5,50 [5,00; 6,00] ^^	8,00 [7,60; 8,60] ^^

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей группы «Интактные» (* – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$); группы «NaCl» (# – при $p < 0,05$, ## – при $p < 0,01$); группы «TKPRPGP» (^ – при $p < 0,05$, ^^ – при $p < 0,01$); группы «RPGP» († – при $p < 0,05$, †† – при $p < 0,01$).

в большей степени приближает интенсивность пролиферации клеток глии к показателям группы «Интактные». В группе «PGPL» индекс пролиферации глиальных клеток больше, чем в группе «NaCl» (V слой ПТД, V слой СТД), таким образом, различия разнонаправленные. Глиоциты животных группы «PGPL» делятся хуже, чем крыс группы «TKPRPGP», в двух локализациях (V слой ПТД, V слой СТД). При сравнении групп «PGPL» и «RPGP» статистически значимые различия говорят в пользу аргининсодержащего пептида (V слой ПТД и поле CA1 гиппокампа).

Таким образом, после пятидневных внутрибрюшинных инъекций трех пролинсодержащих пептидов в дозе 0,1 мг/кг самцам крыс Вистар получены экспериментальные данные о разнонаправленных изменениях морфометрических показателей и уровня пролиферации клеток

Таблица 2. *Интенсивность пролиферации клеток нервной ткани самцов крыс Вистар в пяти локализациях*

Table 2. *Proliferation of nervous tissue cells of Wistar rat males in five localizations*

Локализация	Интактные	NaCl	TKPRPGP	RPGP	PGPL
Количество Ki-67-меченных нейронов во II и V слоях ПТД, %					
II слой	0 [0; 0,27]	0,20 [0; 0,41]	0 [0; 0,23]	0,32 [0,32; 0,64]	0 [0; 0] ^^,††
V слой	0,55 [0; 0,59]	0 [0; 0]**	0 [0; 0]	0 [0; 0]	1,32 [0,94; 1,57] ##,^^,†
Количество Ki-67-меченных клеток глии во II и V слоях ПТД, %					
II слой	1,02 [0,57; 4,58]	0,85 [0,43; 1,26]**	1,97 [0,77; 2,5]##	0,33 [0,32; 0,67]##,^^	0,31 [0,30; 0,61] ##,^^,††
V слой	1,65 [0,60; 3,11]	0,78 [0,39; 1,16]	4,88 [2,94; 6,26]##	0,89 [0,44; 1,30]^^	1,95 [1,67; 2,32] ##,^,††
Количество Ki-67-меченных нейронов во II и V слоях СТД, %					
II слой	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0,25]	0 [0; 0]	0 [0; 0]
V слой	0 [0; 0]	0 [0; 0,26]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]
Количество Ki-67-меченных клеток глии во II и V слоях СТД, %					
II слой	0,99 [0,50; 2,45]	1,03 [0,34; 1,38]**	1,14 [0,83; 1,79]##	0,43 [0,32; 0,54]##,^^	1,11 [0,75; 1,37]**,#
V слой	1,72 [0,87; 2,54]	3,64 [3,22; 3,69]**	3,74 [1,78; 4,49]##	0,39 [0,28; 0,49]##,^^	0,43 [0,40; 0,92]##,^^
Количество Ki-67-меченных нейронов и клеток глии в поле CA1 гиппокампа, %					
Нейроны	0,16 [0; 0,37]	0,18 [0; 0,38]	0,22 [0; 0,30]##	0 [0; 0,47]	0,89 [0,46; 1,28]##,^^
Глиальные клетки	1,15 [0,25; 3,10]	9,92 [8,65; 10,81]**	0,61 [0; 4,00]##	2,00 [1,67; 3,64]##	0,54 [0; 0,57] ##,†

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей группы «Интактные» (* – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$), группы «NaCl» (# – при $p < 0,05$, ## – при $p < 0,01$), группы «TKPRPGP» (^ – при $p < 0,05$, ^^ – при $p < 0,01$), группы «RPGP» († – при $p < 0,05$, †† – при $p < 0,01$).

нервной ткани в пяти локализациях. Получение массива данных, привязанных к изменениям параметров клеток и экспрессии маркерных белков после воздействия пептидов, может считаться одним из этапов тестирования их нейропротекторных свойств. В дальнейшем необходимо экспериментальное выяснение каскадов метаболических систем, в модуляции которых участвуют глипролины, взаимосвязи между их структурой и функциями. Это позволит реализовать предсказание свойств пептидов, необходимых для планирования синтеза лекарств [9]. Таким образом, границы разработки пептидных лекарств могут быть дополнены за счет расширения «омиксных» технологий, основанных на достижениях геномики, транскриптомики, протеомики, метаболомики.

Заключение

Регуляторные пептиды, содержащие аминокислотную последовательность Pro-Gly-Pro, или глипролины, проявляют биологические эффекты в отношении тканей головного мозга, предполагают каскадный механизм действия. Это позволяет рассчитывать на долговременный эффект даже при краткосрочном введении [1, 2]. На отечественном рынке в настоящее время присутствует недостаточное количество препаратов этой группы [14], соответственно, актуально изучение свойств новых глипролинов с целью описания их медикаментозного воздействия. Согласно нашим данным, пятикратное введение 0,9%-го раствора NaCl вызывает изменение ряда морфометрических показателей нейронов и нейроглии в исследуемых локализациях (II и V слой переднетеменной доли, II и V слой собственно теменной доли, поле CA1 гиппокампа) половозрелых самцов крыс Вистар. Некоторые из тестируемых пептидов в разной степени меняют ряд изученных параметров в сторону приближения к показателям в группе интактных животных. Эффекты пептида TKPRPGP при внутрибрюшинном введении в дозе 0,1 мг/кг в течение 5 дней более выражены, чем пептидов RPGP и PGPL (морфометрические показатели клеток нервной ткани, индекс пролиферации глиоцитов); глипролин PGPL эффективнее восстанавливает пролиферативную активность

нейронов; пептид RPGP в большей степени, чем PGPL, приближает показатели пролиферативной активности глиоцитов к показателям животных в интактной группе и в меньшей степени – морфометрические показатели нейронов.

Список литературы

1. Жуйкова С.Е. Глипролины – регуляторные пептиды с интегративным действием. *Интегратив. физиол.* 2020;1(4):303–316. doi: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-303-316

2. Краснов И.Б., Красников Г.В., Бурцева Т.Д., Чельная Н.А. Реакция популяции нейронов спинномозгового узла L5 крыс на первичное и повторное моделирование эффектов невесомости. *Авиакосм. и экол. мед.* 2009;43(2):21–26.

3. Хавинсон В.Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клин. мед.* 2020;98(3):65–177. doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177

4. Misiura M., Miltyk W. Proline-containing peptides – new insight and implications: A review. *Biofactors*. 2019;45(6):857–866. doi: 10.1002/biof.1554

5. Jariwala N., Ozols M., Bell M., Bradley E., Gilmore A., Debelle L., Sherratt M.J. Matrikines as mediators of tissue remodeling: A Review. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2022;(185):114240. doi: 10.1016/j.addr.2022.114240

6. Stavchansky V.V., Filippenkov I.B., Remizova J.A., Denisova A.E., Mozgovoy I.V., Gubsky L.V., Myasoedov N.F., Andreeva L.A., Limborska S.A., Dergunova L.V. Insight into glyproline peptides' activity through the modulation of the inflammatory and neurosignaling genetic response following cerebral ischemia-reperfusion. *Genes (Basel).* 2022;13(12):2380. doi: 10.3390/genes13122380

7. Akimov M.G., Fomina-Ageeva E.V., Dudina P.V., Andreeva L.A., Myasoyedov N.F., Bezuglov V.V. ACTH(6–9)PGP peptide protects SH-SY5Y cells from H_2O_2, tert-butyl hydroperoxide, and cyanide cytotoxicity via stimulation of proliferation and induction of prosurvival-related genes. *Molecules*. 2021;26(7):1878. doi: 10.3390/molecules26071878

8. Николаев С.В., Логвинов И.О., Колясникова К.Н., Кузнецова Е.А., Антипов П.И., Антипова Т.А. Нейропротекторные свойства *in vitro* новых глипролинов, замещенных по N-концу. *Фармакокинет. и фармакодинам*. 2020;(2):4–10. doi: 10.37489/2587-7836-2020-2-4-10

9. Dergunova L.V., Filippenkov I.B., Limborska S.A., Myasoedov N.F. Neuroprotective peptides and new strategies for ischemic stroke drug discoveries. A Review. *Genes (Basel).* 2023;14(5):953. doi: 10.3390/genes14050953

10. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. СПб.: СпецЛит, 2010. 95 с.

11. Медик В.А., Толмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии: Руководство. В 2-х томах. Т. 1. Ред. Ю.М. Комаров. М.: Медицина, 2000. 412 с.

12. Барвина А.Р. Современные правила применения параметрических и непараметрических критериев в статистическом анализе медико-биологических данных. *Мед. альм*. 2021;(1):64–73.

13. Васильев Ю.Г., Берестов Д.С. Гомеостаз и пластичность мозга: монография. Ижевск: ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2011. 216 с.

14. Справочник Видаль 2022: Лекарственные препараты в России. Ред. Е.А. Толмачева. М.: Видаль Рус, 2022. 1120 с.

References

1. Zhuikova S.E. Glyprolines: regulatory peptides with an integrative action. *Integrativnaya fiziologiya = Integrative Physiology.* 2020;1(4):303–316. [In Russian]. doi: 10.33910/2687-1270-2020-1-4-303-316

2. Krasnov I.B., Krasnikov G.V., Burtseva T.D., Chel'naya N.A. Reaction of the neuronal population of rat''s l5 spinal ganglia to primary and repeated modeling of microgravity effects. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina = Aerospace and Environmental Medicine*. 2009;43(2):21–26. [In Russian].

3. Khavinson V.Kh. Peptide medicines: past, present, future. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*. 2020;98(3):165–177. [In Russian]. doi.org/10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177

4. Misiura M., Miltyk W. Proline-containing peptides – new insight and implications: A review. *Biofactors*. 2019;45(6):857–866. doi: 10.1002/biof.1554

5. Jariwala N., Ozols M., Bell M., Bradley E., Gilmore A., Debelle L., Sherratt M.J. Matrikines as mediators of tissue remodeling: A Review. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2022;(185):114240. doi: 10.1016/j.addr.2022.114240

6. Stavchansky V.V., Filippenkov I.B., Remizova J.A., Denisova A.E., Mozgovoy I.V., Gubsky L.V., Myasoedov N.F., Andreeva L.A., Limborska S.A., Dergunova L.V. Insight into glyproline peptides' activity through the modulation of the inflammatory and neurosignaling genetic response following cerebral ischemia-reperfusion. *Genes (Basel).* 2022;13(12):2380. doi: 10.3390/genes13122380

7. Akimov M.G., Fomina-Ageeva E.V., Dudina P.V., Andreeva L.A., Myasoyedov N.F., Bezuglov V.V. ACTH(6–9)PGP peptide protects SH-SY5Y cells from H_2O_2, tert-butyl hydroperoxide, and cyanide cytotoxicity via stimulation of proliferation and induction of prosurvival-related genes. *Molecules*. 2021;26(7):1878. doi: 10.3390/molecules26071878

8. Nikolaev S.V., Logvinov I.O., Koliasnikova K.N., Kuznetsova E.A., Antipov P.I., Antipova T.A. The neuroprotective properties of analogues of substituted glyproline gzk-111 at the c-terminus *in vitro*. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2020;(2):4–10. [In Russian]. doi: 10.37489/2587-7836-2020-2-4-10

9. Dergunova L.V., Filippenkov I.B., Limborska S.A., Myasoedov N.F. Neuroprotective peptides and new strategies for ischemic stroke drug discoveries. A Review. *Genes (Basel)*. 2023;14(5):953. doi: 10.3390/genes14050953

10. Korzhevskii D.E., Gilyarov A.V. Fundamentals of histological technique. Saint-Petersburg: SpetsLit, 2010. 95 p. [In Russian].

11. Medik V.A., Tolmachev M.S., Fishman B.B. Statistics in medicine and biology: Guide. In 2 volumes. Vol. 1. Ed. Yu.M. Komarov. Moscow: Meditsina, 2000. 412 p. [In Russian].

12. Barvina A.R. Modern rules for the use of parametric and nonparametric tools in the statistical analysis of biomedical data. *Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac*. 2021;(1):64–73. [In Russian].

13. Vasil'ev Yu.G., Berestov D.S. Homeostasis and brain plasticity: monography. Izhevsk: FGBOU VPO Izhevskaya GSKhA, 2011. 216 p. [In Russian].

14. Vidal Directory 2022: Medicines in Russia Red. E.A. Tolmacheva. Moscow: Vidal' Rus, 2022. 1120 p. [In Russian].

Сведения об авторах:

Колесникова Анна Александровна, ORCID: 0000-0002-0773-9293, e-mail: anna-kostina-88@mail.ru
Флейшман Марина Юрьевна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9337-2801, e-mail: marfl@yandex.ru
Малофей Юлия Борисовна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-5698-3665, e-mail: malofey2009@mail.ru
Толстенок Иван Владимирович, к.б.н., ORCID: 0000-0002-0822-3431, e-mail: toiv@bk.ru
Дузенко Надежда Владимировна, e-mail: nadya_duz@mail.ru
Сальников Антон Александрович, e-mail: anton231100@mail.ru

Information about the authors:

Anna A. Kolesnikova, ORCID: 0000-0002-0773-9293, e-mail: anna-kostina-88@mail.ru
Marina Yu. Fleishman, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9337-2801, e-mail: marfl@yandex.ru
Yliya B. Malofey, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-5698-3665, e-mail: malofey2009@mail.ru
Ivan V. Tolstenok, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-0822-3431, e-mail: toiv@bk.ru
Nadezhda V. Duzenko, e-mail: nadya_duz@mail.ru
Anton A. Salnikov, e-mail: anton231100@mail.ru

Поступила в редакцию 02.07.2024
После доработки 18.07.2024
Принята к публикации 01.08.2024

Received 02.07.2024
Revision received 18.07.2024
Accepted 01.08.2024

УДК 615.213:615.076.9 DOI: 10.18699/SSMJ20240611
Оригинальное исследование / Research article

Оценка безопасности и токсикокинетики препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях

В.М. Косман[1], А.Ю. Романенко[1], М.В. Карлина[1], Н.М. Фаустова[1], Е.В. Мазукина[1], А.Н. Кузовлев[2], А.В. Гречко[2], Р.А. Черпаков[2, 3], М.Н. Макарова[1], В.Г. Макаров[1]

Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»
188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, г. п. Кузьмоловский, ул. Заводская, 3, к. 245
[2] Федеральный Научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии
141534, Московская обл., г. о. Солнечногорск, д. Лыткино, 777
[3] НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента Здравоохранения г. Москвы
129090, г. Москва, Большая Сухаревская пл., 3

Резюме

Соли лития давно применяют при лечении биполярного расстройства. Их высокий потенциал в качестве нейропротекторных средств при ишемиях головного мозга обусловливает актуальность доклинических исследований для регистрации новых лекарственных препаратов на их основе. Цель исследования – изучение токсических свойств и местной переносимости с оценкой токсикокинетики разрабатываемого препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях при многократном внутривенном введении. **Материал и методы**. Лития хлорид (раствор для внутривенного введения 4,2 %) вводили карликовым свиньям (контрольная и три экспериментальные группы животных по 3 самца и 3 самки) в течение 28 суток в дозах 12,6, 29,4 и 63 мг/кг. Оценивали общетоксические свойства, местнораздражающее действие и основные фармакококинетические параметры ($C_{max,}$ $AUC_{0-24,}$ MRT, $T_{1/2}$, V_{ss} и Cl). Содержание ионов лития в сыворотке крови определяли колориметрическим методом с применением хинизарина. **Результаты и их обсуждение**. Выявлены токсические свойства препарата, выраженные в изменении клинического состояния (рвота после введения, угнетение поведения и отказ от корма), отрицательной динамике массы тела, клинико-лабораторных изменениях, укорочении интервала «QT», сопровождавшиеся отклонениями по результатам патоморфологического исследования (очаговая инфильтрация, с единичными очагами некроза почечных канальцев, очаги фиброза в почках, замещение ткани щитовидной железы жировой тканью). Признаков местнораздражающего действия тестируемого препарата не обнаружено. Для оценки параметров токсикокинетики разработана и валидирована биоаналитическая методика (калибровочный диапазон – от 0,17 до 5,45 мкг/мл), не уступающая по своим характеристикам коммерческим наборам реагентов. По результатам анализа биоматериала установлено отсутствие кумуляции лития в организме карликовых свиней при многократном применении тестируемого препарата. Выявлены дозы препарата, обеспечивающие токсические концентрации лития (выше 3 мкг/мл) в сыворотке крови карликовых свиней. Установлена доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (NOAEL), составившая 12,6 мг/кг, и наименьшая доза, оказывающая нежелательный эффект (LOAEL) – 29,4 мг/кг. **Заключение**. Отмечена целесообразность комплексного подхода к рассмотрению токсических проявлений и токсикокинетики, включая аналитическую составляющую исследований такого рода. Полученные результаты необходимо принимать во внимание для оценки соотношения польза/риск при клиническом применения инъекционного препарата лития хлорида.

Ключевые слова: лития хлорид, многократное внутривенное введение, токсические свойства, местная переносимость, биоаналитическая методика, сыворотка крови, колориметрический метод с хинизарином.

Конфликт интересов. Существует потенциальный конфликт интересов в силу финансирования данной научной работы компанией ООО «ЭЮЦ Клиник». Однако при написании статьи авторы руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «ЭЮЦ Клиник», Россия в рамках реализации научно-исследовательской работы «Полиорганная дисфункция и недостаточность при критических состояниях – ведущие механизмы развития, новые методы диагностики и лечения», № FGWS-2022-0001, государственное задание № 075-00784-22-03.

Автор для переписки: Косман В.М., e-mail: kosmanvm@mail.ru

Для цитирования: Косман В.М., Романенко А.Ю., Карлина М.В., Фаустова Н.М., Мазукина Е.В., Кузовлев А.Н., Гречко А.В., Черпаков Р.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Оценка безопасности и токсикокинетики препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):114–127. doi: 10.18699/SSMJ20240611

Evaluation of lithium chloride safety and toxicokinetics for injection in minipigs

V.M. Kosman[1], A.Yu. Romanenko[1], M.V. Karlina[1], N.M. Faustova[1], E.V. Mazukina[1], A.N. Kuzovlev[2], A.V. Grechko[2], R.A. Cherpakov[2, 3], M.N. Makarova[1], V.G. Makarov[1]

[1] *Research-and-manufacturing company "HOME OF PHARMACY"*
188663, Leningrad region, Vsevolozhsky district, Kuzmolovsky urban-type settlement, Zavodskaya st., 3/245
[2] *Federal Scientific and Clinical Center for Resuscitation and Rehabilitation*
141534, Moscow region, Solnechnogorsk, Lytkino vlg., 777
[3] *N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine*
129090, Moscow, Bolshaya Sukharevskaya sq., 3

Abstract

Lithium salts are known to treat bipolar disorder. Their high potential as neuroprotective agents in cerebral ischemia determines relevance for preclinical studies for the registration of new drugs based on them. Aim of the study was to investigate the toxic properties and local tolerability with an assessment of the toxicokinetics of the developed lithium chloride preparation for injection in dwarf pigs with repeated intravenous administration. **Material and methods.** Lithium chloride (solution, for intravenous administration 4.2 %) has been administered to minipigs (control and 3 experimental groups of animals of 3 males and 3 females) for 28 days at doses of 12.6; 29.4 and 63 mg/kg. General toxicity, local irritation, and basic pharmacokinetic parameters (C_{max}, AUC_{0-24}, MRT, $T_{1/2}$, V_{ss}, and Cl) were evaluated. Serum lithium ion concentration was estimated colorimetrically using quinizarin. **Results and discussion.** Toxic properties of the test drug were revealed, expressed in a change in the clinical state (vomiting after administration, inhibition of behavior and feed refusal), body weight negative dynamics, clinical and laboratory changes, shortening of the "QT" interval, accompanied by abnormalities according to the pathomorphological study results (focal infiltration with single renal tubular necrosis areas, kidneys fibrosis, replacement of thyroid tissue with adipose tissue). There were no signs of locally irritating effects of the test product. To evaluate toxicokinetic parameters, a bioanalytical assay (calibration range – from 0.17 to 5.45 μg/mL) was developed and validated, which is not inferior by its characteristics to the commercial reagent kits. According to the results of biomaterial analysis no lithium accumulation in the pig's body was found with repeated use of the test drug. Doses of the drug that provide toxic concentrations of lithium (above 3 μg/ml) in the minipig's serum were identified. The NOAEL was 12.6 mg/kg and the LOAEL was 29.4 mg/kg. **Conclusions**. The comprehensive approach to the consideration of toxic manifestations and toxicokinetics, including its analytical component of studies of this kind, was noted. The obtained results should be taken into account to assess the benefit/risk ratio in the clinical use of lithium chloride injection.

Key words: lithium chloride, repeated intravenous injection, toxicity, local tolerability, bioanalytical assay, serum, colorimetric method with quinizarin.

Conflict of interest. There is a potential conflict of interest due to the financial support of this study by JSC "EYTS Clinic", Russia. However, when writing the article, the authors were guided by considerations of the scientific value of the material obtained; the authors declare their impartiality in its assessment.

Financing. The work was supported by JSC "EYTS Clinic", Russia as part of the implementation of the research work "Multiple organ dysfunction and insufficiency in critical conditions – leading mechanisms of development, new methods of diagnosis and treatment", № FGWS-2022-0001, state assignment № 075-00784-22-03.

Correspondence author: Kosman V.M., e-mail: kosmanvm@mail.ru

Citation: Kosman V.M., Romanenko A.Yu., Karlina M.V., Faustova N.M., Mazukina E.V., Kuzovlev A.N., Grechko A.V., Cherpakov R.A., Makarova M.N., Makarov V.G. Evaluation of lithium chloride safety and toxicokinetics for injection in minipigs. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):114–127. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240611

Введение

Соли лития являются одним из наиболее изученных препаратов для лечения биполярного расстройства. Уже более 50 лет в клинической практике используют лития хлорид, лития карбонат, лития оксибутират и лития цитрат в качестве нормотимиков при различных аффективных расстройствах [1–2]. Отмечены и иные аспекты психотропной активности, в частности, ноотропные свойства ряда литийсодержащих соединений [3]. Вместе с тем литий, возможно, является потенциальным функциональным антагонистом ионов Ca^{2+} и Mg^{2+}, обладает нейропротекторными свойствами при дисбалансе стресс-лимитирующих и стресс-реализующих систем, эксайтотоксичности и нейродегенеративных состояниях [4–6], перспективен для профилактики и лечения нейродегенеративных заболеваний (в первую очередь болезни Альцгеймера), поиска безопасных и эффективных его солей с использованием хемореактомного анализа [7].

Отмечен высокий потенциал солей лития как нейропротекторов при ишемиях головного мозга [8–10]. Применение гипертонического раствора хлорида лития (4,2 %) при развитии отеков головного и спинного мозга на фоне инсульта, перенесенной травмы или в результате токсического повреждения приводило к значимому снижению отечности нервной ткани и объему очага инфаркта, что способствовало дальнейшему благоприятному течению заболеваний [11]. Защитное действие 4,2%-го раствора лития хлорида в дозе 30 мг/кг в отношении кардиомиоцитов на модели инфаркта миокарда у крыс заключалось в уменьшении зоны инфаркта в сравнении с контрольными животными и, вероятно, было опосредовано практически двукратным ростом содержания фосфорилированной формы киназы гликогенсинтазы-3β в миокарде [12]. Применение хлорида лития в дозе 63 мг/кг на фоне моделирования ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга [13] снижало летальность, выраженность неврологического дефицита в остром периоде ишемического инсульта и может быть связано с влиянием на данную киназу. В случае COVID-19 отмечены пульмонопротекторные (цитопротекторные) эффекты применения карбоната лития, приводившие к значимому уменьшению вовлеченности легочной ткани в воспалительный процесс [14].

Установлена иммуномодулирующая роль хлорида лития в контексте воспалительных заболеваний [15]. Фосфорилирование GSK-3β, вероятно, является основным механизмом защиты эндотелия, благоприятные эффекты *in vitro* отмечены уже при использовании достаточно небольших концентраций (от 0,01 ммоль/л), способствовавших лучшей сохранности монослоя эндотелиоцитов [16–20]. Также применение раствора хлорида лития с концентрацией 3 мМ позволило сохранить уровень спонтанного апоптоза нейтрофилов, снижение которого на фоне системной воспалительной реакции является одним из основных факторов тканевого воспаления [21, 22].

В РФ и других странах ЕАЭС гипертонический раствор хлорида лития не зарегистрирован как лекарственный препарат. Одним из необходимых этапов для регистрации лекарственного препарата является доклиническая оценка его безопасности, фармако- и токсикокинетики, что особенно актуально с учетом узкого терапевтического окна, характерного для препаратов лития [2]. Целью данного исследования являлось изучение токсических свойств и местной переносимости с оценкой токсикокинетики разрабатываемого препарата лития хлорида для инъекционного введения на карликовых свиньях при многократном внутривенном введении.

Материал и методы

Все исследования выполнены в соответствии с рекомендациями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, одобрены на заседании биоэтической комиссии НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (протокол № 1.23/22 от 01.06.2022).

Животные

В эксперименте использованы карликовые свиньи обоих полов (питомник АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ») в возрасте около 1,5–3,5 года. Животных содержали в стандартных условиях согласно регуляторным документам (директиве 2010/63/EU, санитарно-эпидемиологическим правилах СП 2.2.1.3218-14). Животные получали корм (по ГОСТ Р 52255-2004) с добавлением воды (влажный тип кормления) и докорм; были лишены утренней порции корма перед проведением наркотизации для ЭКГ и эвтаназией.

Тестируемый препарат, способ введения и выбор доз

В работе тестировался лития хлорид, раствор для внутривенного введения 4,2 % (АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», Россия, стадия фармацевтической разработки). Согласно патенту [11], максимальная доза гипертонического раствора соли лития – 4 мл/кг 4,2 % раствора (168 мг/кг соли лития). Максимальный объем однократного

струйного внутривенного введения карликовым свиньям составил 2,5 мл/кг (105 мг/кг, доза была принята за максимальную). По результатам пилотного исследования для основного эксперимента выбраны дозы 63 мг/кг (1,5 мл/кг), 29,4 мг/кг (0,7 мл/кг) и 12,6 мг/кг (0,3 мл/кг).

Дизайн исследования по оценке безопасности

В основу положены актуальные биоэтические нормы и ключевые принципы «3R», направленные на минимизацию количества животных, что определило комплексный характер эксперимента, по ряду элементов аналогичный исследованиям со схожими целями и задачами (например, [23–25]).

В исследовании участвовали четыре группы животных (по три самца и три самки в каждой группе), которые получали тестируемый препарат в дозах 12,6, 29,4 и 63 мг/кг соответственно (группы 2, 3 и 4) 1 раз/сут в течение 28 сут ежедневно. Два животных из экспериментальной группы, получавших тестируемый препарат в максимальной дозе (группа 4), были на отсроченном наблюдении (28 сут). Контрольные животные (группа 1) получали внутривенно носитель (натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9 %, ООО «Мосфарм», Россия) в объеме, соответствующем объему введения максимальной дозы тестируемого препарата.

Клиническое наблюдение за животными, направленное на регистрацию развития сроков интоксикации, проводили ежедневно в течение часа с момента введения исследуемого объекта, клинический осмотр и взвешивание (весы платформенные, электронные ВПА-100-1, ЗАО «ВИК «Тензо-М», Россия) – еженедельно. До начала эксперимента (–1 день), на 28-е и 55-е сутки у животных забирали кровь для выполнения клинического анализа (гематологический анализатор Mythic 18 Vet (Orphee SA, Швейцария), измерения параметров гемостаза (коагулометр АПГ4-02-П, ООО «ЭМКО», Россия, определяли протромбиновое время и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ)) и биохимических показателей (биохимический анализатор Random Access A-25, BioSystems, Испания, реагенты фирмы BioSystems) [22–24]. Качественный физико-химический состав мочи, отобранной с помощью пункции мочевого пузыря при эвтаназии на 29-е и 56-е сутки, исследовали по содержанию крови, белка, глюкозы, билирубина, относительной плотности (рефрактометр AMTAST VUR3T, AMTAST, США) и pH (диагностические тест-полоски, DF, Китай). Параметры ЭКГ, частоту сердечных сокращений определяли до введения, на 27-е и на 54-е сутки (по окончании периода отсроченного наблюдения). Животных предварительно наркотизировали и регистрировали ЭКГ (компьютерный электрокардиограф для ветеринарии «Поли-спектр-8В», ООО «Нейрософт», Россия) в течение одной минуты (анализировали в отведении II). Оценивали частоту сердечных сокращений, RR, P, PQ, QRS, QT.

Всех животных групп 1–3, а также трех самцов и три самки из группы 4 выводили из эксперимента на 29-е сутки, оставшихся (двух самцов из группы 4) – на 56-е сутки, эвтаназию осуществляли оглушением электрическим разрядом с последующим перерезанием основных магистральных сосудов. Патоморфологическое исследование всех экспериментальных животных включало некропсию – оценку внешних патологических признаков, состояние грудной и брюшной полости, макро- и микроскопическое исследование внутренних органов. Для оценки местной переносимости (местнораздражающего действия) исследуемого объекта в ходе клинического осмотра и некропсии визуально оценивали состояние кожных покровов (покраснение, отечность, изменение цвета) в месте введения и тканей, непосредственно контактировавших с ним (краевой вены уха) при гистологическом исследовании.

Токсикокинетическое исследование

Фармакокинетические параметры оценивали в крови у всех животных. Образцы крови забирали в первый и последний дни введения исследуемого объекта (с помощью катетера, предварительно установленного в яремную вену) в объеме 1,0 мл на точку экспозиции в 10 временных точках (0 мин или до введения, через 5 мин, 15 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч, 4 ч, 6 ч, 8 ч и 24 ч после введения) в пробирки с активатором свертывания и разделительным гелем, образцы центрифугировали (15 мин при 3000 об/мин, 1480 g, «Дастан», Киргизия) для получения сыворотки.

Определение содержания лития в сыворотке крови карликовых свиней выполнено колориметрическим методом по специально разработанной и валидированной биоаналитической методике. Для выполнения анализа готовили калибровочные растворы с концентрацией ионов лития 5,45, 2,73, 1,56, 0,68, 0,34, 0,17 и 0 мкг/мл ионов лития. Для оценки валидационных параметров использовали образцы для контроля качества (КК) (модельные смеси, полученные на основе сыворотки крови интактных животных) четырех уровней концентраций ионов лития, которые готовили независимо от калибровочных образцов, используя предварительно приготовленные сток-растворы ионов лития.

При измерении содержания лития в лунки глубоколуночного планшета (Algimed Techno, Бе-

лоруссия) вносили предварительно приготовленную реакционную смесь (содержащую раствор гидроксида натрия, раствор карбоната натрия и воду очищенную), каждый из калибровочных растворов, образцов для КК или анализируемых образцов (экспериментальные пробы сыворотки крови предварительно разводили водой очищенной) и раствор диметилсульфоксида. Содержимое планшетов перемешивали на термостатируемом шейкере ST-3L (ELMI, Латвия) 2 мин при 600 об/мин, вносили во все лунки раствор хинизарина и инкубировали 30 мин при температуре 25 °C и перемешивании 600 об/мин на шейкере ST-3L. Затем содержимое каждой лунки в дублях переносили в планшет для детекции (Aptaca, Италия) и измеряли оптическую плотность при длине волны 601 нм (многофункциональный микропланшетный анализатор CLARIOstar, BMG Labtech, ФРГ). Для расчета использовали программное обеспечение Microsoft Office Excel с построением зависимостей оптических плотностей растворов от концентрации ионов лития в сыворотке крови, линеаризованных с применением десятичного логарифма концентрации

Анализ данных

Для всех данных применена описательная статистика: рассчитаны среднее значение (M), стандартная ошибка среднего (SEM), стандартное отклонение (SD). В связи с малой выборкой животных оценку экспериментальных данных при оценке токсичности проводили без статистического анализа, полученные показатели сравнивали с группой контроля, референсными показателями или исходными данными (фоновые значения, при их наличии).

Поскольку аналит является биогенным элементом, значения концентраций, полученные в «нулевой» точке (базовый уровень), вычитали из значений на всех остальных временных точках. Параметры фармакокинетики (C_{max}, AUC, MRT, $T_{1/2}$ Cl, Vss) рассчитаны внемодельным методом статистических моментов [26] с использованием валидированного приложения PKSolver для Microsoft Office Excel. Межгрупповые различия анализировали параметрическими (однофакторный дисперсионный анализ ANOVA, критерий Тьюки) или непараметрическими (критерий Краскела – Уоллиса) методами в зависимости от типа распределения данных. Для статистической оценки различий между фармакокинетическими параметрами в первый и последний дни введения в одной дозе для каждой из исследованных доз применены параметрические (двухвыборочный t-тест для средних) и непараметрические (тест Манна – Уитни) методы в зависимости от типа распределения данных. Различия определены при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ выполнен с помощью лицензированного программного обеспечения (GraphPad Prism 9, GraphPad Software, США).

Результаты

Токсические свойства

По результатам клинических наблюдений и осмотров признаки интоксикации у свиней зарегистрированы преимущественно при введении максимальной (63 мг/кг) дозы тестируемого препарата, наблюдали рвоту (после введения), угнетение поведения и отказ от корма. Встречаемость угнетения поведения выросла к концу периода введения и зарегистрирована почти у всех животных. На 15-й и 21-й день пало по одной самке из группы, получавшей максимальную дозу исследуемого препарата, непосредственной причиной смерти стала острая сердечная недостаточность. В период отсроченного наблюдения у самцов, получавших тестируемый препарат в максимальной дозе, клинически значимых отклонений в поведении и состоянии здоровья не зарегистрировано. На протяжении всего периода введения масса тела животных всех групп снижалась, наиболее выраженно – в группе 4 (в группах 1–3 – на 4–6 %, в группе 4 – на 10–13 %). В период отсроченного наблюдения у животных продолжали регистрировать отрицательную динамику массы тела.

Изменения гематологических показателей для всех животных не выходили за пределы значений референсных интервалов [27], их не рассматривали как клинически значимые и связанные с токсическим действием тестируемого препарата. Протромбиновое время находилось в пределах физиологической нормы (10,6–18,1 с); величина АЧТВ по окончании введений в группах 3 и 4 составляла 114–142 % относительно исходных данных и незначительно выходила за пределы физиологической нормы (9,0–17,8 с). По окончании периода отсроченного наблюдения изменений не выявлено, показатели находились в рамках физиологической нормы. На 28-й день отмечено изменение активности щелочной фосфатазы во всех группах относительно исходного уровня. Поскольку аналогичные изменения отмечены в группе контроля, показатели не выходили за пределы референсных значений [27], их не рассматривали как клинически значимые и связанные с токсическим действием тестируемого препарата. В период отсроченного наблюдения изменений не выявлено, показатели не выходили за рамки физиологической нормы. По окончании периода введения у самцов групп 3 и 4 белок в

моче встречался чаще (по результатам качественных реакций) и его содержание было больше (табл. 1), чем в группе 1 (для самок отличий по белку не выявлено). Остальные показатели не отличались от данных контрольной группы и физиологической нормы [27].

Тестируемый препарат не оказал клинически значимого влияния на показатели ЭКГ по окончании как периода введения, так и периода отсроченного наблюдения, за исключением укорочения интервала QT у самок группы 4 на 21 % по отношению к исходным данным. Влияния тестируемого препарата на массовые коэффициенты органов (сердце, легкие с трахеей, тимус, печень, селезенка, почки, надпочечники, головной мозг, семенники, яичники) не зарегистрировано. По результатам патоморфологического исследования выявлены очаговая инфильтрация с единичными очагами некроза почечных канальцев, очаги фиброза в почках, замещение ткани щитовидной железы жировой тканью. По данным патолого-анатомического и гистологического исследования установлено отсутствие местнораздражающего действия тестируемого препарата. По совокупности данных установлена доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (NOAEL), которая составила 12,6 мг/кг (0,3 мл/кг), и наименьшая доза, оказывающая нежелательный эффект (LOAEL), – 29,4 мг/кг (0,7 мл/кг).

Разработка и валидация методики количественного определения лития в сыворотке крови

Для количественного определения ионов лития в различных объектах могут быть использованы атомно-эмиссионная спектроскопия (пламенно-эмиссионная фотометрия) ([1], ПНДФ 14.1:2:4.138-9), масс-спектрометрия с индуктивно-связанной аргоновой плазмой (ИСП-МС), атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС), спектрофотометрия, колориметрия, флуориметрия, капиллярный электрофорез [28]. Литий является объектом лекарственного мониторинга, необходимого для обеспечения эффективности и безопасности фармакотерапии [6, 29]. В клинических лабораториях для этого используют методы ИСП-МС или ААС, предусматривающие наличие специального оборудования и имеющие ряд недостатков [28]. Альтернативным вариантом является применение специальных наборов реагентов, основанных преимущественно на колориметрических реакциях (например, патент [30], наборы (Lithium Assay Kit (Colorimetric), ab235613, Abcam, Великобритания; Lithium Assay Kit, Merck, США), работы [28, 31, 32]). В связи со сложностями поставки в РФ и высокой стоимостью коммерческих наборов реагентов нами использован колориметрический метод определения содержания ионов лития с хинизарином в щелочной среде в присутствии диметилсульфоксида [31, 33], для

Таблица 1. *Показатели общего анализа мочи самцов карликовых свиней по окончании периода введения тестируемого препарата*

Table 1. *Male minipig's urinalysis parameters values at the end of the test drug administration period*

Доза, мг/кг	Номер животного	Исследуемые показатели			
		Относительная плотность, г/мл	pH	Наличие белка	Содержание белка, мг/дл
0	1.1	1,060	6,75	–[1]	17,39
	1.2	1,020	6,5	++	86,07
	1.3	1,024	6,75	–	77,22
	M ± SEM	1,035 ± 0,013	6,67 ± 0,08		60,22 ± 21,57
12,6	2.1	1,082	6,75	–	17,56
	2.2	1,042	6,25	+++	361,69
	2.3	1,048	7,0	–	39,96
	M ± SEM	1,057 ± 0,012	6,67 ± 0,22		139,74 ± 111,17
29,4	3.1	1,080	6,5	+++	500,00
	3.2	1,054	6,5	+++	413,29
	3.3	1,038	6,75	–	72,277
	M ± SEM	1,057 ± 0,012	6,58 ± 0,08		328,52 ± 130,55
63	4.1	1,048	6,75	++	195,54
	4.2	1,038	5,75	++	142,55
	4.3	1,044	6,75	+++	500,00
	M ± SEM	1,043 ± 0,003	6,42 ± 0,33		279,36 ± 111,37

Примечание. Знаком «–» обозначен отрицательный результат, знаком «+» – положительный.

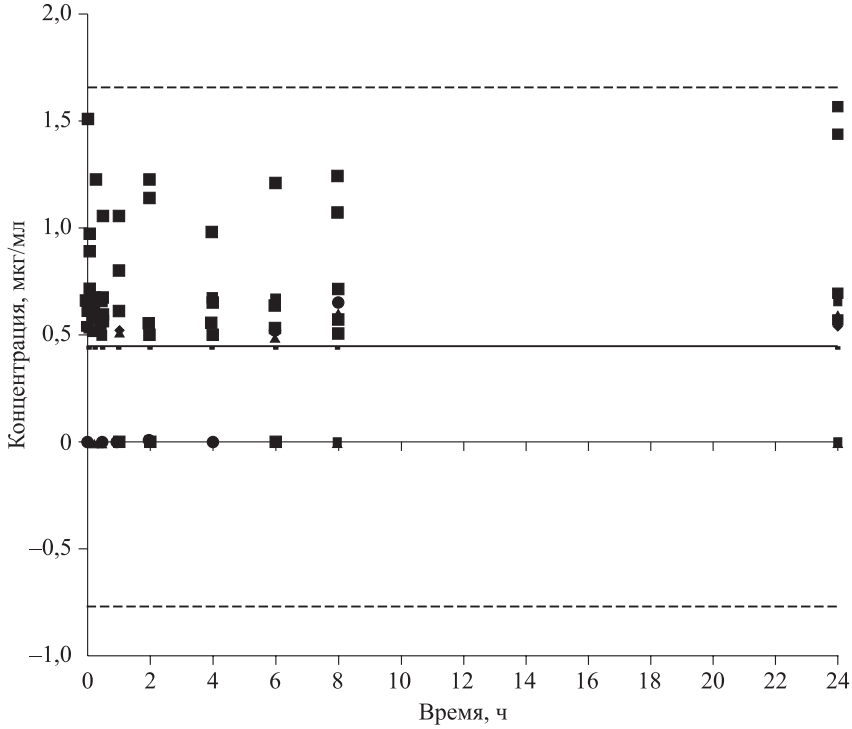
которого нижний предел количественного определения (НПКО) аналита (0,17 мкг/мл) и калибровочный диапазон (от 0,17 до 5,45 мкг/мл, соответствует диапазону 0,51–16,35 мкг/мл с учетом экспериментально установленного минимально необходимого разведения [34] в 3 раза) не уступали характеристикам коммерческих наборов реагентов (линейный диапазон от 0,1 до 2 ммоль/л лития в сыворотке крови человека (Lithium Assay Kit (Colorimetric), ab235613) соответствует диапазону 0,69–13,8 мкг/мл).

Методика определения лития в сыворотке крови карликовых свиней валидирована в соответствии с рекомендациями [35–37]. По результатам валидационных испытаний сделано заключение о селективности валидируемой методики, установлен ее калибровочный диапазон и НПКО, правильность (точность) и прецизионность внутри цикла и между циклами соответствовали требованиям регуляторных документов [35–37]. Ионы лития стабильны в сыворотке крови карликовых свиней при температуре 2–8 °C в течение не менее 48 ч и в условиях заморозки ниже –18 °C (не менее 14 дней), показана возможность разбавления проб перед анализом в 3–10 раз.

Оценка токсикокинетики

Литий был обнаружен в пробах, полученных до введения исследуемого препарата, а также на всех временных точках для животных группы 1, поскольку он является биогенным элементом. Среднее содержание лития в различных органах человека может составлять: в лимфоузлах – 200 мкг/г, в легких – 60 мкг/г, в печени – 7 мкг/г, в цельной крови – 6 мкг/г, в головном мозге – 4 мкг/г [38], в малых количествах обнаружен также в щитовидной железе, сердце, кишечнике, мышцах; выводится из организма преимущественно с мочой (до 95 %). Эндогенный уровень лития в сыворотке крови карликовых свиней составил 0,35–0,70 мкг/мл в первый день эксперимента и 0,18–0,50 мкг/мл в день последнего ведения тестируемого препарата.

Для группы 1 результаты объединены для однократного и многократного введения и представлены в форме контрольной карты [39], свидетельствовавшей, что изменения полученных значений концентрации лития носили характер колебаний вокруг одного уровня (рисунок), что подтверждало отсутствие контаминации проб в проведенном исследовании. Для тестируемого



Контрольная карта содержания лития в плазме крови карликовых свиней после однократного и многократного введения контрольного вещества (n = 6+6, средняя линия соответствует среднему значению, верхняя и нижняя пунктирные линии – верхней и нижней контрольной границе, определяемой как ± 3SD

Control card of Lithium mini-pig's plasma content after single and repeated control substance administration (n = 6+6, the middle line corresponds to the middle value, the upper and lower dashed lines correspond to the upper and lower reference boundaries defined as ± 3SD

препарата в исследованных дозах после однократного и многократного внутривенного введения наблюдали схожую форму фармакокинетической кривой, характерную для лекарственных препаратов, вводимых внутривенно.

После однократного введения препарата в трех дозах (табл. 2) обнаружены статистически значимые отличия параметра AUC_{0-24} (для доз 29,4 и 63 мг/кг), параметра C_{max} (для доз 12,6 и 29,4 мг/кг от дозы 63 мг/кг), параметров V_{ss} и Cl (для дозы 12,6 мг/кг от доз 29,4 и 63 мг/кг); параметры MRT и $T_{1/2}$ не имели статистически значимых отличий в зависимости от введенной дозы. Выявленные отличия могут быть связаны с индивидуальными особенностями животных и, вероятно, не будут иметь клинической значимости. Основные фармакокинетические данные лития после многократного введения препарата в трех дозах (см. табл. 2) не имели статистически значимых отличий в зависимости от введенной дозы. При сопоставлении фармакокинетических данных, полученных после однократного и многократного введения тестируемого препарата в дозах 12,6, 29,4 и 63 мг/кг, не выявлено статистически значимых отличий ни для одного из оцениваемых параметров (кроме параметра C_{max} для дозы 29,4 мг/кг). Учитывая отсутствие значимых отличий по другим параметрам, этот факт, вероятно, не будет иметь клинической значимости.

В целом при многократном введении исследованного препарата в дозах 12,6, 29,4 и 63 мг/кг средние максимальные концентрации лития в сыворотке крови карликовых свиней составили около 2,6–14,7 мкг/мл. При сопоставлении данных по содержанию ионов лития в сыворотке крови и отмеченным признакам токсического действия препарата у каждого животного сделан вывод, что в концентрации более 3 мкг/мл они могут оказывать токсическое действие на организм. По данным [6, 40], токсичным для организма человека является уровень лития в крови выше 1,2 ммоль/л (8,26 мкг/мл), наступление смерти возможно при его содержании более 2 ммоль/л (13,8 мкг/мл); при многолетней литиевой терапии биполярного расстройства в дозах, обеспечивающих концентрацию лития 0,5–0,8 ммоль/л (3,45–5,52 мкг/мл), появляются хронические проблемы с функцией почек, щитовидной и паращитовидной железы. Поскольку побочные эффекты терапии литием у человека можно наблюдать уже при терапевтической концентрации, до начала лечения и после шести месяцев терапии рекомендована оценка функции почек, щитовидной железы, уровня кальция в крови, массы тела и ЭКГ [6] из-за того, что литий способен снижать реабсорбцию натрия (влечет снижение почечной функции и повышение содержания лития в организме) и повышать реабсорбцию кальция (гиперакальциемия активирует синтез паратиреоидного гормона); частым побочным эффектом терапии литием является увеличение уровня тиреоидных аутоантител с развитием как тиреотоксикоза, так и гипотиреоза [41].

Эти направления возможного токсического действия были в фокусе нашего исследования и их проявления (например, повышение белка в моче, свидетельствующее о потенциальном нарушении функции почек, изменение интервала QT, которое может быть индикатором работы сердца, сопровождаемые увеличением уровня лития в крови по сравнению с нативным) были зафиксированы при оценке токсических свойств, местной переносимости и токсикокинетики разрабатываемого препарата. В предыдущих исследованиях фармакокинетики лития [42, 43] изучены преимущественно лекарственные формы для перорального применения и терапии биполярных расстройств. Отметим, что в период активных исследований препаратов лития (примерно во второй половине

Таблица 2. *Показатели фармакокинетики лития в сыворотке крови карликовых свиней после однократного и многократного (28 дней) внутривенного введения тестируемого препарата в различных дозах (n = 6, M ± SD)*

Table 2. *Mini-pig serum lithium pharmacokinetics after single and repeated (28 days) intravenous test drug application in various doses (n = 6, M ± SD)*

Доза, мг/кг	C_{max}, мкг/мл	AUC_{0-24}, ч×мкг/мл	V_{SS}, мл/кг	MRT, ч	$T_{1/2}$, ч	Cl, мл/кг×ч
1-е введение						
12,6	2,6 ± 0,4	9,1 ± 5,6	12,8 ± 10,3	15,2 ± 16,4	11,1 ± 13,0	1,2 ± 0,7
29,4	2,9 ± 0,5	6,3 ± 3,1	20,8 ± 6,0	4,8 ± 2,9	3,6 ± 1,9	5,3 ± 2,9
63,0	7,5 ± 4,3	15,5 ± 6,9	38,1 ± 14,8	11,2 ± 4,9	8,5 ± 2,6	4,1 ± 2,8
28-е введение						
12,6	11,7 ± 21,7	9,5 ± 8,1	9,7 ± 6,6	9,4 ± 12,3	7,0 ± 9,1	1,8 ± 1,6
29,4	11,5 ± 9,2	9,0 ± 3,4	11,7 ± 1,9	0,7 ± 1,5	2,0 ± 1,7	3,5 ± 2,7
63,0	14,7 ± 20,5	15,5 ± 9,4	23,2 ± 9,9	5,6 ± 3,6	5,3 ± 3,3	5,2 ± 3,8

XX в.) свиньи были в числе лабораторных моделей изучения токсичности и фармакокинетики, что позволило получить данные, близкие результатам у человека [44, 45]. Это является дополнительным свидетельством релевантности тест-системы, выбранной в данном исследовании.

По результатам проведенного исследования выявлены токсические свойства тестируемого препарата хлорида лития, выраженные в изменении клинического состояния (рвота после введения, угнетение поведения и отказ от корма), отрицательной динамике массы тела, клинико-лабораторных изменениях (удлинение АЧТВ, повышение содержания белка в моче самцов), укорочении интервала QT. При патоморфологическом исследовании по окончании периода введения обнаружены очаговая инфильтрация с единичными очагами некроза почечных канальцев, очаги фиброза в почках, замещение ткани щитовидной железы жировой тканью. Признаков местнораздражающего действия тестируемого препарата не установлено.

Оценены параметры токсикокинетики действующего вещества после однократного и многократного введения карликовым свиньям инъекционного препарата лития хлорида. Не выявлено контаминации проб, полученных от животных контрольной группы; не установлено кумуляции лития в организме карликовых свиней при многократном применении тестируемого препарата. Средние максимальные концентрации лития в сыворотке крови карликовых свиней при многократном введении исследованного препарата составили около 2,6–14,7 мкг/мл; концентрация лития более 3 мкг/мл может быть отнесена к токсической, поскольку у животных в ходе эксперимента наблюдали токсические проявления. По совокупности данных установлена доза, не оказывающая видимого нежелательного эффекта (NOAEL), – 12,6 мг/кг (0,3 мл/кг), и наименьшая доза, оказывающая нежелательный эффект (LOAEL), – 29,4 мг/кг (0,7 мл/кг).

Заключение

Данная работа иллюстрирует целесообразность комплексного подхода к исследованиям токсичности и безопасности разрабатываемых лекарственных средств, поскольку изучение токсикокинетики, включая ее аналитическую составляющую (биоаналитическую методику), является составной частью исследований такого рода. Полученные результаты целесообразно принимать во внимание для оценки соотношения польза/риск при клиническом применения инъекционного препарата лития хлорида.

Список литературы

1. Королев М.А., Коненков В.И., Рачковская Л.Н., Ершов К.И., Байкалов Г.И., Байкалова Н.Е., Бахарева К.И., Мадонов П.Г. Изучение фармакокинетических параметров нового нормотимического лекарственного средства на основе комплекса цитрата лития, оксида алюминия и полиметилсилоксана. *Сиб. науч. мед. ж.* 2019;39(6):14–21. doi: 10.15372/SSMJ20190602

2. Королев М.А., Рачковская Л.Н., Мадонов П.Г., Шурлыгина А.В., Рачковский Э.Э., Летягин А.Ю., Коненков В.И., Чурин А.А., Дубская Т.Ю., Ветошкина Т.В., Сандрикина Л.А., Фомина Т.И., Федорова Е.П. Оценка острой токсичности лекарственного средства на основе комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана, оксида алюминия**.** *Сиб. науч. мед. ж.* 2020;40(5):46–52. doi: 10.15372/SSMJ20200505

3. Шилов Г.Н., Шабанов П.Д., Шадыро О.И. Когнитивный и противогипоксический компоненты в ноотропном эффекте Li-солей основных тормозных аминокислот в сравнении с антигипоксантами с пирокатехиновой структурой. *Мед. новости*. 2017;(3):58–61.

4. Архипов В.И., Капралова М.В., Першина Е.В. Эксайтотоксичность и экспериментальные подходы к нейропротекции. *Соврем. пробл. науки и образ*. 2013;(5):486.

5. Беленичев И.Ф., Черний В.И., Нагорная Е.А., Павлов С.В., Черний Т.В., Горчакова Н.А., Бухтиярова Н.В., Андронова И.А., Кучеренко Л.И. Нейропротекция и нейропластичность. Киев: Полиграф плюс, 2014. 512 с.

6. Лосенков И.С., Плотников Е.В., Епимахова Е.В., Бохан Н.А. Литий в психофармакологии аффективных расстройств и механизмы его эффектов на клеточную физиологию. *Ж. неврол. и психиатрии*. 2020;120(11):108–115. doi: 10.17116/jnevro2020120111108

7. Гоголева И.В., Громова О.А., Торшин И.Ю., Гришина Т.Р., Пронин А.В. Нейробиологическая роль солей лития. *Ж. неврол. и психиатрии*. 2022; 122(11):17–23. doi: 10.17116/jnevro202212211117

8. Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лихванцев В.В. Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии/реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. *Общ. реаниматол*. 2013;9(1):63. doi: 10.15360/1813-9779-2013-1-63

9. Пронин А.В., Громова О.А., Торшин И.Ю., Стельмашук Е.В., Александрова О.П., Генрихс Е.Е., Хаспеков Л.Г. О нейропротективных свойствах солей лития в условиях глутаматного стресса. *Неврол., нейропсихиатрия, психосоматика*. 2017;

9(3):111–119. doi:10.14412/2074-2711-2017-3-111-119

10. Черпаков Р.А., Гребенчиков О.А. Влияние концентрации хлорида лития на его нейропротекторные свойства при ишемическом инсульте у крыс. *Общ. реаниматол*. 2021;17(5):101–110. doi: 10.15360/1813-9779-2021-5-101-110

11. Плотников Е.Ю., Зоров Д.Б., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лихванцев В.В., Силачев Д.Н., Мороз В.В. Лечение отеков головного и спинного мозга ишемического, травматического токсического и инфекционного генеза с помощью гипертонического раствора солей лития. Пат. 021560B1 EA. Опубл. 30.07.2015.

12. Гребенчиков О.А., Лобанов А.В., Шайхутдинова Э.Р., Кузовлев А.Н., Ершов А.В., Лихванцев В.В. Кардиопротекторные свойства хлорида лития на модели инфаркта миокарда у крыс. *Патол. кровообращения и кардиохирургия*. 2019;23(2):43–49. [In Russian]. doi: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49

13. Гребенчиков О.А., Черпаков Р.А., Евсеев А.К., Ершов А.В., Кузовлев А.Н., Лончинский П.А., Петриков С.С., Шабанов А.К. Влияние хлорида лития на летальность и неврологический дефицит при ишемическом инсульте у крыс. *Неотлож. мед. помощь*. 2021;10(4):676–686. doi: 10.23934/2223-9022-2021-10-4-676-686

14. Гребенчиков О.А., Кузовлев А.Н., Баева А.А. О перспективах применения лития хлорида при новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Анестезиол. и реаниматол*. 2020;6(2):40–44. doi: 10.17116/anaesthesiology202006240

15. Raghavendra P.B., Lee E., Parameswaran N. Regulation of macrophage biology by lithium: a new look at an old drug. *J. Neuroimmune Pharmacol*.2014;9(3):277–284. doi: 10.1007/s11481-013-9516-y

16. Doeppner T.R., Kaltwasser B., Sanchez-Mendoza E.H., Caglayan A.B., Bähr M., Hermann D.M. Lithium-induced neuroprotection in stroke involves increased miR-124 expression, reduced RE1-silencing transcription factor abundance and decreased protein deubiquitination by GSK3β inhibition-independent pathways. *J. Cereb. Blood Flow Metab*.2017;37(3):914–926. doi: 10.1177/0271678X16647738

17. Taliyan R., Ramagiri S. Delayed neuroprotection against cerebral ischemia reperfusion injury: putative role of BDNF and GSK-3β. *J. Recept. Signal Transduct. Res*.2016;36(4):402–410. doi: 10.3109/10799893.2015.1108338

18. Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Мешков М.А., Долгих В.Т., Прокофьев М.Д., Шпичко Н.П., Ершов А.В. Влияние хлорида лития на эндотелиоциты при синдроме системной воспалительной реакции у пациентов с тяжелой сочетанной травмой. *Вестн. интенсив. терапии*. 2020;(3):115–121. doi: 10.21320/1818-474X-2020-3-115-121

19. Гребенчиков О.А., Долгих В.Т., Прокофьев М.Д., Касаткина И.С., Ершов А.В. Протективный эффект лития хлорида на эндотелиоциты при септическом шоке. *Общ. реаниматол.* 2020;16(3):94–105. doi: 10.15360/1813-9779-2020-3-94-105

20. Черпаков Р.А., Кузовлев А.Н., Макаревич Д.Г., Лобанов А.В., Ершов А.В., Гребенчиков О.А. Влияние различных концентраций хлорида лития на уровень p-GSK-3β в модели ишемического инсульта. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 2021;65(4):26–33. doi: 10.25557/0031-2991.2021.04.26-33

21. Гребенчиков О.А., Касаткина И.С., Каданцева К.К., Мешков М.А., Баева А.А. Влияние лития хлорида на активацию нейтрофилов под действием сыворотки пациентов с септическим шоком (экспериментальное исследование). *Общ. реаниматол.* 2020;16(5):45–55. doi: 10.15360/1813-9779-2020-5-45-55

22. Гребенчиков О.А., Касаткина И.С., Кузовлев А.Н., Лобанов А.В., Ершов А.В. Влияние хлорида лития на активацию нейтрофилов при развитии синдрома системного воспалительного ответа у пациентов после операций на сердце с использованием аппарата искусственного кровообращения. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 2020;64(4):47–53. doi: 10.25557/0031-2991.2020.04.47-53

23. Мазукина Е.В., Шекунова Е.В., Косман В.М., Уракова И.Н., Котельникова И.Г., Фонарев М.Ю., Ежова Е.А., Закалюкина Е.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Изучение эффективности и безопасности препарата Хондроитин сульфат в доклинических исследованиях. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2021;9(1):43–57. doi: 10.30895/2312-7821-2021-9-1-43-57

24. Вавилова В.А., Шекунова Е.В., Джайн Е.А., Балабаньян В.Ю., Озеров А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Экспериментальное изучение токсических свойств препарата VMU-2012-05 – оригинального ненуклеозидного ингибитора обратной транскриптазы ВИЧ-1. *Фармация и фармакол.* 2021;9(3):205–221. doi:10.19163/2307-9266-2021-9-3-205-221

25. Косман В.М., Карлина М.В., Мазукина Е.В., Глобенко А.А., Джайн Е.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Изучение безопасности и токсикокинетики препарата эзомепразол в доклинических исследованиях. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2023;11(2):176–190. doi:10.30895/2312-7821-2023-11-2-342

26. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2010;99(3):306–314. doi: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007

27. Swine in the laboratory: surgery, anesthesia, imaging, and experimental techniques. Eds.: M.M. Swindle, A.C. Smith. Boca Raton: CRC press, 2007. 496 p.

28. Sheikh M., Qassem M., Triantis I.F., Kyriacou P.A. Advances in therapeutic monitoring of lithium in the management of bipolar disorder. *Sensors (Basel)*. 2022;22(3):736. doi: 10.3390/s22030736

29. Nederlof M., Heerdink E.R., Egberts A.C.G., Wilting I., Stoker L.J., Hoekstra R., Kupka R.W. Monitoring of patients treated with lithium for bipolar disorder: an international survey. *Int. J. Bipolar Disord*. 2018;6(1):12. doi: 10.1186/s40345-018-0120-1

30. Ивабути Е., Одасима Ц. Композиции реактивов для определения лития и способ и устройство для определения количества ионов лития с ее использованием. Пат. JP2012087928A/RU2014144680. Опубл. 20.12.2015.

31. Qassem M., Hickey M., Kyriacou P.A. Colorimetric determinations of lithium levels in drop-volumes of human plasma for monitoring patients with bipolar mood disorder. *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc*. 2016;2016:5160–5163. doi: 10.1109/EMBC.2016.7591889

32. Kim J.H., Diamond D., Lau K.T. Development of portable device for monitoring the lithium level from bipolar disorder patients. *2011 5th International Conference on Pervasive Computing Technologies for Healthcare (PervasiveHealth) and Workshops:* proc. conf., 23–26 May 2011. Dublin. 2011. P. 230–233.

33. Gracia L.G., Rodríguez L.C., Ceba M.R. Spectrophotometric determination of lithium with quinizarin in drugs and serum. *Talanta*. 1997;44(1):75–83. doi: 10.1016/s0039-9140(96)02018-8

34. Карлина М.В., Косман В.М., Абрамович Р.А., Арчакова О.А., Барыбина Т.Н., Власенко Ю.В., Гузеватых Л.С., Ковалева Е.Л., Корель А.В., Кощиц Д.В., … Тулегенова А.У. Риск-ориентированный подход к созданию лекарственного препарата. *В кн.: Консультант GLP-Planet 2023. Мнение фармацевтической отрасли*. СПб.: Дом Фармации, 2023. С. 47–74.

35. Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for veterinary medicine 2018:41.

36. Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London: Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2011. P. 22.

37. Решение Совета ЕЭК № 85 от 03.11.16 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза». Приложение № 6 «Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов». 2016. Режим доступа: https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0085/

38. Бочкарева И.И., Дьякова И.Н. Роль биогенных элементов в организме человека и применение их в медицине и фармации: учебное пособие для студентов фармацевтического факультета. Майкоп: Качество, 2016. 127 с.

39. ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015. Статистические методы. Контрольные карты. Контрольные карты Шухарта. 2015. 46 с.

40. Jakobsson E., Argüello-Miranda O., Chiu S.W., Fazal Z., Kruczek J., Nunez-Corrales S., Pandit S., Pritchet L. Towards a unified understanding of lithium action in basic biology and its significance for applied biology. *J. Membr. Biol.* 2017;250(6):587–604. doi: 10.1007/s00232-017-9998-2

41. Fairbrother F., Petzl N., Scott J., Kisely S. Lithium can cause hyperthyroidism as well as hypothyroidism: A systematic review of an under-recognised association. *Aust. N. Z. J. Psychiatry*. 2019;53(5):384–402. doi: 10.1177/0004867419833171

42. Wen J., Sawmiller D., Wheeldon B., Tan J. A review for lithium: pharmacokinetics, drug design, and toxicity. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. 2019;18(10):769–778. doi: 10.2174/1871527318666191114095249

43. Couffignal C., Chevillard L., El Balkhi S., Cisternino S., Declèves X. The pharmacokinetics of lithium. *In book: The Science and Practice of Lithium Therapy*. Springer: Cham, 2017. P. 25–53. doi: 10.1007/978-3-319-45923-3_2

44. McGlone J.J., Kelley K.W., Gaskins C.T. Lithium and porcine aggression. *J. Anim. Sci*. 1980;51(2):447–455. doi: 10.2527/jas1980.512447x

45. Mormede P., Dantzer R. Pharmacokinetics of lithium in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*.1978;1:309–312. doi: 10.1111/j.1365-2885.1978.tb00344.x

References

1. Korolev M.A., Konenkov V.I., Rachkovskaya L.N., Ershov K.I., Baykalov G.I., Baykalova N.E., Bakhareva K.I., Madonov P.G. Studying the pharmacokinetic parameters of new normothymic drug based on the complex of lithium citrate, aluminum oxide and polymethylsiloxane. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2019;39(6):14–21. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190602

2. Korolev M.A., Rachkovskaya L.N., Madonov P.G., Shurlygina A.V., Rachkovsky E.E., Letyagin A.Yu., Konenkov V.I., Churin A.A., Dubskaya T.Yu., Vetoshkina T.V., Sandrikina L.A., Fomina T.I., Fedorova E.P. Estimation of acute toxicity of a drug based on the complex of lithium citrate, polymethylsiloxane, aluminum oxide. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2020;40(5):46–52. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200505

3. Shilov G.N., Shabanov P.D., Shadyro O.I. Cognitive and antihypoxic components in the nootropic effect of the li-solts of the main inhibitor amino acids in comparing with antihypoxants with pyrocatechol structure. *Meditsinskie novosti = Medical News*. 2017;(3):58–61. [In Russian].

4. Arkhipov V.I., Kapralova M.V., Pershina E.V. Excitotoxicity and experimental approaches to neuroprotection. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education*. 2013;(5):486. [In Russian].

5. Belenichev I.F., Cherniy V.I., Nagornaya E.A., Pavlov S.V., Cherniy T.V., Gorchakova N.A., Bukhtiyarova N.V., Andronova I.A., Kucherenko L.I. Neuroprotection and neuroplasticity. Kiev: Polygraph Plus, 2014. 512 p. [In Russian].

6. Losenkov I.S., Plotnikov E.V., Epimakhova E.V., Bokhan N.A. Lithium in the psychopharmacology of affective disorders and mechanisms of its effects on cellular physiology. *Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni Sergeya Sergeevicha Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2020;120(11):108–115. [In Russian]. doi: 10.17116/jnevro2020120111108

7. Gogoleva I.V., Gromova O.A., Torshin I.Yu., Grishina T.R., Pronin A.V. A systematic analysis of neurobiological roles of lithium. *Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni Sergeya Sergeevicha Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2022;122(11):17–23. [In Russian]. doi: 10.17116/jnevro202212211117

8. Moroz V.V., Silachev D.N., Plotnikov E.Yu., Zorova L.D., Pevzner I.B., Grebenchikov O.A., Likhvantsev V.V. Mechanisms of cell damage and protection in ischemia/reperfusion and experimental rationale for the use of lithium-based preparations in anesthesiology. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013;9(1):63. [In Russian]. doi: 10.15360/1813-9779-2013-1-63

9. Pronin A.V., Gromova O.A., Torshin I.Yu., Stelmashuk E.V., Aleksandrova O.P., Genrikhs E.E., Khaspekov L.G. Neuroprotective properties of lithium salts during glutamate-induced stress. *Nevrologiya, neyropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2017;9(3):111–119. [In Russian]. doi:10.14412/2074-2711-2017-3-111-119

10. Cherpakov R.A., Grebenchikov O.A. Effect of lithium chloride concentration on its neuroprotective properties in ischemic stroke in rats. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021;17(5):101–110. [In Russian]. doi: 10.15360/1813-9779-2021-5-101-110

11. Plotnikov E.Yu., Zorov D.B., Zorova L.D., Pevzner I.B., Grebenchikov O.A., Lihvantsev V.V., Silachev D.N., Moroz V.V. Treatment of cerebral edema of ischemic, traumatic, toxic and infectious genesis using hypertonic solution of lithium salts. Pat. 021560B1 EA. Publ. 30.07.2015.

12. Grebenchikov O.A., Lobanov A.V., Shayhutdinova E.R., Kuzovlev A.N., Ershov A.V., Likhvantsev V.V. Cardioprotective effect of lithium chloride on a rat model of myocardial infarction. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2019;23(2):43–49. [In Russian]. doi: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49

13. Grebenchikov O.A., Cherpakov R.A., Evseev A.K., Ershov A.V., Kuzovlev A.N., Lonchinsky P.A., Petrikov S.S., Shabanov A.K. Lithium chloride effect on mortality and neurological deficits in the model of ischemic stroke in rats. *Neotlozhnaya meditsinskaya pomoshch' = Emergency Medical Care*. 2021;10(4):676-686. [In Russian]. doi:10.23934/2223-9022-2021-10-4-676-686

14. Grebenchikov O.A., Kuzovlev A.N., Baeva A.A. Lithium chloride for the novel coronavirus infection COVID-19. *Anesteziologiya i reanimatologiya = Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology.* 2020;(6-2):40-44. [In Russian]. doi: 10.17116/anaesthesiology202006240

15. Raghavendra P.B., Lee E., Parameswaran N. Regulation of macrophage biology by lithium: a new look at an old drug. *J. Neuroimmune Pharmacol*.2014;9(3):277–284. doi: 10.1007/s11481-013-9516-y

16. Doeppner T.R., Kaltwasser B., Sanchez-Mendoza E.H., Caglayan A.B., Bähr M., Hermann D.M. Lithium-induced neuroprotection in stroke involves increased miR-124 expression, reduced RE1-silencing transcription factor abundance and decreased protein deubiquitination by GSK3β inhibition-independent pathways. *J. Cereb. Blood Flow Metab*.2017;37(3):914–926. doi: 10.1177/0271678X16647738

17. Taliyan R., Ramagiri S. Delayed neuroprotection against cerebral ischemia reperfusion injury: putative role of BDNF and GSK-3β. *J. Recept. Signal Transduct. Res*.2016;36(4):402–410. doi: 10.3109/10799893.2015.1108338

18. Kuzovlev A.N., Grebenchikov O.A., Meshkov M.A., Dolgikh V.T., Prokofiev M.D., Shpichko N.P., Ershov A.V. Influence of lithium chloride on the apoptosis of endotheliocytes in systemic inflammatory response syndrome in patients with severe multiple injury. A retrospective study. *Vestnik intensivnoy terapii = Bulletin of Intensive Care*. 2020;(3):115–121. [In Russian]. doi: 10.21320/1818-474X-2020-3-115-121

19. Grebenchikov O.A., Dolgikh V.T., Prokofiev M.D., Kasatkina I.S., Ershov A.V. Protective effect of lithium chloride on endothelial cells in septic shock. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology.* 2020;16(3):94–105. [In Russian and English]. doi: 10.15360/1813-9779-2020-3-94-105

20. Cherpakov R.A., Kuzovlev A.N., Makarevich D.G., Lobanov A.V., Ershov A.V., Grebenchikov O.A. Effect of different concentrations of lithium chloride on p-GSK-3β content in a model of ischemic stroke. *Patologicheskaya fiziologiya i*

eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy. 2021;65(4):26–33. [In Russian]. doi: 10.25557/0031-2991.2021.04.26-33

21. Grebenchikov O.A., Kasatkina I.S., Kadantseva K.K., Meshkov M.A., Baeva A.A. The effect of lithium chloride on neutrophil activation on exposure to serum of patients with septic shock. *Obshchaya reanimatologiya = General Reanimatology.* 2020;16(5):45–55. [In Russian and English]. doi: 10.15360/1813-9779-2020-5-45-55

22. Grebenchikov O.A., Kasatkina I.S., Kuzovlev A.N., Lobanov A.V., Ershov A.V. Influence of lithium chloride on neutrophil activation in the development of systemic inflammatory response syndrome in patients after on-pump cardiac surgery. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2020;64(4):47–53. [In Russian]. doi: 10.25557/0031-2991.2020.04.47-53

23. Mazukina E.V., Shekunova E.V., Kosman V.M., Urakova I.N., Kotelnikova I.G., Fonarev M.Yu., Ezhova E.A., Zakalyukina E.V., Makarova M.N., Makarov V.G. Preclinical study of the efficacy and safety of chondroitin sulfate. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Drug Therapy.* 2021;9(1):43–57. [In Russian]. doi:/10.30895/2312-7821-2021-9-1-43-57

24. Vavilova V.A., Shekunova E.V., Jain E.A., Balabanyan V.Yu., Ozerov A.A., Makarova M.N., Makarov V.G. Experimental study of toxic properties of VMU-2012-05 drug – original non-nucleeeside inhibitor of HIV-1 reverse transcriptase. *Farmatsiya i farmakologiya = Pharmacy and Pharmacology.* 2021;9(3):205-221. [In Russian]. doi:10.19163/2307-9266-2021-9-3-205-221

25. Kosman V.M., Karlina M.V., Mazukina E.V., Globenko A.A., Jain E.A., Makarova M.N., Makarov V.G. Preclinical evaluation of esomeprazole safety and toxicokinetics. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Drug Therapy*. 2023;11(2):176–190. [In Russian]. doi:10.30895/2312-7821-2023-11-2-342

26. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2010;99(3):306–314. doi: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007

27. Swine in the laboratory: surgery, anesthesia, imaging, and experimental techniques. Eds.: M.M. Swindle, A.C. Smith. Boca Raton: CRC press, 2007. 496 p.

28. Sheikh M., Qassem M., Triantis I.F., Kyriacou P.A. Advances in therapeutic monitoring of lithium in the management of bipolar disorder. *Sensors (Basel)*. 2022;22(3):736. doi: 10.3390/s22030736

29. Nederlof M., Heerdink E.R., Egberts A.C.G., Wilting I., Stoker L.J., Hoekstra R., Kupka R.W. Monitoring of patients treated with lithium for bipolar disorder: an international survey. *Int. J. Bipolar Disord*. 2018;6(1):12. doi: 10.1186/s40345-018-0120-1

30. Iwabuchi E., Odashima Ts. Lithium reagent composition, and method and device for determining lithium ion amount using same. Pat. JP2012087928A/RU2014144680. Publ. 20.12.2015.

31. Qassem M., Hickey M., Kyriacou P.A. Colorimetric determinations of lithium levels in drop-volumes of human plasma for monitoring patients with bipolar mood disorder. *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc*. 2016;2016:5160–5163. doi: 10.1109/EMBC.2016.7591889

32. Kim J.H., Diamond D., Lau K.T. Development of portable device for monitoring the lithium level from bipolar disorder patients. *2011 5th International Conference on Pervasive Computing Technologies for Healthcare (PervasiveHealth) and Workshops:* proc. conf., 23–26 May 2011. Dublin, 2011. P. 230–233.

33. Gracia L.G., Rodríguez L.C., Ceba M.R. Spectrophotometric determination of lithium with quinizarin in drugs and serum. *Talanta*. 1997;44(1):75–83. doi: 10.1016/s0039-9140(96)02018-8

34. Karlina M.V., Kosman V.M., Abramovich R.A., Archakova O.A., Barybina T.N., Vlasenko Yu.V., Guzevatykh L.S., Kovaleva E.L., Korel A.V., Koshchits D.V., … Tulegenova A.U. Risk-oriented approach to drug development. *In: GLP-Planet Consultant 2023. Opinion of the pharmaceutical industry.* Saint-Petersburg: Dom Farmacii, 2023; 47–74 [In Russian].

35. Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for veterinary medicine 2018:41.

36. Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London: Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2011. P. 22.

37. Decision of the EEU Council No. 85 of November 3, 2016 "On approval of the Rules for conducting bioequivalence studies of medicinal products within the framework of the Eurasian Economic Union". Appendix No. 6 "Requirements for the validation of bioanalytical test methods and analysis of biological samples under study". 2016. Available at: https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0085/ [In Russian].

38. Bochkareva I.I., Dyakova I.N. The role of biogenic elements in the human body and their use in medicine and pharmacy. Textbook for students of the pharmaceutical faculty. Maykop: Kachestvo, 2016. 127 p. [In Russian].

39. GOST R ISO 7870-2-2015. Statistical methods. Control cards. Shewhart control charts. 2015. 46 p. [In Russian].

40. Jakobsson E., Argüello-Miranda O., Chiu S.W., Fazal Z., Kruczek J., Nunez-Corrales S., Pandit S., Pritchet L. Towards a unified understanding of lithium action in basic biology and its significance for applied

biology. *J. Membr. Biol.* 2017;250(6):587–604. doi: 10.1007/s00232-017-9998-2

41. Fairbrother F., Petzl N., Scott J., Kisely S. Lithium can cause hyperthyroidism as well as hypothyroidism: A systematic review of an under-recognised association. *Aust. N. Z. J. Psychiatry*. 2019;53(5):384–402. doi: 10.1177/0004867419833171

42. Wen J., Sawmiller D., Wheeldon B., Tan J. A review for lithium: pharmacokinetics, drug design, and toxicity. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*. 2019;18(10):769–778. doi: 10.2174/1871527318666191114095249

43. Couffignal C., Chevillard L., El Balkhi S., Cisternino S., Declèves X. The pharmacokinetics of lithium. *In book: The Science and Practice of Lithium Therapy*. Springer, Cham, 2017; 25–53. doi: 10.1007/978-3-319-45923-3_2

44. McGlone J.J., Kelley K.W., Gaskins C.T. Lithium and porcine aggression. *J. Anim. Sci*. 1980;51(2):447–455. doi: 10.2527/jas1980.512447x

45. Mormede P., Dantzer R. Pharmacokinetics of lithium in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*.1978;1:309–312. doi: 10.1111/j.1365-2885.1978.tb00344.x

Сведения об авторах:

Косман Вера Михайловна, к.фарм.н., ORCID: 0000-0001-9690-1935, e-mail: kosman.vm@doclinika.ru
Романенко Анна Юрьевна, ORCID: 0009-0005-7026-9245, e-mail: romanenko.au@doclinika.ru
Карлина Марина Валерьевна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-6292-8934, e-mail: karlina.mv@doclinika.ru
Фаустова Наталья Михайловна, к.х.н., ORCID: 0000-0002-6866-5741, e-mail: faustova.nm@doclinika.ru
Мазукина Елизавета Владимировна, ORCID: 0000-0002-1448-921X, e-mail: mazukina.ev@doclinika.ru
Кузовлев Артем Николаевич, д.м.н., ORCID: 0000-0002-5930-0118, e-mail: artem_kuzovlev@fnkcrr.ru
Гречко Андрей Вячеславович, д.м.н., чл.-корр. РАН, ORCID: 0000-0003-3318-796X, e-mail: avgrechko@fnkcrr.ru
Черпаков Ростислав Александрович, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0514-2177, e-mail Zealot333@mail.ru
Макарова Марина Николаевна, д.м.н., ORCID: 0000-0003-3176-6386, e-mail: makarova.mn@doclinika.ru
Макаров Валерий Геннадиевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-2447-7888, e-mail: makarov.vg@doclinika.ru

Information about the authors:

Vera M. Kosman, candidate of pharmalogical sciences, ORCID: 0000-0001-9690-1935, e-mail: kosman.vm@doclinika.ru
Anna Yu. Romanenko, ORCID: 0009-0005-7026-9245, e-mail: romanenko.au@doclinika.ru
Marina V. Karlina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-6292-8934, e-mail: karlina.mv@doclinika.ru
Natalya M. Faustova, candidate of chemical sciences, ORCID: 0000-0002-6866-5741, e-mail: faustova.nm@doclinika.ru
Elizaveta V. Mazukina, ORCID: 0000-0002-1448-921X, e-mail: mazukina.ev@doclinika.ru
Artem N. Kuzovlev, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-5930-0118, e-mail: artem_kuzovlev@fnkcrr.ru
Andrey V. Grechko, doctor of medical sciences, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0003-3318-796X, e-mail: avgrechko@fnkcrr.ru
Rostislav A. Cherpakov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0514-2177, e-mail Zealot333@mail.ru
Marina N. Makarova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-3176-6386, e-mail: makarova.mn@doclinika.ru
Valery G. Makarov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-2447-7888, e-mail: makarov.vg@doclinika.ru

Поступила в редакцию 14.05.2024
После доработки 03.07.2024
После повторной доработки 04.10.2024
Принята к публикации 08.10.2024

Received 14.05.2024
Revision received 03.07.2024
Second revision received 04.10.2024
Accepted 08.10.2024

УДК 577.333:576.385.5 DOI: 10.18699/SSMJ20240612
Оригинальное исследование / Research article

Оригинальный синтетический монофенольный антиоксидант комбинированного действия угнетает рост опухоли *in vivo*

Е.Б. Меньщикова[1], М.В. Храпова[1], П.М. Кожин[1], А.В. Чечушков[1], Е.С. Петрова[1], А.Е. Серых[1], Л.П. Ромах[1], Н.В. Кандалинцева[2]

[1] *ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины*
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2
[2] *Новосибирский государственный педагогический университет*
630126, г. Новосибирск, ул. Вилюйская, 28

Резюме

Активированные кислородные метаболиты и антиоксиданты, так же как Аи редокс-чувствительный сигнальный Nrf2-зависимый путь, играют двойственную роль в формировании, росте и прогрессировании злокачественных новообразований. Целью настоящей работы послужило исследование способности оригинального синтетического монофенольного антиоксиданта комбинированного действия влиять на рост опухоли *in vivo* и на негативные эффекты применения цитостатика. **Материал и методы.** В качестве экспериментальной модели злокачественного роста использована карцинома легких Льюис (LLC). Исследование выполнено на 120 самках мышей линии C57Bl/6, которые были разделены на 12 групп; животных еженедельно взвешивали. Мыши соответствующих групп на протяжении всего эксперимента получали внутрижелудочно раствор оригинального монофенола 3-(3′-*трет*-бутил-4′-гидроксифенил)пропилтиосульфоната натрия (ТС-13) (100 мг/кг массы тела), взвесь *трет*-бутилгидрохинона (tBHQ) либо растворителя (0,9%-й раствор NaCl). Через 28 дней после начала назначения ТС-13 и tBHQ мышам внутримышечно имплантировали взвесь клеток LLC в дозе 2×10^5 клеток/мышь, на 7-й и 14-й день развития опухоли двукратно внутрибрюшинно вводили раствор доксорубицина в кумулятивной дозе 8 мг/кг массы тела (4/5 LD10). На 35-й день развития опухоли животных выводили из эксперимента, извлекали опухоль, взвешивали и определяли линейные размеры, вычисляли массовый коэффициент и объем опухоли. Также оценивали массовый коэффициент селезенки. **Результаты и их обсуждение.** На 7-й и 14-й день опухолевого роста масса тела животных, получавших ТС-13 и tBHQ, была статистически значимо больше, чем у остальных опухоленосителей. Назначение мышам ТС-13 так же эффективно, как и введение доксорубицина, угнетало рост опухоли, при комбинированном применении – более выраженно; tBHQ не оказывал самостоятельного ингибирующего действия, в комбинации с цитостатиком не усиливал его эффект. Доксорубицин существенно снижал массовый коэффициент селезенки, ТС-13 и tBHQ статистически значимо уменьшали эффект цитостатика. Монотерапия доксорубицином сопровождалась выпадением шерстяного покрова дорсальной поверхности (8 животных из 10), при совместном назначении цитостатика с ТС-13 и tBHQ алопеции не наблюдалось. **Заключение.** Монофенол ТС-13, прямой антиоксидант и индуктор системы Keap1/Nrf2/ARE, по выраженности противоопухолевого действия сопоставим с доксорубицином. Назначение ТС-13 позволяет существенно уменьшать негативные проявления, связанные со злокачественным ростом, и побочные эффекты химиотерапии, такие как кахексия, спленотоксичность, алопеция.

Ключевые слова: карцинома легких Льюис, окислительный стресс, сигнальная система Keap1/Nrf2/ARE, доксорубицин, побочное действие цитостатиков.

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: lemen7383@mail.ru

Для цитирования: Меньщикова Е.Б., Храпова М.В., Кожин П.М., Чечушков А.В., Петрова Е.С., Серых А.Е., Ромах Л.П., Кандалинцева Н.В. Оригинальный синтетический монофенольный антиоксидант комбинированного действия угнетает рост опухоли *in vivo*. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2023;43(6):128–137. doi: 10.18699/SSMJ20240612

Original synthetic monophenolic antioxidant with combined effect inhibits tumor growth *in vivo*

E.B. Menshchikova[1], M.V. Khrapova[1], P.M. Kozhin[1], A.V. Chechushkov[1], E.S. Petrova[1], A.E. Serykh[1], L.P. Romakh[1], N.V. Kandalintseva[2]

[1] *Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine*
630117, Novosibirsk, Timakova st., 2
[2] *Novosibirsk State Pedagogical University*
630126, Novosibirsk, Vilyuyskaya st., 28

Abstract

Reactive oxygen metabolites and antioxidants, as well as the redox-sensitive signaling Nrf2-dependent pathway, play a dual role in the formation, growth and progression of malignant neoplasms. The aim of the study was to investigate the ability of the original synthetic monophenolic antioxidant of combined action to influence tumor growth in vivo and the side effects of cytostatic use. **Material and methods.** Lewis lung carcinoma (LLC) was used as an experimental model of malignant growth. The study was performed on 120 female C57Bl/6 mice, which were divided into 12 groups; the animals were weighed weekly. Mice of the corresponding groups received intragastrically a solution of sodium 3-(3′-*tert*-butyl-4′-hydroxyphenyl)propylthiosulfonate (TS-13) (100 mg/kg body weight), a suspension of *tert*-butylhydroquinone (tBHQ) or a solvent (0.9% NaCl solution) throughout the experiment. 28 days after the start of TS-13 and tBHQ administration, mice were implanted intramuscularly with a suspension of LLC cells at a dose of 2×10^5 cells/mouse; on the 7th and 14th days of tumor development, a solution of doxorubicin was administered intraperitoneally twice at a cumulative dose of 8 mg/kg body weight (4/5 LD10). On the 35th day of tumor growth, the animals were removed from the experiment, the tumor was extracted, weighed and its linear dimensions were determined; the tumor mass coefficient and volume were calculated, respectively. The spleen mass coefficient was also estimated. **Results and discussion.** On the 7th and 14th days of tumor growth, the body weight of animals receiving TS-13 and tBHQ was statistically significantly greater than that of other tumor carriers. Administration of TS-13 to mice inhibited tumor growth as effectively as doxorubicin, and more significantly when used in combination; tBHQ did not exert an independent inhibitory effect, and did not enhance its effect in combination with the cytostatic. Doxorubicin significantly reduced the spleen mass coefficient, while TS-13 and tBHQ statistically significantly reduced the effect of the cytostatic. Monotherapy with doxorubicin was accompanied by hair loss on the dorsal surface (8 animals out of 10), while no alopecia was observed with the combined administration of the cytostatic with TS-13 and tBHQ. **Conclusions.** Monophenol TS-13, a direct antioxidant and inducer of the Keap1/Nrf2/ARE system, is comparable to doxorubicin in terms of its antitumor effect. The use of TS-13 allows to significantly reduce the negative manifestations associated with malignant growth and the side effects of chemotherapy, such as cachexia, splenotoxity, and alopecia.

Key words: Lewis lung carcinoma, oxidative stress, Keap1/Nrf2/ARE signaling system, doxorubicin, side effects of cytostatics.

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

Acknowledgments. The work was carried out 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: lemen7383@mail.ru

Citation: Menshchikova E.B., Khrapova M.V., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Petrova E.S., Serykh A.E., Romakh L.P., Kandalintseva N.V. Original synthetic monophenolic antioxidant with combined effect inhibits tumor growth *in vivo*. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):128–137. doi: 10.18699/SSMJ20240612

Введение

Согласно данным Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer) ВОЗ, в 2022 г. во всем мире было зарегистрировано 19 976 499 новых случаев рака и 9 743 832 случая смерти от злокачественных новообразований [1]. В России, по данным Росстата, их было соответственно 1593,8 тыс. (всего – 7616,5 тыс.) и 276,9 тыс. [2]. В структуре смертности рак неуклонно занимает второе место после сердечно-сосудистых заболеваний; с увеличением продолжительности жизни возрастает и риск развития связанных со старением патологий, в том числе злокачественных новообразова-

ний [3]. Несомненна актуальность поиска средств борьбы с данным тяжелым и высоколетальным видом патологий, его предотвращения, а также способов смягчения побочных эффектов применяемых в настоящее время терапевтических препаратов и воздействий.

Не вызывает сомнения тот факт, что в патогенез опухолевого роста вовлечены активированные кислородные метаболиты (АКМ) и нарушения редокс-баланса, в том числе приводящие к развитию окислительного стресса. Особую роль в механизмах перерождения клеток в раковые и дальнейшего развития новообразования играют редокс-чувствительные сигнальные системы организма, центральное место среди которых принадлежит Nrf2-зависимому пути (Keap1/Nrf2/ARE) [4]. Так, в БД Medline по поисковому запросу («reactive oxygen species» OR «reactive nitrogen species» OR «oxidative stress») AND (cancer OR tumor) найдено 109 099 статей», по запросу Nrf2 AND (cancer OR tumor) – 10305.

При этом как АКМ, так и антиоксиданты прямого и непрямого действия играют двойственную роль. АКМ могут способствовать инициации и развитию опухоли, стимулируя пролиферацию, инвазию и прогрессию раковых клеток, вызывая геномную нестабильность и эпигенетические изменения, а также активируя антиоксидантную защиту в целях самозащиты [5, 6]. В то же время многие противоопухолевые средства используют деструктивную функцию АКМ, способствующих некрозу или различным видам запрограммированной гибели перерожденных клеток (аутофагия, апоптоз, ферроптоз, некроптоз, дисульфидптоз, пироптоз, параптоз и др.) [7, 8]. Аналогичным образом Nrf2-зависимый путь играет роль обоюдоострого меча [9]: с одной стороны, его активация защищает клетки от перерождения, в том числе ингибируя индуцированный воспалением канцерогенез, с другой стороны, уже сформировавшаяся опухоль использует систему Keap1/Nrf2/ARE в собственных интересах; так, сверхэкспрессия ее компонентов при раке, как правило, сопряжена с неблагоприятным прогнозом [10].

Целью настоящей работы послужило исследование способности оригинального синтетического монофенольного антиоксиданта комбинированного действия влиять на рост опухоли *in vivo* и на негативные эффекты применения цитостатика.

Материал и методы

Водорастворимый серосодержащий фенол 3-(3′-*трет*-бутил-4′-гидроксифенил)пропилтиосульфонат натрия (ТС-13) синтезирован в НИИ химии антиоксидантов (г. Новосибирск), как описано ранее [11], в качестве препарата сравнения использовали антиоксидант и прототипический индуктор системы Keap1/Nrf2/ARE *трет*-бутилгидрохинон (tBHQ) (Sigma-Aldrich, США). Применялся противоопухолевый препарат сравнения доксорубицин (Dox) (Pfizer, США) для внутривенного, внутрипузырного и внутриартериального введения. В качестве экспериментальной модели злокачественного роста использована карцинома легких Льюис (LLC) [12], штаммы опухолевых клеток получены из банка клеточных культур НИИ фундаментальной и клинической иммунологии (г. Новосибирск).

Исследование выполнено на 120 самках мышей линии C57Bl/6 в возрасте двух месяцев с массой тела 21–23 г, полученных из ЦКП «Виварий конвенциональных животных» Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Животных содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для научных целей (Страсбург, 1986), в условиях лабораторного вивария в клетках по 10 особей в каждой, при свободном доступе к пище и воде и нормальном световом режиме. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины (протокол № 67 от 06.11.2024). Мыши были разделены равномерно по массе тела на 12 групп по 10 голов в каждой, дизайн эксперимента представлен на рис. 1. Животные соответствующих групп на протяжении всего эксперимента получали внутрижелудочно по 0,1 мл раствора ТС-13 (100 мг/кг массы тела), взвесь tBHQ либо растворителя (0,9%-й раствор NaCl). Через 28 дней после начала назначения ТС-13 и tBHQ мышам внутримышечно в верхнюю треть левого бедра имплантировали взвесь клеток LLC в 0,1 мл 0,9%-го раствора NaCl в дозе 2×10^5 клеток/мышь (нулевой день развития опухоли), на 7-й и 14-й день развития опухоли двукратно внутрибрюшинно вводили раствор Dox в дозе 4 мг/кг массы тела (4/5 LD10; кумулятивная доза 8 мг/кг).

На 35-й день развития опухоли животных выводили из эксперимента, извлекали опухоль, взвешивали ее на аналитических весах и определяли линейные размеры в двух взаимно перпендикулярных направлениях. Вычисляли массовый коэффициент опухоли по формуле

$$\text{МКО} = \frac{M_л - M_п}{M_т} \times 100\ \%\ ,$$

где $M_л$ и $M_п$ – масса левого и правого бедра соответственно; $M_т$ – масса тела. Объем опухоли определяли по формуле

$$V = 0{,}5 \times a \times b^2,$$

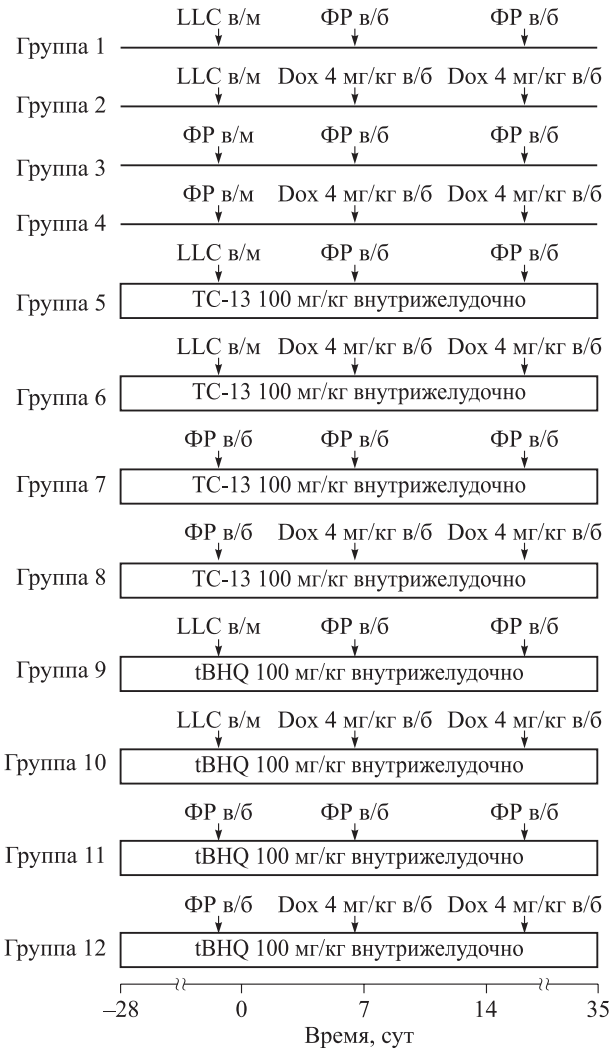


Рис. 1. *Распределение мышей по группам и дизайн эксперимента*

Fig. 1. *Distribution of mice into groups and experimental design*

где a – больший линейный размер опухоли; b – меньший линейный размер опухоли [12].

Торможение роста опухоли (ТРО, %) вычисляли по формулам:

$$ТРО_м = \frac{М_к - М_о}{М_к} \times 100\ \%\ ,$$

$$ТРО_V = \frac{V_к - V_о}{V_к} \times 100\ \%\ ,$$

где $М_к$ и $М_о$ – среднее арифметическое массы опухоли в группах контроля и опыта соответственно; $V_к$ и $V_о$ – среднее арифметическое объема опухоли.

Кроме того, извлекали селезенку, взвешивали ее на аналитических весах и вычисляли массовый коэффициент (МКС, % от массы тела).

На предварительном этапе статистического анализа данные оценивали на нормальность распределения по критерию Шапиро – Уилка. Переменные представлены при нормальном распределении в виде среднего арифметического и ошибки среднего ($M \pm m$), 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. Связь между различными признаками в исследуемой выборке определялась с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r). Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты

Поскольку после индукции опухолевого роста масса тела животных существенно варьировала, а группы, получавшие и не получавшие доксорубицин, значимо не различались, они были объединены попарно, и значения нормированы на массу тела мышей соответствующих групп, которым клетки LLC не инокулировали. На 7-й день опухолевого роста масса тела животных групп 1 и 2 статистически значимо уменьшалась, оставаясь неизменной у мышей, получавших ТС-13 и tBHQ (рис. 2). На 14-й день показатель восстанавливал-

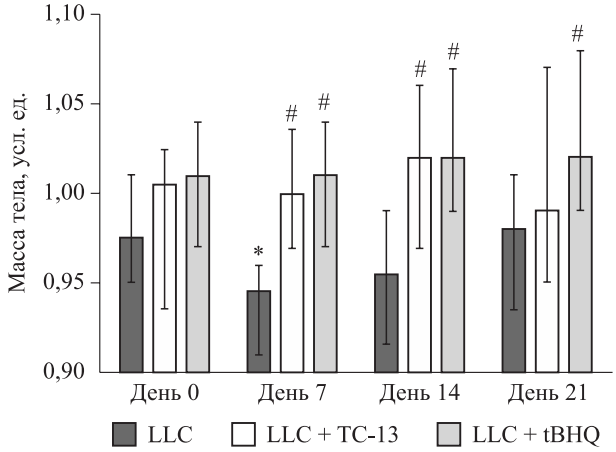


Рис. 2. *Изменение массы тела мышей в первые три недели после имплантации опухолевых клеток; обозначены статистически значимые (p < 0,05) отличия от величин соответствующих показателей животных: * – без инокуляции клеток LLC, # – после инокуляции клеток LLC*

Fig. 2. *Changes in body weight of mice in the first 3 weeks after implantation of tumor cells; statistically significant (p < 0.05) differences from the values of the corresponding indicators of animals are indicated: * – without inoculation of LLC cells, # – after inoculation of LLC cells*

ся, но продолжал оставаться достоверно меньшим по сравнению со значением групп 5 и 6, 9 и 10. В дальнейшем группы выравнивались (за исключением 21-го дня) (данные не представлены).

Превентивное и последовательное назначение мышам ТС-13 существенно влияло на рост опухоли, эффект был сравним с действием цитостатика (рис. 3). Более того, при совместном назначении ТС-13 потенцировал противоопухолевую активность доксорубицина (см. рис. 3, *б*). tBHQ не оказывал самостоятельного ингибирующего действия, в комбинации с цитостатиком не усиливал его эффект.

У животных, которым не имплантировали клетки LLC, тестируемые соединения разнонаправленно влияли на массовый коэффициент селезенки (рис. 4). Так, если доксорубицин существенно снижал его величину, то ТС-13 не только не влиял на нее, но и статистически значимо уменьшал эффект цитостатика. Неожиданным угнетающим действием обладал tBHQ при изолированном назначении, однако его совместное применение с доксорубицином снижало эффект последнего. Среди мышей, у которых индуцировали опухолевый рост, статистически значимых различий между группами не выявлено, однако у всех, за исключением группы 1, массовый коэффициент селезенки был меньше, чем в контрольной группе 3. При этом обнаружено, что массовый коэффициент селезенки коррелировал как с объемом ($r = 0{,}4444$; $p = 0{,}0009$), так и с массовым коэффициентом опухоли ($r = 0{,}3377$; $p = 0{,}0165$).

Нами обнаружен интересный феномен: монотерапия доксорубицином закономерно сопровождалась выпадением шерстяного покро-

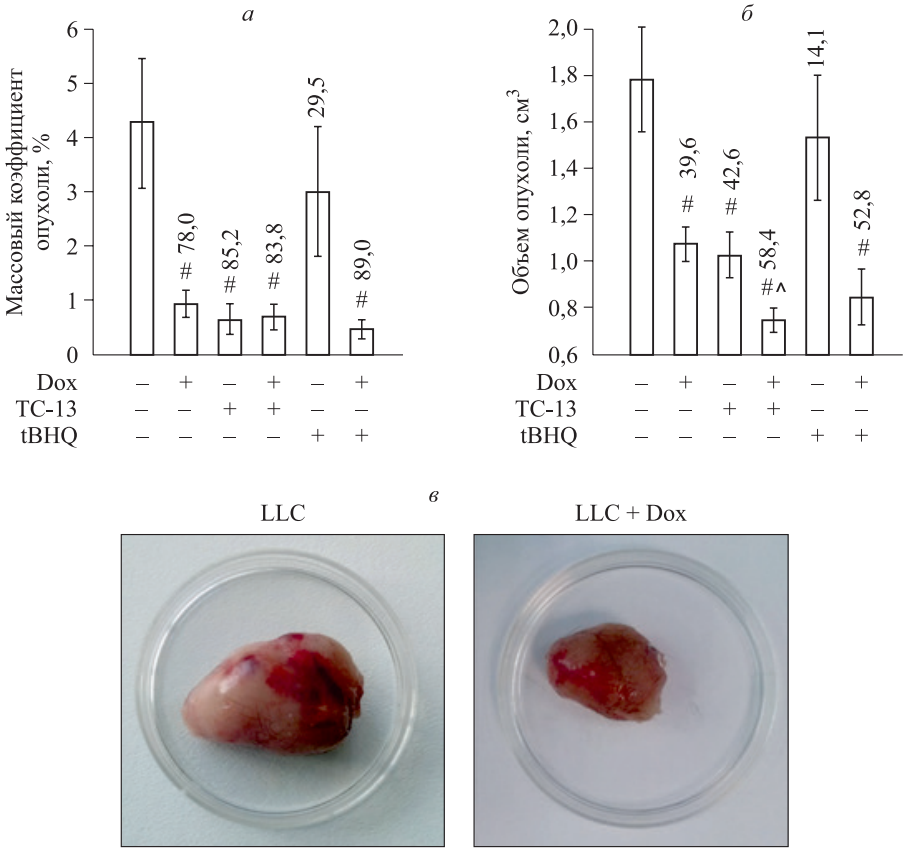


Рис. 3. *Массовый коэффициент (а), объем (б) и внешний вид (в) опухоли на 35-й день после инокуляции клеток LLC; цифрами представлена величина ТРО; обозначены статистически значимые (p < 0,05) отличия от величин соответствующих показателей животных: # – после инокуляции клеток LLC, ^ – получавших Dox*

Fig. 3. *Mass coefficient (a), volume (б) and appearance of the tumor (в) on the 35th day after inoculation of LLC cells; the numbers represent the coefficient of tumor growth inhibition value; statistically significant (p < 0.05) differences from the values of the corresponding parameters of animals are indicated: # – after inoculation of LLC cells, ^ – receiving doxorubicin*

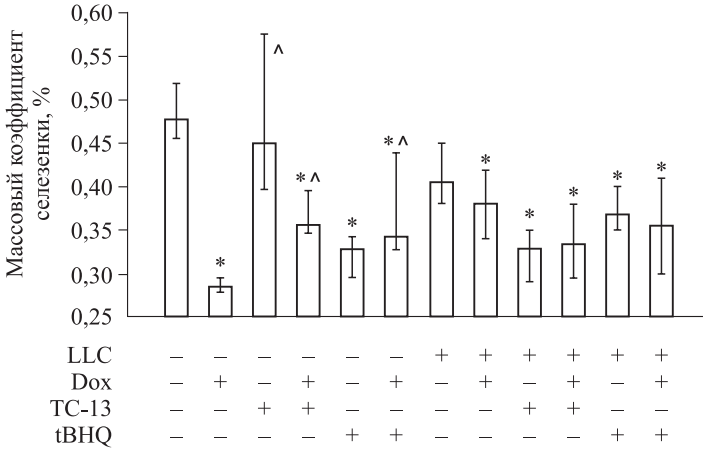


Рис. 4. *Массовый коэффициент селезенки на 35-й день после инокуляции клеток LLC; обозначены статистически значимые (p < 0,05) отличия от величин соответствующих показателей животных: * – без инокуляции клеток LLC, ^ – получавших Dox*

Fig. 4. *Spleen mass coefficient on the 35th day after LLC cell inoculation; statistically significant (p < 0.05) differences from the values of the corresponding parameters of animals are indicated: * – without LLC cell inoculation, ^ – receiving doxorubicin*

ва дорсальной поверхности (8 животных из 10), площадь проплешин (измеренная по формуле

$$S = \frac{\pi \times a \times b}{4},$$

где *a* – больший линейный размер; *b* – меньший линейный размер) составила 311,52 ± 35,28 мм^2 (рис. 5, *а*). Ни у одной мыши, получавшей доксорубицин совместно с ТС-13, залысин не наблюдалось (рис. 5, *б*). Совместное назначение цитостатика и tBHQ также отменяло индуцированное доксорубицином выпадение волос, хотя небольшие участки алопеции все же отмечались (у 2 мышей из 10) (рис. 5, *в*).

Обсуждение

Как сказано выше, АКМ, антиоксиданты (прямые и действующие опосредованно, в том числе через индукцию редокс-чувствительных сигнальных путей), обладают дуалистичностью, что обусловлено самой природой окислительно-восстановительных реакций. Это проявляется и феноменом гормезиса, и неоднозначностью эффекта назначения антиоксидантов при различных патологических состояниях и заболеваниях. В полной мере сказанное относится к рассмотрению механизмов участия АКМ в опухолевом ро-

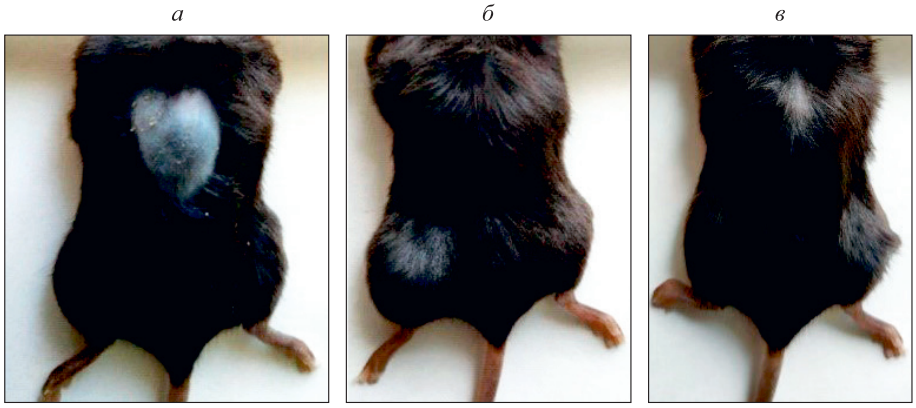


Рис. 5. *Внешний вид волосяного покрова дорсальной поверхности животных на 35-й день после инокуляции клеток LLC и доксорубицина (а), получавших также ТС-13 (б) и tBHQ (в)*

Fig. 5. *Appearance of the dorsal hair coat of animals on the 35th day after inoculation with LLC cells and doxorubicin (a), also treated with TS-13 (б) and tBHQ (в)*

сте на разных этапах, при разных типах опухолей, разных схемах лечения, к возможности назначения антиоксидантов при злокачественных новообразованиях; в данном вопросе как никогда важна осторожность. Например, показано, что ТС-13 в субтерапевтических дозах (до 60 мг/кг массы тела) не повышал продолжительность жизни мышей линии BDF_1 на модели лимфолейкоза Р-388, однако при комбинировании с цисплатином, циклофосфаном и доксорубицином как усиливал, так и снижал химиотерапевтическую активность цитостатиков [13, 14]; в работе, выполненной на лекарственно-устойчивых штаммах лейкоза Р388 мышей, делается вывод, что совместное применение ТС-13 и донора NO с цитостатиками должно осуществляться с учетом редокс-статуса опухолей [15]. Прорабатываются вопросы целесообразности использования как индукторов [6], так и ингибиторов системы Keap1/Nrf2/ARE [16].

В настоящем исследовании показано, что превентивное и последовательное назначение монофенола ТС-13, обладающего не только непосредственной антиоксидантной активностью [17], но и способного увеличивать активность Nrf2-зависимого сигнального пути [18], оказывает выраженный защитный эффект при моделировании роста солидной опухоли у мышей C57Bl/6, сопоставимый с действием известного цитостатика доксорубицина (см. рис. 3, *а*) и даже превосходящий его (см. рис. 3, *б*). Прототипический индуктор системы Keap1/Nrf2/ARE tBHQ, вводимый внутрижелудочно в аналогичном режиме, не проявлял противоопухолевого эффекта, в комбинации с доксорубицином не усиливал его действие (см. рис. 3).

Цитостатики, в том числе доксорубицин как моноагент и в различных комбинациях, являются средством первой линии при лечении злокачественных новообразований, в то же время обладая широким спектром побочных эффектов, в том числе на иммунную систему. Селезенка, как крупнейший вторичный орган иммунной системы в организме, участвует в регуляции опухолевого роста на всех его этапах [19]. Спленэктомия увеличивает риск развития солидных опухолей, в том числе поражающих легкие, толстую кишку, поджелудочную железу, печень, простату [20], а органотоксичность химиотерапии затрагивает и селезенку, усугубляя тромбоцитопению и снижая терапевтический потенциал цитостатиков. Показано, что назначение доксорубицина самкам мышей BALB/c приводит к значительной атрофии селезенки вследствие активации воспаления, фиброзного ремоделирования, апоптоза и подавления антиоксидантной защиты [21], самцам крыс Sprague Dawley – к уменьшению массового коэффициента органа и развитию отека, процессов деструкции и дегенерации, признаков окислительного стресса, при этом пероральное введение аскорбиновой кислоты нивелирует данные негативные эффекты [22]; иммуносупрессивное действие циклофосфамида проявляется, в частности, уменьшением массового коэффициента селезенки у самцов мышей C57BL/6J [23, 24] и гистопатологическими изменениями, а также нарушением редокс-баланса в тканях органа [24]. В нашем исследовании доксорубицин существенно снижал массовый коэффициент селезенки, в то время как ТС-13 не только не влиял на величину показателя, но и существенно уменьшал эффект цитостатика при совместном назначении. Будучи применен в качестве моноагента, tBHQ уменьшал массовый коэффициент селезенки, однако снижал угнетающее действие доксорубицина (см. рис. 4).

Еще одно осложнение химиотерапии, не столь опасное с точки зрения патофизиологии, но которое может вызывать у пациентов значительный психологический дискомфорт и снижение качества жизни, – это выпадение волос. Алопеция в той или иной степени (от 50 до 100 % волосяного покрова) затрагивает, в зависимости от вида злокачественного новообразования и схемы лечения, до 96 % пациентов [25, 26], и вследствие возникающего эмоционального дистресса до 14 % больных отказываются от лечения [27], даже понимая, что оно необходимо для спасения их жизни. В этой связи многообещающим выглядит обнаруженный нами факт отмены при назначении ТС-13 индуцированного доксорубицином выпадения волос на дорсальной поверхности мышей-опухоленосителей (см. рис. 5), который требует дальнейшего изучения. Также показано, что введение обоих стимуляторов Nrf2-зависимого пути способствовало уменьшению потери веса животными-опухоленосителями (см. рис. 2). Кахексия, возникающая главным образом в результате выраженного уменьшения скелетной мускулатуры, встречается у 80 % больных раком и напрямую способствует 30 % связанных с ним летальных исходов [28]; существенную роль в атрофии поперечно-полосатых мышц, состоящих преимущественно из гликолитических волокон, играет окислительный стресс [29] и нарушение Nrf2-сигнализации [30]. Показана способность индукторов системы Keap1/Nrf2/ARE уменьшать потерю мышечной массы *in vivo* [31] и *in vitro* [30], однако вопросы механизмов протективного эффекта далеки от окончательного разрешения.

Заключение

Монофенол ТС-13, прямой антиоксидант и индуктор системы Keap1/Nrf2/ARE, по выражен-

ности противоопухолевого действия сопоставим с доксорубицином. Назначение ТС-13 позволяет существенно уменьшать негативные проявления, связанные со злокачественным ростом, и побочные эффекты химиотерапии, такие как кахексия, спленотоксиность, алопеция.

Список литературы / References

1. Global cancer observatory. Available at: https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/900-world-fact-sheet.pdf

2. Здравоохранение в России. 2023. Стат. сб. Росстат. М., 2023. 179 с.

Healthcare in Russia. 2023. Statistical collection Rosstat. Moscow, 2023. 179 p. [In Russian].

3. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Шкурупий В.А. Старение и воспаление. *Успехи соврем. биол*. 2010;130(1):20–37.

Zenkov N.K., Menshchikova E.B., Shkurupiy V.A. Aging and inflammation. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews*. 2010;130(1):20–37. [In Russian].

4. Зенков Н.К., Кожин П.М., Вчерашняя А.В., Мартинович Г.Г., Кандалинцева Н.В., Меньщикова Е.Б. Особенности редокс-регуляции в опухолевых клетках. *Сиб. науч. мед. ж.* 2019;39(2):11–26. doi: 10.15372/SSMJ20190202

Zenkov N.K., Kozhin P.M., Vcherachnyaya A.V., Martinovich G.G., Kandalintseva N.V., Menshchikova E.B. Features of redox regulation in tumor cells. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(2):11–26. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190202

5. Shrestha J., Limbu K.R., Chhetri R.B., Paudel K.R., Hansbro P.M., Oh Y.S., Baek D.J., Ki S.H., Park E.Y. Antioxidant genes in cancer and metabolic diseases: Focusing on Nrf2, sestrin, and heme oxygenase 1. *Int. J. Biol. Sci.* 2024;20(12):4888–4907. doi: 10.7150/ijbs.98846

6. Wang R., Liang L., Matsumoto M., Iwata K., Umemura A., He F. Reactive oxygen species and NRF2 signaling, friends or foes in cancer? *Biomolecules*. 2023;13(2):353. doi: 10.3390/biom13020353

7. Wei S., Han C., Mo S., Huang H., Luo X. Advancements in programmed cell death research in antitumor therapy: a comprehensive overview. *Apoptosis*. 2024: Online ahead of print. doi: 10.1007/s10495-024-02038-0

8. Chang L.C., Chiang S.K., Chen S.E., Hung M.C. Exploring paraptosis as a therapeutic approach in cancer treatment. *J. Biomed. Sci*. 2024;31(1):101. doi: 10.1186/s12929-024-01089-4

9. Wu S., Lu H., Bai Y. Nrf2 in cancers: A double-edged sword. *Cancer Med.* 2019;8(5):2252–2267. doi: 10.1002/cam4.2101

10. Chen F., Xiao M., Hu S., Wang M. Keap1-Nrf2 pathway: a key mechanism in the occurrence and development of cancer. *Front. Oncol.* 2024;14:1381467. doi: 10.3389/fonc.2024.1381467

11. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б., Кандалинцева Н.В., Олейник А.С., Просенко А.Е., Гусаченко О.Н., Шкляева О.А., Вавилин В.А., Ляхович В.В. Антиоксидантные и противовоспалительные свойства новых водорастворимых серосодержащих фенольных соединений. *Биохимия*. 2007;72(6):790–798.

Zenkov N.K., Menshchikova E.B., Kandalintseva N.V., Oleynik A.S., Prosenko A.E., Gusachenko O.N., Shklyaeva O.A., Vavilin V.A., Lyakhovich V.V. Antioxidant and antiinflammatory activity of new water-soluble sulfur-containing phenolic compounds. *Biochemistry (Mosc.)*. 2007;72(6): 644–651.

12. Onishi H., Fukasawa A., Miatmoko A., Kawano K., Ikeuchi-Takahashi Y., Hattori Y. Preparation of chondroitin sulfate-adipic acid dihydrazide-doxorubicin conjugate and its antitumour characteristics against LLC cells. *J. Drug Target*. 2017;25(8):747–753. doi: 10.1080/1061186X.2017.1327593

13. Богатыренко Т.Н., Кандалинцева Н.В., Сашенкова Т.Е., Мищенко Д.В. Серосодержащие фенольные антиоксиданты в повышении противоопухолевой эффективности циклофосфана и его комбинации с донором оксида азота. *Изв. АН. Сер. хим.* 2018;(4):700–704.

Bogatyrenko T.N., Kandalintseva N.V., Sashenkova T.E., Mishchenko D.V. Sulfur-containing phenolic antioxidants increasing antitumor efficiency of cyclophosphamide and its combination with nitric oxide donor. *Russ. Chem. Bull.* 2018;67(4):700–704.

14. Богатыренко Т.Н., Кандалинцева Н.В., Сашенкова Т.Е., Аллаярова У.Ю., Мищенко Д.В. Гидрофильный серосодержащий антиоксидант 3-(3-*трет*-бутил-4-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия как модулятор активности противоопухолевых цитостатиков и их комбинаций с донором NO. *Изв. АН. Сер. хим.* 2022;71(3):517–523.

Bogatyrenko T.N., Kandalintseva N.V., Sashenkova T.E., Allayarova U.Yu., Mishchenko D.V. Hydrophilic sulfur-containing antioxidant sodium 3-(3-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propylthiosulfate as a modulator of the activity of antitumor cytostatics and their combinations with a NO donor. *Russ. Chem. Bull.* 2022;71(3):517–523. doi: 10.1007/s11172-022-3442-1

15. Раевская Т.А., Солдатова Ю.В., Гончарова С.А., Файнгольд И.И. Редокс-активные соединения в терапии лекарственно-устойчивых штаммов лейкоза Р388 мышей. *Бюл. эксперим. биол. мед.* 2024;177(2):240–245. doi: 10.47056/0365-9615-2024-177-2-240-245

Raevskaya T.A., Soldatova Yu.V., Goncharova S.A., Faingold I.I. Redox-active compounds in the

therapy of drug-resistant murine leukemia P388 strains. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2024;177:266–270. doi: 10.1007/s10517-024-06170-4

16. Lv B., Xing S., Wang Z., Zhang A., Wang Q., Bian Y., Pei Y., Sun H., Chen Y. NRF2 inhibitors: Recent progress, future design and therapeutic potential. *Eur. J. Med. Chem.* 2024;279:116822. doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116822

17. Гайнутдинов П.И., Кожин П.М., Чечушков А.В., Мартинович Г.Г., Хольшин С.В., Кандалинцева 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. ж.*. 2018;38(1):22–31. doi: 10.15372/SSMJ20180104

Gainutdinov 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 antioxidant activity of structurally related synthetic monophenols and their toxicity in tumor cells. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2018;38(1):22–31. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20180104

18. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., Павлов В.С., Ромах Л.П., Храпова М.В., Серых А.Е., Кандалинцева Н.В. Влияние новых водорастворимых фенольных антиоксидантов на активность Nrf2-подконтрольных ферментов, систему глутатиона и транслокацию Nrf2 в ядро. *Сиб. науч. мед. ж.* 2020;40(6):58–69. doi: 10.15372/SSMJ20200606

Menshchikova E.B., Zenkov N.K., Kozhin P.M., Chechushkov A.V., Pavlov V.S., Romakh L.P., Khrapova M.V., Serykh A.E., Kandalintseva N.V. Effect of new water-soluble phenolic antioxidants on the activity of Nrf2-driven enzymes, glutathione system, and Nrf2 translocation into the nucleus. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2020;40(6):58–69. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200606

19. Omatsu M., Nakanishi Y., Iwane K., Aoyama N., Duran A., Muta Y., Martinez-Ordonez A., Han Q., Agatsuma N., Mizukoshi K., … Seno H. THBS1-producing tumor-infiltrating monocyte-like cells contribute to immunosuppression and metastasis in colorectal cancer. *Nat. Commun.* 2023;14(1):5534. doi: 10.1038/s41467-023-41095-y

20. Kristinsson S.Y., Gridley G., Hoover R.N., Check D., Landgren O. Long-term risks after splenectomy among 8,149 cancer-free American veterans: a cohort study with up to 27 years follow-up. *Haematologica*. 2014;99(2):392–398. doi: 10.3324/haematol.2013.092460

21. Xue J., Ye B., Sun M. Possible pathogenic mechanisms for doxorubicin-induced splenic atrophy in a human breast cancer xenograft mouse model. *J. Appl. Toxicol.* 2024;44(10):1606–1615. doi: 10.1002/jat.4666

22. Gezer A., Ozkaraca M., Karadag Sari E., Bedir G., Aydin P., Asker H., El-Aty A.A. Ascorbic acid mitigates doxorubicin-induced spleen injury in rats: Histopathological and immunohistochemical insights. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2024;37(3):591–599.

23. Song D., Heo J.W., Kim J.S., Jung J., Jang H.H., Hwang I.G., Shim C.K., Ham J.S., Park S.Y., Lee S.H. Anti-obesity and immunomodulatory effects of Allium hookeri leaves cultivated with artificial light of different intensities on immune-depressed obese mice. *Biomed. Pharmacother.* 2024;179:117393. doi: 10.1016/j.biopha.2024.117393

24. Mughal K.S., Ikram M., Uddin Z., Rashid A., Rashid U., Khan M., Zehra N., Mughal U.S., Shah N., Amirzada I. Syringic acid improves cyclophosphamide-induced immunosuppression in a mouse model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2024;734:150777. doi: 10.1016/j.bbrc.2024.150777

25. Untch M., Mobus V., Kuhn W., Muck B.R., Thomssen C., Bauerfeind I., Harbeck N., Werner C., Lebeau A., Schneeweiss A., … Konecny G.E. Intensive dose-dense compared with conventionally scheduled preoperative chemotherapy for high-risk primary breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009;27(18):2938–2945. doi: 10.1200/JCO.2008.20.3133

26. Aiba T., Kono Y., Etoh T., Kawano Y., Oshima Y., Inomata M. Efficacy of cooling therapy and alpha-lipoic acid derivative against chemotherapy-induced alopecia in an animal model. *Cancer Sci.* 2023;114(3):1007–1014. doi: 10.1111/cas.15639

27. Perez A.M., Haberland N.I., Miteva M., Wikramanayake T.C. Chemotherapy-induced alopecia by docetaxel: Prevalence, treatment and prevention. *Curr. Oncol*. 2024;31(9):5709–5721. doi: 10.3390/curroncol31090423

28. Fearon K.C., Glass D.J., Guttridge D.C. Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways. *Cell Metab.* 2012;16(2):153–166. doi: 10.1016/j.cmet.2012.06.011

29. Yamada M., Warabi E., Oishi H., Lira V.A., Okutsu M. Muscle p62 stimulates the expression of antioxidant proteins alleviating cancer cachexia. *FASEB J.* 2023;37(9):e23156. doi: 10.1096/fj.202300349R

30. Li W., Trieu J., Blazev R., Parker B.L., Murphy K.T., Swiderski K., Lynch G.S. Sulforaphane attenuates cancer cell-induced atrophy of C2C12 myotubes. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2023;324(2):C205–C221. doi: 10.1152/ajpcell.00025.2022

31. Sun S., Zhai W., Zhang R., Cai N. Deletion of *Dux* ameliorates muscular dystrophy in mdx mice by attenuating oxidative stress via Nrf2. *FASEB J.* 2024;38(14):e23771. doi: 10.1096/fj.202400195R

Сведения об авторах:

Меньщикова Елена Брониславовна, д.м.н., ORCID: 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen7383@mail.ru
Храпова Марина Валерьевна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3397-8067, e-mail: marina.khrapova@gmail.com
Кожин Петр Михайлович, к.м.н., ORCID: 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com
Чечушков Антон Владимирович, к.м.н., ORCID: 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com
Петрова Екатерина Сергеевна, к.х.н., ORCID: 0000-0002-7640-4867, e-mail: peteka2020@yandex.ru
Серых Анастасия Евгеньевна, ORCID: 0000-0002-5817-6055, e-mail: rasiel1996@yandex.ru
Ромах Лидия Петровна, ORCID: 0009-0004-2054-3552, e-mail: lpromakh@frcftm.ru
Кандалинцева Наталья Валерьевна, д.х.н., ORCID: 0000-0001-6022-934X, e-mail: aquaphenol@mail.ru

Information about the authors:

Elena B. Menshchikova, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2367-0114, e-mail: lemen7383@mail.ru
Marina V. Khrapova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3397-8067, e-mail: marina.khrapova@gmail.com
Peter M. Kozhin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9989-9778, e-mail: kozhinpm@gmail.com
Anton V. Chechushkov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0238-4533, e-mail: achechushkov@gmail.com
Ekaterina S. Petrova, candidate of chemical sciences, ORCID: 0000-0002-7640-4867, e-mail: peteka2020@yandex.ru
Anastasia E. Serykh, ORCID: 0000-0002- 5817-6055, e-mail: rasiel1996@yandex.ru
Lidiya P. Romakh, ORCID: 0009-0004-2054-3552, e-mail: lpromakh@frcftm.ru
Natalya V. Kandalintseva, doctor of chemical sciences, ORCID: 0000-0001-6022-934X, e-mail: aquaphenol@mail.ru

Поступила в редакцию 29.09.2024
Принята к публикации 11.11.2024

Received 29.09.2024
Accepted 11.11.2024

УДК 577.114:612.616:616-092.4-099 DOI: 10.18699/SSMJ20240613
Оригинальное исследование / Research article

Влияние окисленного декстрана на морфологию семенников крыс Вистар при остром токсическом воздействии

О.П. Молодых, А.М. Синявская, А.В. Троицкий, Н.А. Пальчикова, О.И. Кузьминова, И.Ю. Деулин, В.Г. Селятицкая

ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Резюме

Исследование состоятельности сперматогенного эпителия при токсических поражениях и их коррекции в эксперименте необходимо для понимания возможностей восстановления репродуктивной функции в условиях нарастающего техногенного загрязнения. Цель исследования – оценить уровень патоморфологических изменений семенников крыс Вистар и интенсивность стероидогенеза при введении эндотоксина липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli* и последующей коррекции интоксикации назначением окисленного декстрана. **Материал и методы.** Формировали три группы крыс Вистар с интраперитонеальным введением: 2 мл 0,9%-го раствора NaCl ($n = 5$, контроль); ЛПС *E. coli* в дозе 50 мкг/кг массы тела ($n = 5$); ЛПС *E. coli* в той же дозе с последующим введением 2 мл 2%-го раствора окисленного декстрана (ОД) ($n = 5$). Оценивали содержание в сыворотке крови тестостерона, патоморфологические изменения семенников. **Результаты и их обсуждение**. Введение ЛПС привело к умеренной гипотрофии сперматогенного эпителия в связи с уменьшением численной плотности сперматоцитов и сперматогоний (на 22,4 и 26,6 % соответственно), снижению численной плотности клеток Лейдига на 14,5 % и уровня тестостерона в 2,3 раза (у 80 % животных уровень тестостерона варьировал от 4,3 до 2,0 нмоль/л). Введение ОД после ЛПС обусловило увеличение диаметра семенных канальцев и высоты сперматогенного эпителия (на 2,9 и 3,3 % соответственно), численной плотности сперматоцитов и сперматогоний (на 16,8 и 14,6 % соответственно); также отмечен рост отношения числа сперматоцитов к количеству сперматогоний (на 6,8 %) по сравнению с контролем. Численная плотность клеток Лейдига выросла на 4 %, уровень тестостерона – в 1,7 раза (у 60 % животных уровень тестостерона варьировал от 12,7 до 37,3 нмоль/л) по сравнению с введением ЛПС. **Заключение.** Однократное введение ОД после острого воздействия эндотоксином ЛПС *E. coli* инициировало начало восстановления гистологической структуры сперматогенного эпителия семенных канальцев.

Ключевые слова: токсическое воздействие, липополисахарид *E. coli*, окисленный декстран, семенники, тестостерон, морфология, иммуногистохимия, морфометрия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств федерального бюджета в рамках Государственного задания ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины (регистрационный номер темы НИР в ЕГИСУ НИОКТР 122032200241-5).

Автор для переписки: Молодых О.П., e-mail: opmolodykh@frcftm.ru

Для цитирования: Молодых О.П., Синявская А.М., Троицкий А.В., Пальчикова Н.А., Кузьминова О.И., Деулин И.Ю., Селятицкая В.Г. Влияние окисленного декстрана на морфологию семенников крыс Вистар при остром токсическом воздействии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):138–145. doi: 10.18699/SSMJ20240613

The effect of oxidized dextran on the morphology of Wistar rat testes under acute toxic effects

O.P. Molodykh, A.M. Sinyavskaya, A.V. Troitskiy, N.A. Palchikova, O.I. Kuzminova, I.Yu. Deulin, V.G. Selyatitskaya

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakova st., 2

Abstract

The study of the viability of the spermatogenic epithelium in case of toxic lesions and their correction in experiment is a key factor for understanding the possibilities of restoring reproductive function in conditions of increasing technogenic pollution. The purpose of the study was to evaluate the level of pathomorphological changes in the testes of Wistar rats and the intensity of steroidogenesis upon administration of *Escherichia coli* lipopolysaccharide (LPS) endotoxin and subsequent correction of intoxication by administration of oxidized dextran. **Material and methods**. Three groups of Wistar rats were formed, intraperitoneal administration: 2 ml of 0.9 % NaCl solution (n = 5, control); *E. coli* LPS at a dose of 50 μg/kg body weight (n = 5); *E. coli* LPS at the same dose, followed by the introduction of 2 ml of a 2 % solution of oxidized dextran (OD) (n = 5). The content of testosterone in the blood serum and pathomorphological changes in the testes were assessed. **Results and discussion.** The administration of LPS led to moderate hypotrophy of the spermatogenic epithelium due to a decrease in the numerical density of spermatocytes and spermatogonia (by 22.4 and 26.6 %, respectively); a decrease in the numerical density of Leydig cells by 14.5 % and testosterone levels by 2.3 times (in 80 % of animals, testosterone levels ranged from 4.3 to 2.0 nmol/l). The injection of OD after LPS caused an increase in seminiferous tubule diameter and the spermatogenic epithelium height (by 2,9 и 3,3 %, respectively), in numerical density of spermatocytes and spermatogonia (by 16.8 and 14.6 %, respectively) compared to LPS; increase in the ratio of the number of spermatocytes to spermatogonia (by 6.8 %) compared to the control. The numerical density of Leydig cells increased by 4 %, the testosterone level increased by 1.7 times (in 60 % of animals the testosterone level varied from 12.7 to 37.3 nmol/l) compared to LPS. **Conclusions.** A single administration of OD after acute exposure to *E. coli* LPS endotoxin initiated the onset of restoration of the histological structure of the spermatogenic epithelium of the seminiferous tubules.

Key words: toxic effects, *E. coli* lipopolysaccharide, oxidized dextran, testes, testosterone, morphology, immunohistochemistry, morphometry.

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

Financing. The work was carried out at the expense of the federal budget within the framework of the State assignment of the Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine (registration No 122032200241-5).

Correspondence author: Molodykh O.P., e-mail: opmolodykh@frcftm.ru

Citation: Molodykh O.P., Sinyavskaya A.M., Troitskiy A.V. Palchikova N.A., Kuzminova O.I., Deulin I.Yu., Selyatitskaya V.G. The effect of oxidized dextran on the morphology of Wistar rat testes under acute toxic effects. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):138–145. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240613

Введение

Мужская репродуктивная система крайне чувствительна к действию разнообразных экзо- и эндогенных факторов, что проявляется снижением репродуктивных возможностей, приводя в конечном итоге к формированию бесплодия [1, 2]. Мужское бесплодие представляет собой клиническое проявление множества различных патологических состояний, затрагивающих как половую, так и другие системы организма, при этом значительную долю его случаев составляют нарушения качества спермы [3]. Исследование состоятельности сперматогенного эпителия (СЭ) – стероидогенеза и сперматогенеза, при воздействии токсинами и в ходе последующих детоксикационных мероприятий является ключевым моментом для понимания возможностей восстановления репродуктивной функции в условиях нарастающего техногенного загрязнения.

Для изучения возможностей восстановления функциональных резервов СЭ под действием лекарственных препаратов или разнообразных биологически активных соединений используют различные экспериментальные модели его нарушений (гамма-облучение тела животных [4], микроволновое излучение [5], введение препаратов, обладающих гонадотоксичностью [6], введение общетоксических соединений [7], цитостатиков [8] и др.). В частности, моделирование в эксперименте нарушений сперматогенеза введением липополисахаридов (ЛПС) грамотрицательных бактерий является одной из используемых в настоящее время методик [9, 10].

Для коррекции процессов сперматогенеза преимущественно используют антиоксидантные комплексы разного состава [11], включая витамин D [12], но возможны и другие подходы. Так, ранее в ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины разработана технология окисления декстрана, которая позволяет использовать окисленный декстран (ОД) в качестве полимерного биосовместимого носителя и иммобилизовать на нем различные лекарственные препараты с целью доставки их в клетки сосудистого эндотелия и макрофаги [13]. Исследования биологических свойств ОД позволили установить у него

ряд важных фармакологических эффектов, включая противовоспалительный эффект, который опосредован через выработку противовоспалительных цитокинов активированными макрофагами; противовирусный эффект, опосредованный через стимуляцию эндогенного интерфероногенеза; противофибротический эффект, связанный с выработкой активированными макрофагами тканевых протеиназ; эффект профилактики микротромбозов при воспалительных процессах, в том числе при атипичной пневмонии; гепатопротекторный эффект, связанный со способностью ОД снижать гепатотоксичность других лекарственных препаратов [14]. ОД в ходе доклинических исследований по международному стандарту GLP показал, что он практически безопасен и не вызывает каких-либо побочных эффектов даже при длительном внутривенном введении в больших дозах. Вышеизложенные сведения позволили предположить, что применение ОД может быть перспективным направлением и в коррекции нарушений сперматогенеза, вызываемых интоксикацией организма.

Цель исследования – оценить уровень патоморфологических изменений семенников и интенсивность стероидогенеза по уровню тестостерона в сыворотке крови крыс Вистар при введении им эндотоксина липополисахарида *E. coli* и последующей коррекции его эффектов ОД.

Материал и методы

Исследование выполнено на самцах крыс Wistar массой 180–200 г, которые находились в условиях вивария со свободным доступом к стандартному корму и питьевой воде. Животных случайным образом разделили на три группы. Крысам группы 1 (контрольной, $n = 5$), однократно интраперитонеально вводили 2 мл 0,9%-го раствора NaCl, крысам группы 2 ($n = 5$) аналогично вводили 2 мл 0,9%-го раствора с ЛПС *E. coli* (Endotoxin *Escherichia coli* O55: B5, Servicebio, Китай) в дозе 50 мкг/кг массы тела; крысам группы 3 ($n = 5$) вводили аналогичный объем раствора ЛПС *E. coli* в той же дозе с последующим введением 2 мл 2%-го раствора ОД. ОД получен в лаборатории биосовместимых наночастиц, наноматериалов и средств адресной доставки ФИЦ ФТМ [13]. Через трое суток после начала эксперимента животных декапитировали, забирали образцы крови и семенники. Концентрацию тестостерона в сыворотке крови измеряли с использованием набора Тестостерон-ИФА-БЕСТ («Вектор-Бест», Россия). Для светооптического исследования семенники обрабатывали по стандартной для получения парафиновых срезов методике; полученные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Оценку площади интерстициальной ткани семенников производили на парафиновых срезах, окрашенных на коллаген/ретикулиновые волокна при помощи импрегнации серебром (аммиачное серебро) по общепринятой методике. Для иммуногистохимического исследования использовали непрямой стрептавидин-пероксидазный метод с применением тест-системы для визуализации рецепторов к инсулину; использовали тест-систему и первичные поликлональные антитела anti-Insulin Receptor в разведении, рекомендованном производителем (Arigobio, КНР).

Стекла со срезами сканировали на цифровом гистопатологическом сканере микропрепаратов KF-PRO-005 (Konfoong Biotech International Co., КНР). Гистопатологический и морфометрический анализ проводили на сканированных изображениях с помощью программного обеспечения KF-Viewe (KFBIO Digital Slide Viewer, КНР) для измерения абсолютных длины и площади структур – диаметра семенного канальца (СК) и высоты семенного эпителия, общей площади СК ($S_{ск}$), площади СК, занимаемой сперматидами ($S_{сптд}$). Программное обеспечение ImageJ (National Institutes of Health, США) использовали для измерения абсолютной численности клеток семенного эпителия СК. Затем определяли вторичные морфометрические показатели: относительную площадь стромы семенников ($S_{стр}/S_{срез}$), в 9–10-м типе поперечных срезов СК (лептотена сперматоцитов) [15] – относительную площадь, занимаемую сперматидами в СК ($S_{сптд}/S_{ск}$), численную плотность сперматоцитов ($N_{спц}/S_{ск}$) и сперматогоний ($N_{спг}/S_{ск}$) в СК, отношение численности сперматоцитов и сперматогоний ($N_{спц}/N_{спг}$), численную плотность клеток Лейдига в строме ($N_{клЛ}/S_{стр}$) в 10 произвольно взятых полях зрения при увеличении 200. Экспрессию инсулиновых рецепторов оценивали суммарно по доле позитивно окрашенных структур среза семенника от общей площади среза с помощью программы ImageJ.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 10.0. Для множественных сравнений применяли критерий Краскела – Уоллиса, затем при парных сравнениях – критерий Манна – Уитни. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – стандартная ошибка. Уровень статистической значимости p принимали равным 0,05.

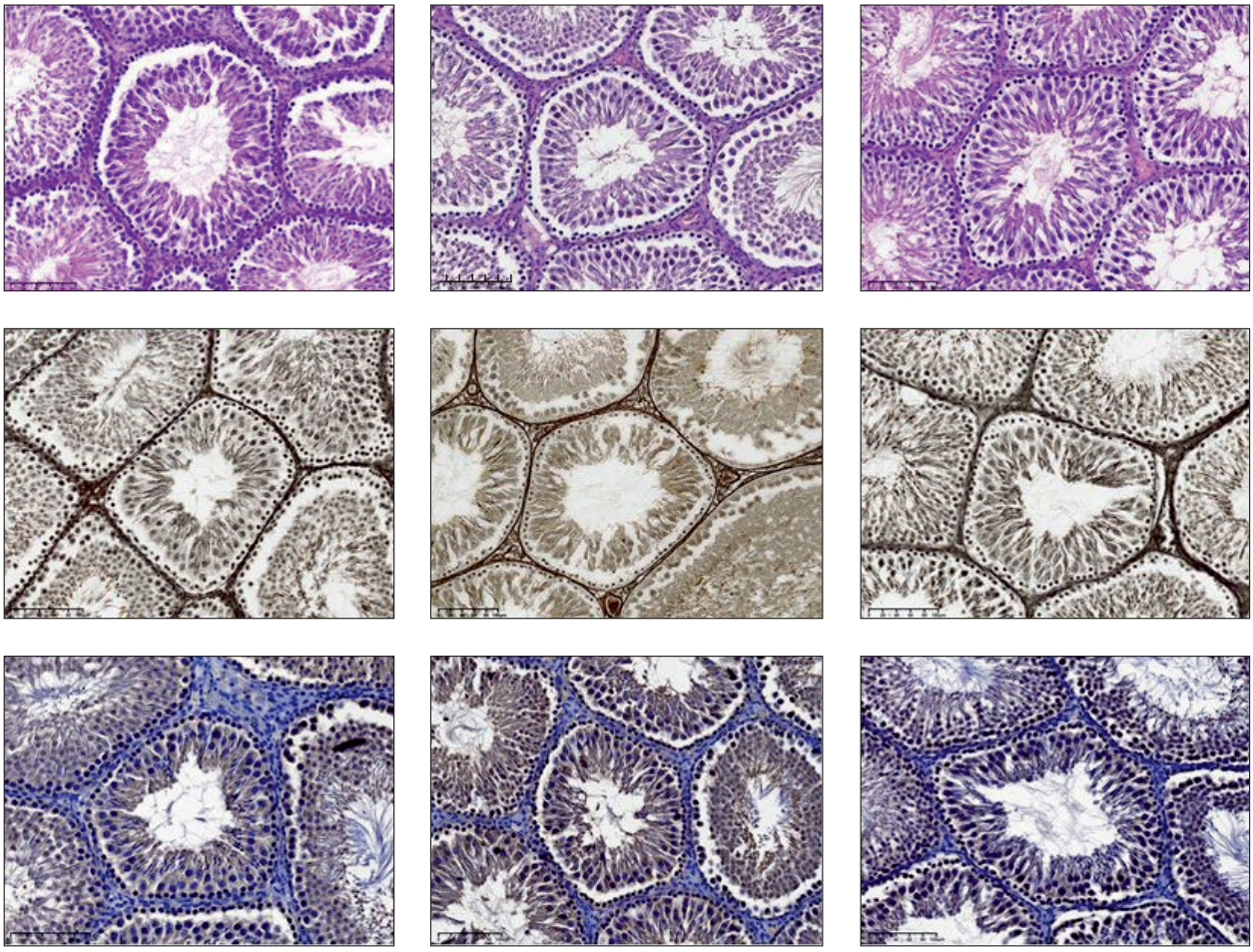
Результаты и их обсуждение

Макроскопическое исследование показало, что гистоархитектоника семенников у животных

всех групп была не изменена, основную площадь срезов занимали извитые СК округлой формы, отделенные друг от друга тонкой прослойкой интерстициальной соединительной ткани с кровеносными сосудами, умеренно полнокровными (рисунок).

У крыс группы 2 (ЛПС) в СЭ отдельных СК выявили участки умеренной дистрофии, проявляющейся в неравномерности толщины эпителия в пределах СК и умеренной гипотрофии СЭ – снижении его высоты на 15 %, $p < 0{,}001$ (таблица). Эти изменения были обусловлены уменьшением численной плотности сперматоцитов и сперматогоний в канальце (на 22,4 и 26,6 % соответственно, $p < 0{,}001$ для обоих типов клеток). В межканальцевом интерстиции регистрировали слабый отек и умеренный лимфостаз, но достоверного изменения соотношения стромы и паренхимы не наблюдали. Численная плотность клеток Лейдига была снижена на 14,5 %, а уровня тестостерона – в 2,3 раза (у четырех из пяти животных он варьировал от 4,3 до 2,0 нмоль/л).

Результаты экспериментальных исследований воздействия ЛПС грамотрицательных бактерий на сперматогенез мелких млекопитающих не дают однозначных ответов об отрицательном эффекте эндотоксинов. Известна способность ЛПС в низких дозах стимулировать иммунную систему – стимуляция клеток Лейдига из семенников мышей ЛПС в дозах 0,1, 1 и 5 мкг/мл *in vitro* привела к росту экспрессии ими рецептора IL-18 (IL-18R) и IL-1β-превращающего фермен-



Семенник крысы Вистар. Поперечные срезы СК. По вертикали: левый ряд – контроль, средний ряд – ЛПС, правый ряд – ЛПС + ОД. По горизонтали: верхний ряд – окраска гематоксилином и эозином; средний ряд – окраска серебром; нижний ряд – иммуногистохимическое окрашивание с поликлональными антителами anti-Insulin Receptor (коричневое окрашивание); докраска ядер гематокисилином (голубое окрашивание); ув. ×400

Wistar rat testis. Cross-sections of the seminiferous tubule. Vertically: left row – control, middle row – LPS, right row – LPS + OD. Horizontal: top row – hematoxylin and eosin staining; middle row – silver painted; bottom row – immunohistochemical staining with polyclonal anti-Insulin Receptor antibodies (brown staining); counterstaining of nuclei with hematoxylin (blue staining); magnification ×400

Уровень тестостерона в сыворотке крови и морфометрические параметры семенных канальцев крыс Вистар разных экспериментальных групп (M ± m)

Serum testosterone levels and morphometric parameters of seminiferous tubules of Wistar rats (M ± m)

Показатель	Контроль	ЛПС	ЛПС + ОД	p_{KW}
Содержание тестостерона, нмоль/л	19,5 ± 7,5	8,4 ± 5,3	14,3 ± 6,7	> 0,05
Диаметр СК, мкм	228,4 ± 2,3	225,3 ± 2,0	231,8 ± 1,3 p_{MW} = 0,002#	0,003
Высота эпителия СК, мкм	67,2 ± 0,9	57,2 ± 0,7 p_{MW} < 0,001*	59,1 ± 0,7 p_{MW} < 0,001*	0,003
$S_{спд}/S_{ск}$	0,249 ± 0,005	0,247 ± 0,004	0,250 ± 0,006	> 0,05
$N_{спц}/S_{ск}$, ед/мкм^2, 10^{-3}	1,426 ± 0,042	1,106 ± 0,046 p_{MW} < 0,001*	1,291 ± 0,032 p_{MW} = 0,003#	0,005
$N_{спг}/S_{ск}$, ед/мкм^2, 10^{-3}	1,546 ± 0,048	1,135 ± 0,047 p_{MW} < 0,001*	1,301 ± 0,030 p_{MW} = 0,025* p_{MW} = 0,013#	0,005
$N_{спц}/N_{спг}$	0,933 ± 0,020	0,980 ± 0,016	0,996 ± 0,016 p_{MW} = 0,015*	0,005
$N_{клЛ}/S_{стр}$, ед/мкм^2, 10^{-2}	0,716 ± 0,047	0,612 ± 0,045	0,638 ± 0,033	> 0,05
$S_{стр}/S_{срез}$, %	9,4 ± 0,5	10,0 ± 0,6	8,3 ± 0,6	> 0,05
Экспрессия рецепторов инсулина, %	8,8 ± 1,1	17,4 ± 1,8 p_{MW} < 0,001*	8,3 ± 0,94	0,005

Примечание. p_{KW}, p_{MW} – уровень статистической значимости по тесту Краскела – Уоллиса и Манна – Уитни соответственно; * – отличие от величины соответствующего показателя группы контроля; # – отличие от величины соответствующего показателя группы ЛПС.

та (ICE) и, как следствие, увеличению пролиферации зародышевых сперматогенных клеток и высокой выживаемости клеток в конце культивирования (более 80 %) [16, 17]. Введение эндотоксина в высоких дозах (50 мкг/кг массы тела), напротив, сопровождалось уменьшением активности ключевых ферментов пентозофосфатного пути, анаэробного гликолиза, а также НАДН- и НАДФН-дегидрогеназ в цитоплазме сперматоцитов 1-го порядка СК (где протекает первое, длительное по времени, мейотическое деление). Это снижение, сохраняющееся в течение длительного периода после введения эндотоксина (с 10 до 60 сут), приводило к угнетению синтеза пентоз, необходимых для построения молекул нуклеотидов и нуклеиновых кислот, и нарушению процессов пролиферации [9]. Эти данные согласуются с нашими результатами для аналогичной дозы уже на третьи сутки после введения ЛПС.

При иммуногистохимическом окрашивании срезов семенников в группе ЛПС отмечали резкое увеличение экспрессии рецепторов к инсулину – в 1,98 раза по сравнению с контролем (p < 0,001). Известно, что семейство инсулиноподобных факторов роста (IGF), состоящее из инсулина и инсулиноподобных факторов роста I (IGF1) и II (IGF2), обеспечивает контроль как первичного определения пола и развития яичек, так и сперматогенеза и стероидогенеза [18]. Белки-субстраты инсулинового рецептора (IRS) являются ключевыми медиаторами передачи сигналов инсулина и инсулиноподобного фактора роста (IGF) [19]. Уже в 90-х годах прошлого столетия установлено, что IGF-I является потенциальным паракринным/аутокринным регулятором внутри сперматогенного компартмента, а его рецепторы обнаружены в большей степени в СК, обогащенных клетками Сертоли, в сперматогониях и первичных сперматоцитах [20]. Современные данные подтверждают, что инсулин не регулирует уровень глюкозы в интерстиции семенников в отличие от канальцев [21], поэтому выявленное в нашем исследовании увеличение экспрессии рецепторов инсулина в семенниках можно отнести к компенсаторной реакции сниженной популяции сперматоцитов на эндотоксин. Введение ОД возвращало величину этого показателя к значениям у контрольных животных.

У животных группы 3 (ЛПС + ОД) сохранялась относительная неравномерность высоты сперматогенного эпителия в отдельных извитых канальцах, но по сравнению с группой 2 наблюдалась тенденция восстановления СЭ с увеличением диаметра СК и высоты СЭ (на 2,9 %, p = 0,002 и 3,3 % соответственно). Численная плотность сперматоцитов и сперматогоний оставалась мень-

ше контрольных значений, но увеличилась в сравнении с величинами аналогичных показателей у крыс группы с введением ЛПС (на 16,8 и 14,6 %, p = 0,003 и p = 0,013 соответственно). Следует отметить рост величины отношения числа сперматоцитов к количеству сперматогоний (на 6,8 %, p = 0,015) по сравнению с контрольной группой, что указывает на повышение активности процессов сперматогенеза. Сохранялся умеренный отек межканальцевого интерстиция и умеренный лимфостаз, но достоверного изменения соотношения стромы и паренхимы не регистрировали. Численная плотность клеток Лейдига сохранялась сниженной по сравнению с контрольными значениями, однако повышалась по сравнению с группой 2 на 4 % одновременно с увеличением уровня тестостерона в 1,7 раза (у трех из пяти животных он варьировал от 12,7 до 37,3 нмоль/л).

Следовательно, полученные результаты позволяют предполагать, что введение ОД после токсического воздействия улучшает как секреторную (о чем свидетельствует повышение содержания тестостерона), так и экскреторную функцию семенников, на что указывает повышение отношения числа сперматоцитов к количеству сперматогоний.

Полученные нами результаты согласуются с данными клинического исследования [22], в котором показано, что использование фармацевтической композиции с ОД в виде ректальных свечей при восстановлении мужчин с хроническим простатитом, ассоциированным с вторичным бесплодием, снижает количество лейкоцитов и улучшает параметры эякулята, как его общие свойства, так и основные характеристики сперматозоидов, включая повышение их концентрации и количества в эякуляте. Анализ результатов исследований свойств ОД на экспериментальных моделях и в клинических исследованиях позволил авторам работы [23] предложить в качестве механизма действия ОД, направленного на восстановление сперматогенеза при инфекционно-воспалительных процессах, активацию макрофагов в целом и тестикулярных макрофагов в частности с усилением процессов их динамической поляризации, изменением фенотипа и функциональной активности, поскольку хорошо известно, что тестикулярные макрофаги являются важным звеном в процессе сперматогенеза.

Заключение

Однократное введение ОД после острого воздействия эндотоксином ЛПС *E. coli* инициирует начало восстановления гистологической структуры сперматогенного эпителия СК.

Список литературы

1. Tirpák F., Greifová H., Lukáč N., Stawarz R., Massányi P. Exogenous factors affecting the functional integrity of male reproduction. *Life (Basel).* 2021;11(3):213. doi: 10.3390/life11030213

2. Литвинова Н.А., Лесников А.И., Толочко Т.А., Шмелев А.А. Эндогенные и экзогенные факторы, влияющие на мужскую фертильность. *Фундам. и клин. мед.* 2021;6(2):124–135. doi: 10.23946/2500-0764-2021-6-2-124-135

3. Pizzol D., Foresta C., Garolla A., Demurtas J., Trott M., Bertoldo A., Smith L. Pollutants and sperm quality: a systematic review and meta-analysis. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021;28(4):4095–4103. doi: 10.1007/s11356-020-11589-z

4. Демяшкин Г.А., Корякин С.Н., Вадюхин М.А., Щекин В.И. Морфологическая характеристика семенников в условии коррекции гипосперматогенеза (экспериментальное исследование). *Крым. ж. эксперим. и клин. мед.* 2021;11(2):6–10. doi: 10.37279/2224-6444-2021-11-2-6-10

5. Логинов П.В., Николаев А.А. Коррекция сперматогенеза в условиях воздействия микроволнового излучения КВЧ-диапазона. *Фундам. исслед.* 2015;(2-14):3085–3090.

6. Запривода Л.П., Остапенко О.В., Яценко В.П. Сравнительная характеристика морфологических методов оценки гонадотоксичного эффекта фак-торов окружающей среды. *Математические исследования в естественных науках*. 2015;(12):171–179.

7. Камилов Ф.Х., Галимов Ш.Н., Аглетдинов Э.Ф., Галимова Э.Ф., Хабиров Р.Э. Гормонально-метаболические нарушения репродуктивной функции в условиях отравления хлорорганическими соединениями. *Мед. вестн. Башкортостана.* 2007;2(3-4):42–46.

8. Боровская Т.Г., Дыгай А.М., Жданов В.В., Румпель О.А., Пахомова А.В., Перова А.В., Зюзьков Г.Н., Гольдберг В.Е. Способ коррекции нарушений сперматогенеза, вызванных цитостатичес-ким воздействием. Пат. 2406527 РФ, опубл. 20.12.2010.

9. Поплавская Е.А., Лис Р.Е. Влияние бактериального липополисахарида *Escherichia coli,* введенного самцам крыс, на активность некоторых ферментов в цитоплазме сперматоцитов первого порядка. *Вестн. ВГМУ*. 2013;12(4):50–56.

10. Гюлазян Н.М., Белая О.Ф., Малов В.А., Пак С.Г., Волчкова Е.В. Липополисахариды/эндотоксины грамотрицательных бактерий: роль в развитии интоксикации. *Эпидемиол. и инфекц. болезни.* 2014;(2):11–16.

11. Калинченко С.Ю., Тюзиков И.А. Окислительный стресс и мужское бесплодие взаимосвязанные пандемии XXI в. Современные фармакотерапевтические возможности патогенетической коррекции нарушений сперматогенеза препаратами L-карнитина/ацетил-L-карнитина. *Эффектив. фармакотерапия*. 2017;(22):6–19.

12. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гришина Т.Р., Малявская С.И. О ролях витамина D в профилактике и терапии мужского бесплодия. *Качественная клиническая практика.* 2017;(3):61–71.

13. Шкурупий В.А., Копылов А.Н., Троицкий А.В. Способ получения окисленного декстрана. Пат. 2618341 РФ; опубл. 03.05.2017.

14. Шкурупий В.А. Туберкулезный гранулематоз. Цитофизиология и адресная терапия. М.: Изд-во РАМН, 2007. 536 с.

15. Ernst C., Eling N., Martinez-Jimenez C.P., Marioni J.C., Odom D.T. Staged developmental mapping and X chromosome transcriptional dynamics during mouse spermatogenesis. *Nat. Commun*. 2019;10(1):1–20. doi: 10.1038/s41467-019-09182-1

16. Caroff M., Novikov A. Lipopolysaccharides: structure, function and bacterial identifications. *OCL (Oilseeds and fats, crops and lipids).* 2020;27(31):1–10. doi: 10.1051/ocl/2020025

17. AbuElhija M., Lunenfeld E., Eldar-Geva T., Huleihel M. Lipopolysaccharide increased the expression levels of IL-18, ICE and IL-18 R in murine leydig cells. *Am. J. Reprod. Immunol*. 2008;60(2):151–159. doi: 10.1111/j.1600-0897.2008.00607.x

18. Griffeth R.J., Bianda V., Nef S. The emerging role of insulin-like growth factors in testis development and function. *Basic Clin. Androl*. 2014;24(12). doi: 10.1186/2051-4190-24-12

19. Griffeth R.J., Carretero J., Burks D.J. Insulin receptor substrate 2 is required for testicular development. *PLoS One.* 2013;31;8(5):e62103. doi: 10.1371/journal.pone.0062103

20. Gac F.L., Loir M., le Bail P.Y., Ollitrault M. Insulin-like growth factor (IGF-I) mRNA and IGF-I receptor in trout testis and in isolated spermatogenic and Sertoli cells. *Mol. Reprod. Dev.* 1996;44(1):23–35. doi: 10.1002/(SICI)1098-2795(199605)44:1<23::AID-MRD3>3.0.CO;2-V

21. Pelletier R.M., Layeghkhavidaki H., Vitale M.L. Glucose, insulin, insulin receptor subunits α and β in normal and spontaneously diabetic and obese *ob/ob* and *db/db* infertile mouse testis and hypophysis. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2020;18(1):25. doi: 10.1186/s12958-020-00583-2

22. Новикова Е.Г., Троицкий А.В., Селятицкая В.Г., Ука Г.У., Нотов К.Г., Титяев И.И., Тихонов И.В. Динамика показателей спермограммы мужчин с хроническим простатитом, ассоциированным с вторичным бесплодием на фоне применения свечей андроэксперт SV1. *Урология*. 2022;(2):59–65. doi: 10.18565/urology.2022.2.59-65

23. Novikova E.G., Troitsky A.V., Bystrova T.N., Churina E.H., Urazova O.I. Pathophysiological mechanisms of the therapeutic effectiveness of oxidized dextrane in violations of spermatogenesis of infectious and inflammatory genesis. *Acta Scientific Medical Sciences.* 2024;8(6). doi: 10.31080/ASMS.2024.08.1834

References

1. Tirpák F., Greifová H., Lukáč N., Stawarz R., Massányi P. Exogenous factors affecting the functional integrity of male reproduction. *Life (Basel).* 2021;11(3):213. doi: 10.3390/life11030213

2. Litvinova N.A., Lesnikov A.I., Tolochko T.A., Shmelev A.A. Factors affecting male fertility: a review. *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina = Fundamental and Clinical Medicine.* 2021;6(2):124–135. [In Russian]. doi: 10.23946/2500-0764-2021-6-2-124-135

3. Pizzol D., Foresta C., Garolla A., Demurtas J., Trott M., Bertoldo A., Smith L. Pollutants and sperm quality: a systematic review and meta-analysis. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021;28(4):4095–4103. doi: 10.1007/s11356-020-11589-z

4. Demyashkin G.A., Koryakin S.N., Vadyukhin M.A., Shchekin V.I. Morphological characteristics of the testis under conditions of correction of hypospermatogenesis (experimental research). *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny = Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2021;11(2):6–10. [In Russian]. doi: 10.37279/2224-6444-2021-11-2-6-10

5. Loginov P.V., Nikolaev A.A. Spermatogenesis correction under conditions of EHF microwave radiation exposure. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research*. [In Russian]. 2015;(2-14):3085–3090.

6. Zaprivoda L.P., Ostapenko O.V., Yatsenko V.P. Comparative characteristics of morphological methods for assessing the gonadotoxic effect of environmental factors. *Matematicheskiye issledovaniya v yestestvennykh naukakh = Mathematical Research in Natural Sciences.* 2015;(12):171–179. [In Russian].

7. Kamilov F.Kh., Galimov Sh.N., Agletdinov E.F., Galimova E.F., Khabirov R.E. The hormonal and metabolic disorders of he-rat's reproductive system induced by chlorinated organic substances. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Medical Herald of Bashkrtostan.* 2007;2(3-4):42–46. [In Russian].

8. Borovskaya T.G., Dygai A.M., Zhdanov V.V., Rumpel O.A., Pakhomova A.V., Perova A.V., Zyuzkov G.N., Goldberg V.E. Method for correction of spermatogenesis disorders caused by cytostatic action. Pat. 2406527 RF, publ. 20.12.2010. [In Russian].

9. Poplavskaya E.A., Lis R.E. The effect of bacterial lipopolysaccharide Escherichia coli administered to male rats on the activity of some enzymes in the cytoplasm of first-order spermatocytes. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Vestnik of Vitebsk State Medical University.* 2013;12(4):50–56. [In Russian].

10. Gyulazyan N.M., Belaya O.F., Malov V.A., Pak S.G., Volchkova E.V. Lipopolysaccharides/endotoxins of gram-negative bacteria: role in the development of intoxication. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*. 2014;(2):11–16. [In Russian].

11. Kalinchenko S.Yu., Tyuzikov I.A. Oxidative stress and male infertility – XXI-century inter-related pandemics. Current pharmacotherapeutic opportunities of pathogenetic correction of spermatogenesis disorders with L-carnitine/acetyl-L-carnitine. *Effektivnaya farmakoterapiya = Effective Pharmacotherapy.* 2017;(22):6–19. [In Russian].

12. Gromova O.A., Torshin I.Yu., Grishina T.R., Malyavskaya S. The roles of vitamin D in the prevention and the therapy of male infertility. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika = Quality Clinical Practice.* 2017;(3):61–71. [In Russian].

13. Shkurupy V.A., Kopylov A.N., Troitskiy A.V. Method for producing oxidized dextran. Patent 2618341 RF; published 03.05.2017. [In Russian].

14. Shkurupy V.A. Tuberculous granulomatosis. Cytophysiology and address therapy. Moscow: RAMS Publishing House, 2007. 536 p. [In Russian].

15. Ernst C., Eling N., Martinez-Jimenez C.P., Marioni J.C., Odom D.T. Staged developmental mapping and X chromosome transcriptional dynamics during mouse spermatogenesis. *Nat. Commun*. 2019;10(1):1–20. doi: 10.1038/s41467-019-09182-1

16. Caroff M., Novikov A. Lipopolysaccharides: structure, function and bacterial identifications. *OCL (Oilseeds and fats, crops and lipids).* 2020;27(31):1–10. doi: 10.1051/ocl/2020025

17. AbuElhija M., Lunenfeld E., Eldar-Geva T., Huleihel M. Lipopolysaccharide increased the expression levels of IL-18, ICE and IL-18 R in murine leydig cells. *Am. J. Reprod. Immunol*. 2008;60(2):151–159. doi: 10.1111/j.1600-0897.2008.00607.x

18. Griffeth R.J., Bianda V., Nef S. The emerging role of insulin-like growth factors in testis development and function. *Basic Clin. Androl*. 2014;24(12). doi: 10.1186/2051-4190-24-12

19. Griffeth R.J., Carretero J., Burks D.J. Insulin receptor substrate 2 is required for testicular development. *PLoS One.* 2013;31;8(5):e62103. doi: 10.1371/journal.pone.0062103

20. Gac F.L., Loir M., le Bail P.Y., Ollitrault M. Insulin-like growth factor (IGF-I) mRNA and IGF-I receptor in trout testis and in isolated spermatogenic and Sertoli cells. *Mol. Reprod. Dev.* 1996;44(1):23–35. doi: 10.1002/(SICI)1098-2795(199605)44:1<23::AID-MRD3>3.0.CO;2-V

21. Pelletier R.M., Layeghkhavidaki H., Vitale M.L. Glucose, insulin, insulin receptor subunits α and β in normal and spontaneously diabetic and obese *ob/ob* and *db/db* infertile mouse testis and hypophysis. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2020;18(1):25. doi: 10.1186/s12958-020-00583-2

22. Novikova E.G., Troitsky A.V., Selyatitskaya V.G., Ukah G.U., Notov K.G., Tityaev I.I., Tikhonov I.V. Dynamics of sperm indicators in men with chronic prostatitis associated with secondary infertility based on the use of Androexpert Sv1 suppositories. *Urologiya = Urology*. 2022;(2):59–65. [In Russian]. doi: 10.18565/urology.2022.2.59-65

23. Novikova E.G., Troitsky A.V., Bystrova T.N., Churina E.H., Urazova O.I. Pathophysiological mechanisms of the therapeutic effectiveness of oxidized dextrane in violations of spermatogenesis of infectious and inflammatory genesis. *Acta Scientific Medical Sciences.* 2024;8(6). doi: 10.31080/ASMS.2024.08.1834

Сведения об авторах:

Молодых Ольга Павловна, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0002-1001-3310, e-mail: opmolodykh@frcftm.ru
Синявская Анна Максимовна, к.м.н., e-mail: an.sadykova@yandex.ru
Троицкий Александр Васильевич, к.м.н., ORCID: 0000-0001-9407-5377, e-mail: pharm2008@yandex.ru
Пальчикова Наталья Александровна, д.б.н., ORCID: 0000-0002-3093-0749, e-mail: napalchikova@frcftm.ru
Кузьминова Ольга Ивановна, к.м.н., e-mail: oikuzminova@frcftm.ru
Деулин Илья Юрьевич, ORCID: 0000-0001-9470-4153, e-mail: diy@frcftm.ru
Селятицкая Вера Георгиевна, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0003-4534-7289, e-mail: vgselyatitskaya@frcftm.ru

Information about the authors:

Olga P. Molodykh, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0002-1001-3310, e-mail: opmolodykh@frcftm.ru
Anna M. Sinyavskaya, candidate of medical sciences, e-mail: an.sadykova@yandex.ru
Alexandr V. Troitskiy, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-9407-5377, e-mail: pharm2008@yandex.ru
Natalya A. Palchikova, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0002-3093-0749, e-mail: napalchikova@frcftm.ru
Olga I. Kuzminova, candidate of medical sciences, e-mail: oikuzminova@frcftm.ru
Ilia Yu. Deulin, ORCID: 0000-0001-9470-4153, e-mail: diy@frcftm.ru
Vera G. Selyatitskaya, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0003-4534-7289, e-mail: vgselyatitskaya@frcftm.ru

Поступила в редакцию 11.10.2024
Принята к публикации 09.11.2024

Received 11.10.2024
Accepted 09.11.2024

УДК 616.5:616-001.4 DOI: 10.18699/SSMJ20240614
Оригинальное исследование / Research article

Ранозаживляющие свойства химерной формы GM-CSF человека на модели ожоговой травмы у крыс

М.Б. Пыхтина[1], С.М. Мирошниченко[1], М.А. Карпов[1, 2], А.А. Абышев[1, 2], К.И. Мосалев[1] М.В. Котова[1], А.Б. Беклемишев[1], Р.А. Князев[1]

[1] ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2
[2] Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Резюме

Термические ожоги являются одной из распространенных видов травм человека, вызывая в тяжелых случаях обширный иммунный ответ как локально в ране, так и системно. Актуальной задачей остается поиск новых средств местного лечения ожоговых ран. Цель исследования – изучить ранозаживляющие свойства рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ryGM-CSF), а также его пролонгированной химерной формы с аполипопротеином AI человека (ryGM-CSF-apoAI) на модели ожоговой травмы у крыс. **Материал и методы.** В работе использовали ryGM-CSF и ryGM-CSF-apoAI, полученные экспрессией в дрожжах *P. pastoris.* Исследование выполнялось на 27 крысах Wistar, которым моделировали ожоги III степени. Ранозаживляющее действие рекомбинантных цитокинов оценивали морфологически, а также определяли экспрессию генов цитокинов – маркеров течения раневого процесса и ангиогенеза. **Результаты и их обсуждение.** ryGM-CSF на модели ожога крыс проявлял как свойства цитокина, влияющего на ангиогенез, повышая количество сосудов, так и, являясь чужеродным белком, стимулировал иммунный ответ, увеличивая пролонгированно количество лимфоцитов, и поддерживал воспаление. Химерная форма цитокина ryGM-CSF-apoAI угнетала воспаление, ускоряла смену фаз ранозаживления и, как следствие, снижала количество нейтрофилов к 16-м суткам. Неожиданно она способствовала созреванию сосудов, которые в данном случае имели нормальный просвет, размер и были выстланы эндотелием. Соотношение содержания мРНК генов *Angpt1* и *Angpt2* было в 1,6 раза больше в случае применения ryGM-CSF-apoAI по сравнению с контролем и назначением ryGM-CSF. **Заключение.** При ксеногенном введении ryGM-CSF пролонгирует воспаление за счет раннего лимфоцитарного ответа на чужеродный белок и повышенного содержания нейтрофилов на более поздних сроках ранозаживления. Химерная форма ryGM-CSF-apoAI снижает иммуногенность цитокина, способствуя более ранней замене нейтрофилов на макрофаги и фибробласты и стимулирует созревание полноценных кровеносных сосудов.

Ключевые слова: ожоговая рана, крысы Wistar, рекомбинантный химерный GM-CSF человека, аполипопротеин AI человека, экспрессия генов цитокинов, воспаление, ангиогенез.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках темы НИР №1022072600029-5-1.6.2;1.6.8 с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение №075-15-2021-691).

Автор для переписки: Пыхтина М.Б., e-mail: pykhtina_maria@mail.ru

Для цитирования: Пыхтина М.Б., Мирошниченко С.М., Карпов М.А., Абышев А.А., Мосалев К.И., Котова М.В., Беклемишев А.Б., Князев Р.А. Ранозаживляющие свойства химерной формы GM-CSF человека на модели ожоговой травмы у крыс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):146–154. doi: 10.18699/SSMJ20240614

Wound healing properties of a chimeric form of human GM-CSF in a rat burn injury model

M.B. Pykhtina[1], S.M. Miroshnichenko[1], M.A. Karpov[1, 2], A.A. Abyshev[1, 2], K.I. Mosalev[1], M.V. Kotova[1], A.B. Beklemishev[1], R.A. Knyazev[1]

[1] *Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine*
630117, Novosibirsk, Timakova st., 2
[2] *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia*
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52

Abstract

Thermal burns are one of the common types of human injuries, causing in severe cases an extensive immune response both locally in the wound and having a systemic effect. The search for new means of local treatment of burn wounds remains an urgent task. The aim of this study was to investigate the wound healing properties of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (ryGM-CSF) and its prolonged chimeric form with human apolipoprotein AI (ryGM-CSF-apoAI) on the model of burn injury in rats. **Material and methods.** ryGM-CSF and ryGM-CSF-apoAI obtained by expression in yeast *P. pastoris* were used in this work. The study was performed on 27 Wistar rats, which were modeled burns of III degree. The wound-healing effect of recombinant cytokines was evaluated morphologically, and the expression of cytokine genes - markers of the course of the wound process and angiogenesis - was measured. **Results and discussion.** ryGM-CSF is known to accelerate wound healing. Human rGM-CSF on the rat burn model showed both the properties of a cytokine influencing angiogenesis, increasing the number of vessels, and being a foreign protein stimulated the immune response, increasing prolonged the number of lymphocytes and supporting inflammation. The chimeric form of cytokine ryGM-CSF-apoAI reduced inflammation, accelerated the change of wound healing phases and, as a consequence, reduced the number of neutrophils by 16 days. Unexpectedly, it induced maturation of vessels, which in this case had normal lumen, size, and were lined with endothelium. The ratio *Angpt1* and *Angpt2* gene mRNA content was 2-fold higher when ryGM-CSF-apoAI was used, compared to control and ryGM-CSF administration. **Conclusions.** With xenogeneous administration, recombinant human GM-CSF prolongs inflammation due to early lymphocytic response to foreign protein and increased neutrophil content at later wound healing periods. The chimeric form ryGM-CSF-apoAI reduces cytokine immunogenicity by promoting earlier replacement of neutrophils by macrophages and fibroblasts and stimulates maturation of high-grade blood vessels.

Key words: burn wound, Wistar rats, recombinant human chimeric GM-CSF, human apolipoprotein AI, cytokine gene expression, inflammation, angiogenesis.

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

Financing. The work was carried out according to state assignment № 1022072600029-5-1.6.2;1.6.8 using the equipment of the Proteomic Analysis Collective Use Center, supported by funding from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (agreement No. 075-15-2021-691).

Correspondence author: Pykhtina M.B., e-mail: pykhtina_maria@mail.ru

Citation: Pykhtina M.B., Miroshnichenko S.M., Karpov M.A., Abyshev A.A., Mosalev K.I. Kotova M.V., Beklemishev A.B., Knyazev R.A. Wound healing properties of a chimeric form of human GM-CSF in a rat burn injury model. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):146–154. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240614

Введение

По данным ВОЗ, ожоговые травмы остаются одними из самых сложных проблем общественного здравоохранения, ежегодно приводя к смерти до 300 000 человек [1]. Основной причиной летального исхода в первые 24 ч после ожога является сепсис и сопутствующая инвазивная инфекция [2], вызываемая проникновением возбудителей в поврежденную кожу, лишенную защитной функции [3]. Заживление ожоговой раны представляет собой динамичный процесс, включающий ряд сложных клеточных и молекулярных событий, в значительной степени перекрывающихся и взаимозависимых [4]. Цитокины и факторы роста играют значительную роль в этом процессе, однако их биодоступность в раневом ложе обычно недостаточна из-за снижения синтеза и/или чрезмерной деградации [5].

В настоящее время существует ряд исследований, демонстрирующих успешное применение экзогенных факторов роста при лечении ожоговых ран [6–8]. GM-CSF является многофункциональным цитокином и широко используется в клинической практике, в частности, при лечении фебрильной нейтропении или для индукции созревания дендритных клеток. Между тем использование GM-CSF во многом ограничено большим количеством побочных эффектов, что затрудняет его пероральное применение. Наряду с системным назначением GM-CSF весьма успешно используется локально, в частности, для лечения кожных ран самой различной этиологии. Исследования *in vivo* показали, что GM-CSF индуцирует дифференцировку миофибробластов, тем самым способствуя сокращению раны [9], усиливает хемотаксис нейтрофилов и макрофагов

и повышает местный иммунитет ран [10], индуцирует пролиферацию кератиноцитов и эпителиальных клеток [11]. Сверхэкспрессия GM-CSF у мышей приводила к усилению реэпителизации и контракции ран, тогда как дефицит цитокина значительно ухудшал ранозаживление [12]. Также GM-CSF показал высокую эффективность в клинических исследованиях при лечении ожоговых ран и диабетических язв [13–15].

В целях повышения стабильности и снижения побочных эффектов ростовых факторов молекулы цитокинов модифицируют полиэтиленгликолем или генно-инженерным слиянием с белками крови, такими как альбумин или иммуноглобулины [16]. Нами получен новый химерный полипептид, содержащий GM-CSF, слитый с аполипопротеином AI (апо AI), в метилотрофных дрожжах *P. pastoris*. Как показано в работе [17], химерный белок не только проявлял свойства GM-CSF как колониестимулирующий фактор, но также усиливал пролиферацию клеток и снижал апоптоз.

В данной работе исследованы ранозаживляющие свойства рекомбинантного GM-CSF (ryGM-CSF) и его химерной формы с апо AI (ryGM-CSF-apoAI) на модели ожоговой раны крыс Wistar.

Материал и методы

Исследование проведено в соответствии с этическими нормами, изложенными в Хельсинкской декларации, и одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины (заключение № 58 от 16.09.2024).

Эксперименты по моделированию ожогов проводились на 27 крысах Wistar массой 300–350 г, случайно распределенных на три группы: группа I (контрольная; $n = 9$) получала физиологический раствор с 10 % глицерина, группа II ($n = 9$) – раствор ryGM-CSF в 10%-м глицерине, группа III ($n = 9$) – раствор ryGM-CSF-ApoA-I в 10%-м глицерине. В области спины каждого животного формировали по две ожоговые раны, на каждую из трех временных точек (3-и, 16-е и 25-е сутки) было по три крысы из каждой группы. Раны моделировали при использовании золетил-ксилазинового наркоза (золетил 20 мг/кг и ксилазин 10 мг/кг внутрибрюшинно). Термический ожог вызывали на выбритом участке спины площадью 1 см^2 путем аппликации нагретого в кипятке металлического груза массой 110 г на 4 с. Такая экспозиция обеспечивала формирование ожога III степени клинической классификации ожогов (распространяется на поверхностные структуры сетчатого слоя дермы).

Препараты рекомбинантных белков (4 мкг/мл ryGM-CSF и 11,2 мкг/мл ryGM-CSF-apoAI, получены биосинтезом в дрожжах *P. pastoris* [17]) или контрольный раствор по 100 мкл равномерно наносили аппликатором на область поражения с захватом здоровых тканей, начиная с первых и до 25-х суток эксперимента. Изменения стадий ранозаживления регистрировали на 3-е, 16-е и 25-е сутки: измеряли площадь раны, осуществляли забор биоптатов кожи для определения экспрессии цитокинов – маркеров раневого процесса, а также для проведения гистологического исследования.

Материал для гистологического исследования забирали на границе между здоровой и поврежденной тканью, фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, после чего подвергали стандартной гистологической проводке через серию этиловых спиртов возрастающей концентрации, ксилол и заключали в парафин. Из полученных парафиновых блоков на микротоме Microm HM 355S (Thermo Fisher Scientific, США) получали срезы толщиной 5–7 мкм, которые укладывали на предметные стекла, окрашивали гематоксилином и эозином и изучали в микроскопе AxioStar (Carl Zeiss, Германия) при комбинированном увеличении в 200 и 400 раз. Подсчитывали численную плотность клеток (Nai) в воспалительных инфильтратах, учитывали макрофаги, лимфоциты, нейтрофилы при помощи морфометрической сетки с тестовой площадью 1600 мкм^2 при увеличении в 400 раз (количество полей – 30). Толщину эпидермиса измеряли с помощью программного обеспечения ImageJ.

РНК из биоптатов кожи крыс выделяли с использованием реагента «Лира» («Биолабмикс»), согласно протоколу производителя. Обратную транскрипцию проводили с использованием набора реактивов OT M-MuLV–RH («Биолабмикс»). Количественную ПЦР с детекцией в реальном времени выполняли с использованием «БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (2×)» («Биолабмикс»). Условия амплификации для генов были следующими: денатурация – 95 °C 5 мин; 45 циклов (денатурация: 95 °C 10 с, отжиг при 57 °C 15 с, элонгация цепи при 72 °C 15 с). В качестве референсного гена использовали *GAPDH*. Исследовали экспрессию генов *IL1β*, *Tnf*, *Vegfa*, *Angpt1*, *Angpt2*. Использованные праймеры представлены в табл. 1.

Статистический анализ выполняли с использованием пакета программ STATISTICA 12 (StatSoft Inc., США). Тип распределения данных определяли при помощи критерия Шапиро – Уилка. Переменные представлены при нормальном распределении в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm m$), при распре-

Таблица 1. *Последовательности прямых (F) и обратных (R) праймеров, использованных для оценки экспрессии генов цитокинов*

Table 1. *Forward (F) and reverse (R) primer sequences used to assess cytokine gene expression*

Ген	Последовательность праймеров
GAPDH	F: 5'-CAAGGTCATCCATGACAACTTT-3' R: 5'-GGGCCATCCACAGTCTTCT-3'
Il1b	F: 5'-GACCCAAGCACCTTCTTT-3' R: 5'-GAATACCACTTGTTGGCTTATG-3'
Tnf	F: 5'-GGAAAGCATGATCCGAGATGT-3' R: 5'-CATTTGGGAACTTCTCCTCCT-3'
Angpt1	F: 5'-GTGGAGACCCAGGTACTAAATC-3' R: 5'-TTCAAGGTGTCCAGCTCTTC-3'
Angpt2	F: 5'-GCTCTGTTGCTGTCCCTAAA-3' R: 5'-CCGAAGCCCTCTTTGTACTC-3'
Vegfa	F: 5'-TATCTTCAAGCCGTCCTGTGT-3' R: 5'-GATCCGCATGATCTGCATAGTG-3'

делении, отличном от нормального – в виде медианы и межквартильных интервалов (Me [25 %; 75 %]), для оценки различий использовали соответственно t-критерий Стьюдента и критерий Манна – Уитни. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Морфологическое описание ожоговых ран

Описание гистологических препаратов

Для забора гистологических препаратов ожоговых ран были выбраны третьи сутки, с выраженной воспалительной фазой течения раневого процесса. В контрольных образцах наблюдался истонченный эпидермис и обширная зона некроза. В дерме присутствовал выраженный отек, сопровождаемый густой инфильтрацией нейтрофилами и некрозом (рис.1, К). Подкожная жировая клетчатка, расположенная на границе с дермой, была инфильтрирована нейтрофилами и лимфоцитами. В присутствии ryGM-CSF также наблюдались истонченный эпидермис и зона некроза, достигающая глубоких слоев дермы и границы с мышечной тканью. В дерме присутствовал отек и фибриноидный некроз коллагена. Периферию очага некроза сопровождала неравномерная инфильтрация, преимущественно нейтрофилами. Подкожная жировая клетчатка была инфильтрирована лимфоцитами и макрофагами (см. рис.1, ryGM-CSF). В присутствии GMA обширная зона некроза наблюдалась по центру срезов и охватывала часть сетчатого слоя дермы с придатками кожи. В подкожной жировой клетчатке, как и в случае с GM, проявлялась лимфомакрофагальная инфильтрация.

К 16-м суткам в контрольных образцах наблюдался обширный очаг некроза, охватывающий сетчатый слой дермы и сопровождающийся густой инфильтрацией нейтрофилами на границе с очагом некроза (см. рис.1, К). В дерме сохранялся отек соединительной ткани. Глубже располагались хаотичные очаги плотной грубоволокнистой соединительной и грануляционной ткани, диффузно инфильтрированной лимфоцитами, макрофагами с примесью нейтрофилов и эозинофилов и редкими клетками фибробластического ряда, расположенными хаотично. В присутствие ryGM-CSF также наблюдался обширный очаг некроза, достигающий глубоких слоев дермы и отграниченный от подлежащего коллагена густой инфильтрацией нейтрофилами. На границе с мышечной тканью отмечались очаговое разрастание грубоволокнистой соединительной ткани с отеком, клетки фибробластического ряда, очаги грануляционной ткани с многочисленными мелкими капиллярами и диффузной лимфомакрофагальной инфильтрацией с примесью нейтрофилов и эозинофилов. В образцах кожи, обработанных ryGM-CSF-apoAI, очаг некроза располагался поверхностно, в пределах сосочкового слоя дермы с небольшой демаркационной инфильтрацией нейтрофилами, лимфоцитами и макрофагами. На границе очага некроза и дермы выявлялись отчетливые очаги грануляционной ткани. Неравномерное разрастание грубоволокнистой соединительной ткани с отеком сопровождалось равномерным распределением клеток фибробластического ряда, встречались уже как мелкие капилляры, так и крупные сосуды, выстланные эндотелием (см. рис. 1).

На 25-е сутки ранозаживления наступает фаза эпителизации и ремоделирования раны. В контроле поверхность области ожоговой травмы покрыта слоем эпидермиса. В дерме наблюдалось разрастание грубоволокнистой соединительной ткани с равномерным распределением клеток фибробластического ряда; также присутствовало небольшое количество мелких сосудов капиллярного типа. Все слои дермы были инфильтрированы лимфоцитами и макрофагами. В подкожной жировой ткани наблюлась воспалительная инфильтрация с очагами склероза. В образцах кожи, обработанных ryGM-CSF, область ожогового дефекта также была покрыта эпидермисом. В поверхностных слоях дермы отмечено очаговое разрастание грубоволокнистой соединительной ткани с равномерным распределением клеток фибробластического ряда, преимущественно ориентированных горизонтально. На рис. 1 отмечено

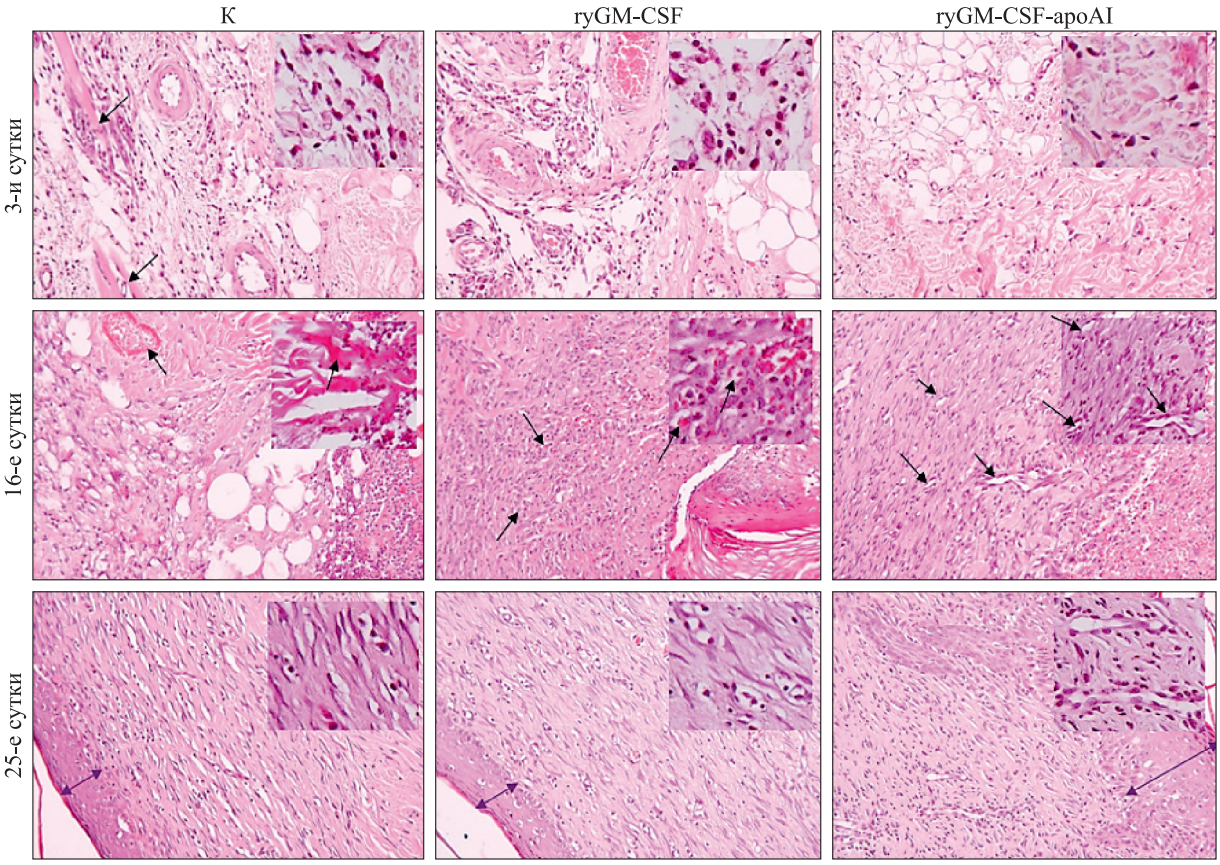


Рис. 1. *Морфологические изменения в коже крыс при термическом ожоге 3А степени. Третьи сутки: К (контроль) – отек, воспалительная инфильтрация, некрозы структур (стрелки); ryGM-CSF – воспалительная инфильтрация; ryGM-CSF-apoAI – рассеянная инфильтрация. 16-е сутки: К – отек, воспалительная инфильтрация, некрозы дермы и сосудов (стрелки); ryGM-CSF – мелкие, щелевидные незрелые сосуды капиллярного типа (стрелки); ryGM-CSF-apoAI – крупные сосуды, выстланные эндотелием, чередующиеся с мелкими сосудами (стрелки). 25-е сутки: К – щелевидные сосуды с узкими просветами, выстланные эндотелием; ryGM-CSF – обилие мелких сосудов, выстланных эндотелием, и незрелые сосуды; ryGM-CSF-apoAI – обилие мелких и крупных сосудов, выстланные эндотелием; рассеянная инфильтрация, очаг гиперплазии эпидермиса. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение ×200*

Fig.1. *Morphologic changes in the skin of rats in thermal burn of 3A degree. 3 day: K (control) – edema, inflammatory infiltration, necrosis of structures (arrows); GM – inflammatory infiltration; ryGM-CSF-apoAI – diffuse infiltration. Day 16: K – edema, inflammatory infiltration, necrosis of dermis and vessels (arrows); ryGM-CSF – small, slit-shaped immature capillary-type vessels (arrows); ryGM-CSF-apoAI – large endothelium-lined vessels alternating with small vessels (arrows). 25 day: K – slit-shaped vessels with narrow lumen, lined with endothelium; ryGM-CSF – abundance of small vessels lined with endothelium and immature vessels; ryGM-CSF-apoAI – abundance of small and large vessels lined with endothelium; scattered infiltration, epidermal hyperplasia. Hematoxylin and eosin staining, magnification ×200*

большое количество хаотично расположенных мелких капилляров и рассеянная лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация с примесью редких нейтрофилов.

В присутствии химерной формы к окончанию эксперимента область дефекта также была эпителизирована. Фибробласты располагались равномерно и ориентировались горизонтально. Отмечено большое количество хаотично расположенных мелких капилляров и присутствие зрелых капилляров, выстланных эпителием. Инфильтрация была представлена рассеянными лимфоцитами и макрофагами. По краю формирующегося рубца определялась гиперплазия эпидермиса с акантозом. Толщина эпидермиса к 25-м суткам эксперимента была максимальна в присутствии ryGM-CSF-apoAI (24,5 ± 2,35 мкм), в то время как под действием ryGM-CSF и в контроле – 14,7 ± 2,45 и 16,6 ± 1,8 мкм соответственно. Сокращение площади раны под влиянием рекомби-

нантных цитокинов происходило неравномерно. Начало контракции раны в присутствии ryGM-CSF-apoAI наблюдалось на 4-е сутки и в 1,9 раза превосходило контроль. На 19-е сутки закрылась рана у одной крысы из группы ryGM-CSF-apoAI, в то время как второе животное из данной группы сорвало остатки струпа и на 19-е сутки имело размер раны 4 мм^2. К 21-м суткам в группе ryGM-CSF площадь ран составила 8,3 ± 2 мм^2, в группе контроля – 6,2 ± 1,5 мм^2, в то время как в группе ryGM-CSF-apoAI произошло полное заживление ран у двух животных. На 25-е сутки у всех животных из контрольной группы и группы ryGM-CSF-apoAI раны полностью закрылись, в то время как в группе ryGM-CSF одно животное имело лишь частичное закрытие раны (1 мм^2). Таким образом, более ранняя контракция раны произошла в присутствии химерного цитокина к 21-м суткам эксперимента.

Клеточный состав ожоговых ран

Численная плотность нейтрофилов была наименьшей в области ожога кожи у крыс, обработанных ryGM-CSF, при этом количество лимфоцитов было в 4,6 раза больше, чем в коже крыс, обработанных ryGM-CSF-apoAI, на третьи сутки эксперимента (табл. 2). Данный факт, возможно, объясняется тем, что используемый в наших экспериментах ryGM-CSF имеет не более 56 % гомологии с цитокином грызунов, в то время как апо AI относится к высококонсервативным белкам. Поэтому ранняя и пролонгированная инфильтрация лимфоцитами, возможно, стимулирована иммунным ответом крысы на чужеродный белок. Количество макрофагов на третьи сутки эксперимента было минимальным по отношению к другим клеткам инфильтрата, статистически значимых различий между опытными и контрольной группами не выявлено.

Анализ клеточного состава инфильтрата на 16-е сутки показал, что процессы ранозаживления в контроле и под действием ryGM-CSF-apoAI идут параллельно и сопровождаются значительным падением количества нейтрофилов, ростом числа лимфоцитов и макрофагов (см. табл. 2).

Таблица 2. *Численная плотность клеток (Nai) в инфильтратах кожи в разные сроки ранозаживления*

Table 2. *Cell density (Nai) in skin infiltrates at different stages of wound healing*

Группа	3-и сутки	*p*	16-е сутки	*p*	25-е сутки	*p*
Лимфоциты						
К (1)	0,00 [0,00; 3,57]	p_{1-2} = 0,0000; p_{1-3} = 0,0000; p_{2-3} = 0,0000	50,00 [41,67; 60,00]	p_{1-2} = 0,00015; p_{1-3} = 0,0006 GMA/GM p = 0,000	50,00 [33,33; 75,00]	
ryGM-CSF (2)	30,00 [22,22; 44,44]		20,00 [14,29; 30,77]		63,33 [25,00; 100,00]	
ryGM-CSF-apoAI (3)	6,46 [3,45; 9,09]		69,05 [60,00; 80,00]		66,67 [33,33; 75,00]	
Нейтрофилы						
К (1)	98,44 [95,24; 100,00]	p_{1-2} = 0,000	14,29 [0,00; 25,00]	p_{1-2} = 0,0004 p_{1-3} = 0,000001 p_{2-3} = 0,0000	0,00 [0,00; 0,00]	
ryGM-CSF (2)	61,54 [50,00; 75,00]	p_{1-3} = 0,000	60,77 [0,00; 71,43]		0,00 [0,00; 0,00]	
ryGM-CSF-apoAI (3)	89,64 [85,30; 94,12]	p_{2-3} = 0,000	0,00 [0,00; 0,00]		0,00 [0,00; 0,00]	
Макрофаги						
К (1)	0,00 [0,00; 3,23]	p_{1-2} = 0,031; p_{1-3} = 0,0028	33,33 [20,00: 50,00]	p_{1-2} = 0,00023 p_{2-3} = 0,00017	36,67 [0,00; 57,14]	
ryGM-CSF (2)	0,00 [0,00; 11,11]		13,96 [8,33; 21,43		33,33 [0,00; 66,67]	
ryGM-CSF-apoAI (3)	3,85 [0,00; 5,88]		30,95 [20,00 40,00]		33,33 [25,00; 66,67]	
Фибробласты						
К (1)	0,00 [0,00; 0,00]		28,57 [16,60; 42,90]	p_{1-2} = 0,0130; p_{2-3} = 0,0180	66,67 [56,25; 78,6]	p_{1-2} = 0,0097; p_{2-3} = 0,0000
ryGM-CSF (2)	0,00 [0,00; 0,00]		5,13 [0,00; 16,67]		55,05 [40,00; 69,23]	
ryGM-CSF-apoAI (3)	0,00 [0,00; 0,00]		26,79 [16,67; 50,00]		74,54 [66,67; 77,80]	

Динамика клеточного состава в присутствии ryGM-CSF несколько отличалась. Увеличение количества макрофагов сопровождалось незначительным снижением количества нейтрофилов. Модулирующая активность ryGM-CSF, влияющая на смену фаз ранозаживления, в данном случае искажалась иммуногенностью белка, который поддерживал постоянный высокий уровень лимфоцитов при повышении количества макрофагов и, соответственно, более низкий уровень фибробластов на 25-е сутки эксперимента (см. табл. 2).

Влияние рекомбинантных ГМ-КСФ на экспрессию генов цитокинов в коже

ryGM-CSF и его химерная форма снижали экспрессию гена *IL1b* на 16-е сутки после ожоговой травмы по сравнению с контролем (рис. 2, *а*). Однако к 25-м суткам эксперимента содержание м-РНК гена *IL1b* в присутствии ryGM-CSF несколько увеличилось. IL-1β участвует не только в ремоделировании внеклеточного матрикса, но и в фиброгенезе. Увеличение его содержания характерно для пациентов в течение первой недели после ожоговой травмы [18]. Сверхэкспрессия цитокина наблюдается не только в ранней воспалительной фазе нормального заживления ран, но и при нарушении заживления ран и фиброзе [19], в связи с чем он считается предиктором формирования гипертрофических рубцов после ожогов [20]. Некоторое уменьшение содержания мРНК IL-1β под действием ryGM-CSF-apoAI сочеталось с более низким уровнем нейтрофилов на 16-е сутки эксперимента (см. табл. 2). TNF-α, мощный провоспалительный цитокин, рекрутирующий лейкоциты в место повреждения и усиливающий экспрессию ряда цитокинов, может негативно влиять на процесс ранозаживления посредством различных механизмов, включая снижение уровня коллагена и индукцию экспрессии матриксных металлопротеиназ [21]. На 16-е сутки эксперимента не обнаружено статистически значимых различий в уровне экспрессии гена *Tnf*, однако к 25-м суткам наблюдалась тенденция к его уменьшению при обработке раны ryGM-CSF-apoAI, в то время как ryGM-CSF способствовал незначительному повышению содержания мРНК гена *TNF-α* (см. рис. 2, *б*).

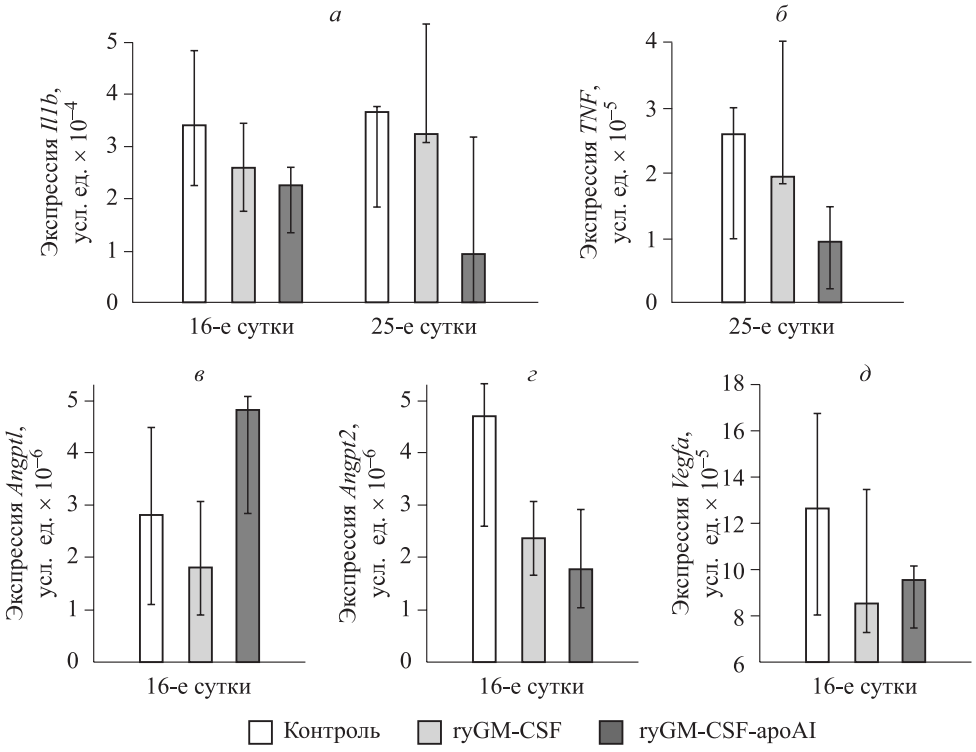


Рис. 2. *Уровень экспрессии генов ($2^{-\Delta CT}$) IL-1β (16-е и 25-е сутки, а) TNF-α (25-е сутки, б) ангиопоэтина-1 (16-е сутки, в) ангиопоэтина 2 (16-е сутки, г) VEGF-A (16-е сутки, д) в коже животных при ранозаживлении после обработки ожоговой раны рекомбинантными цитокинами*

Fig. 3. *Gene expression ($2^{-\Delta CT}$) of IL-1β (16 and 25 day, a) TNF-α (25 day, б) angiopoietin 1 (16 day), в) angiopoietin 2 (16 day, г) VEGF-A (16 day, д) in the skin of animals during wound healing after burn wound treatment with recombinant cytokines*

GM-CSF может ускорять заживление ран, способствуя ангиогенезу [22], который составляет значимую часть процесса ранозаживления. Скорость формирования, количество и качество новых кровеносных сосудов в ране напрямую влияют на этот процесс. J. Zhao et al. продемонстрировали роль VEGF и системы Ang-1/Ang-2/Tie-2 в формировании полноценных кровеносных сосудов [23]. Авторы обнаружили, что при высоком соотношении экспрессии Ang-1/Ang-2 и уровне фосфорилирования Tie2 после обработки GM-CSF микрососуды имели выраженную степень покрытия перицитами, указывая на то, что GM-CSF не только инициирует фазу прорастания сосудов, но также может способствовать созреванию и стабилизации новых микрососудов. В нашем эксперименте установлено, что уровень экспрессии гена *Vegfa*, кодирующего VEGF-A, в ране не имел статистических отличий от контроля при обработке ростовыми факторами (см. рис. 2, *д*). В то же время соотношение содержания мРНК генов *Angpt1* и *Angpt2* в ране крыс, обработанных ryGM-CSF-apoAI (1,38 [1,27; 2,34]), было в 1,6 раза больше (p = 0,049), чем в контроле (0,82 [0,48; 0,9]) и в случае обработки диким типом ryGM-CSF (0,88 [0,77; 1,0]). Данный факт может свидетельствовать о том, что рекомбинантный ryGM-CSF человека, вероятно, не способствует созреванию сосудов, хотя поддерживает образование множества мелких и не совсем зрелых сосудов, в то время как в случае с химерным белком уже на 16-е сутки отмечено появление немногочисленных, но зрелых сосудов, имеющих эндотелиальную выстилку (см. рис. 1, 2).

Заключение

ryGM-CSF человека при ксеногенном введении не проявил своих ранозаживляющих свойств, в то же время GM-CSF в химерной конструкции с белком апо AI не стимулировал иммунный ответ, а, скорее, способствовал более ранней замене нейтрофилов на макрофаги и фибробласты, угнетая воспаление. Неожиданно химерная форма вызывала раннее формирование зрелых полноценных сосудов, что может способствовать более качественной реорганизации рубцовой ткани и в более короткие сроки.

Список литературы / References

1. WHO. The global burden of disease 2004. Available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43942/9789241563710_eng.pdf

2. Norbury W., Herndon D.N., Tanksley J., Jeschke M.G., Finnerty C.C. Infection in burns. *Surg. Infect. (Larchmt.)*. 2016;17(2):250–255. doi: 10.1089/sur.2013.134

3. Boldeanu L., Boldeanu M.V., Bogdan M., Meca A.D., Coman C.G., Buca B.R., Tartau C.G., Tartau L.M. Immunological approaches and therapy in burns (review). *Exp. Ther. Med*. 2020;20(3):2361–2367. doi: 10.3892/etm.2020.8932

4. Singer A.J., Clark R.A. Cutaneous wound healing. *N. Engl. J. Med.* 1999;341(10):738–746. doi: 10.1056/NEJM199909023411006

5. Demidova-Rice T.N., Hamblin M.R., Herman I.M. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 2: role of growth factors in normal and pathological wound healing: therapeutic potential and methods of delivery. *Adv. Skin. Wound. Care*. 2012;25(8):349–370. doi: 10.1097/01.ASW.0000418541.31366.a3

6. Holoubek J., Lipový B., Knoz M., Kempný T., Chaloupková R., Damborský J., Vojtová L. The future for the application of fibroblast growth factor 2 in modern wound healing. *Burns*. 2023; 49(2):484–486. doi: 10.1016/j.burns.2022.10.007

7. Guo H.F., Abd Hamid R., Mohd Ali R., Chang S.K., Rahman M.H., Zainal Z., Khaza'ai H. Healing properties of epidermal growth factor and tocotrienol-rich fraction in deep partial-thickness experimental burn wounds. *Antioxidants (Basel).* 2020;9(2):130. doi: 10.3390/antiox9020130

8. Robson M.C., Phillips T.J., Falanga V., Odenheimer D.J., Parish L.C., Jensen J.L., Steed D.L. Randomized trial of topically applied repifer-min (recombinant human keratinocyte growth factor-2) to accelerate wound healing in venous ulcers. *Wound Repair Regen.* 2001;9(5):347–352. doi: 10.1046/j.1524-475x.2001.00347.x

9. Rubbia-Brandt L., Sappino A.P., Gabbiani G. Locally applied GM-CSF induces the accumulation of alpha-smooth muscle actin containing myofibroblasts. *Virchows Arch. B. Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* 1991;60(2):73–82. doi: 10.1007/BF02899530

10. Khajah M., Millen B., Cara D.C., Waterhouse C., McCafferty D.M. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF): a chemoattractive agent for murine leukocytes *in vivo. J. Leukoc. Biol*. 2011;89(6):945–953. doi: 10.1189/jlb.0809546

11. Kaplan G., Walsh G., Guido L.S., Meyn P., Burkhardt R.A., Abalos R.M. Novel responses of human skin to intradermal recombinant granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor: Langerhans cell recruitment, keratinocyte growth, and enhanced wound healing. *J. Exp. Med*. 1992;175(6):1717–1728. doi: 10.1084/jem.175.6.1717

12. Fang Y., Gong S.J., Xu Y.H., Hambly B.D., Bao S. Impaired cutaneous wound healing in granulocyte–macrophage colony–stimulating factor knockout mice. *Br. J. Dermatol.* 2007;157(3):458–465. doi: 10.1111/j.1365–2133.2007.07979.x

13. Karlafti E., Savopoulos C., Hatzitolios A., Didangelos T. Local use of granulocyte-macrophages colony stimulating factor in treatment of chronic diabetic neuropathic ulcer (case review). *Georgian Med. News*. 2018;(277):21–27.

14. Li J., Liu W., Zhang G., Wang D., Lou H., Duang J. Effectiveness of recombinant human granulocyte macrophage colony-stimulating factor for treating deep second-degree burns: a systematic review and meta-analysis. *BMJ. Mil. Health.* 2020;166(5):352–357. doi: 10.1136/bmjmilitary-2019-001395

15. Yan D., Liu S., Zhao X., Bian H., Yao X., Xing J., Sun W., Chen X. Recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor in deep second-degree burn wound healing. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(22):e6881. doi: 10.1097/MD.0000000000006881

16. Chuang Y.M., He L., Pinn M.L., Tsai Y.C., Cheng M.A., Farmer E., Karakousis P.C., Hung C.F. Albumin fusion with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor acts as an immunotherapy against chronic tuberculosis. *Cell. Mol. Immunol.* 2021;18(10):2393–2401. doi: 10.1038/s41423-020-0439-2

17. Pykhtina M., Miroshnichenko S., Romanov V., Grazhdantseva A., Kochneva G., Beklemishev A. Construction of recombinant human GM-CSF and GM-CSF-ApoA-I fusion protein and evaluation of their biological activity. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021;14(5):459. doi: 10.3390/ph14050459

18. Kupper T.S., Ballard D.W., Chua A.O., McGuire J.S., Flood P.M., Horowitz M.C., Langdon R., Lightfoot L., Gubler U. Human keratinocytes contain mRNA indistinguishable from monocyte interleukin 1 alpha and beta mRNA. Keratinocyte epidermal cell-derived thymocyte-activating factor is identical to interleukin 1. *J. Exp. Med.* 1986;164(6):2095–2100. doi: 10.1084/jem.164.6.2095

19. Salgado R.M., Alcántara L., Mendoza-Rodríguez C.A., Cerbón M., Hidalgo-González C., Mercadillo P., Moreno L.M., Álvarez-Jiménez R., Krötzsch E. Post-burn hypertrophic scars are characterized by high levels of IL-1β mRNA and protein and TNF-α type I receptors. *Burns*. 2012;38(5):668–676. doi: 10.1016/j.burns.2011.12.012

20. Blears E., Sommerhalder C., Toliver-Kinsky T., Finnerty C.C., Herndon D.N. Current problems in burn immunology. *Curr. Probl. Surg*. 2020;57(6):100779. doi: 10.1016/j.cpsurg.2020.100779

21. Buck M., Houglum K., Chojkier M. Tumor necrosis factor-alpha inhibits collagen alpha1(I) gene expression and wound healing in a murine model of cachexia. *Am. J. Pathol*. 1996;149(1):195–204

22. Sun H., Wang X., Hu X., Yu W., You C., Hu H., Han C. Promotion of angiogenesis by sustained release of rhGM-CSF from heparinized collagen/chitosan scaffolds. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 2012;100(3):788–798. doi: 10.1002/jbm.b.32512

23. Zhao J., Chen L., Shu B., Tang J., Zhang L., Xie J., Qi S., Xu Y. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor influences angiogenesis by regulating the coordinated expression of VEGF and the Ang/Tie system. *PLoS. One*. 2014;9(3):e92691. doi: 10.1371/journal.pone.0092691

Информация об авторах:

Пыхтина Мария Борисовна, к.б.н., ORCID: 0000-0002-7808-9274, e-mail: pykhtina_maria@mail.ru
Мирошниченко Светлана Михайловна, ORCID: 0000-0002-6740-8241, e-mail: svmiro@yandex.ru
Карпов Михаил Александрович, к.м.н., ORCID: 0000-0002-8200-3998, e-mail: karpov-ma@mail.ru
Абышев Александр Андреевич, ORCID: 0000-0002-8036-7990, e-mail: abyshev.alexander@mail.ru
Мосалев Кирилл Игоревич, ORCID: 0000-0001-8968-3968, e-mail: mosalevkir@mail.ru
Котова Мария Владимировна, ORCID: 0000-0001-6276-9630, e-mail: zerokiri@mail.ru
Беклемишев Анатолий Борисович, д.б.н., ORCID: 0000-0001-9732-1246, e-mail: ab.beklem-46@yandex.ru
Князев Роман Александрович, к.б.н., ORCID: 0000-0003-2678-8783, e-mail: knjazev_roman@mail.ru

Information about the author:

Maria B. Pykhtina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0002-7808-9274, e-mail: pykhtina_maria@mail.ru
Svetlana M. Miroshnichenko, ORCID: 0000-0002-6740-8241, e-mail: svmiro@yandex.ru
Mikhail A. Karpov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8200-3998, e-mail: karpov-ma@mail.ru
Alexandr A. Abyshev, ORCID: 0000-0002-8036-7990, e-mail: abyshev.alexander@mail.ru
Kirill I. Mosalev, ORCID: 0000-0001-8968-3968, e-mail: mosalevkir@mail.ru
Maria V. Kotova, ORCID: 0000-0001-6276-9630, e-mail: zerokiri@mail.ru
Anatoly B. Beklemishev, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0001-9732-1246, e-mail: ab.beklem-46@yandex.ru
Roman A. Knyazev, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-2678-8783, e-mail: knjazev_roman@mail.ru

Поступила в редакцию 18.07.2024
После доработки 20.09.2024
После повторной доработки 29.10.2024
Принята к публикации 30.10.2024

Received 18.07.2024
Revision received 20.09.2024
Second revision received 29.10.2024
Accepted 30.10.2024

УДК 612.014.2:547.415.5:577.121.7 DOI: 10.18699/SSMJ20240615
Оригинальное исследование / Research article

Цитопротективный эффект неопиатных аналогов лей-энкефалина на фоне воздействия ингибитора орнитиндекарбоксилазы

Е.Н. Сазонова[1, 2], О.Г. Репа[3], Ю.Б. Малофей[1]

[1] Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России
680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35
[2] Хабаровский филиал Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания – НИИ охраны материнства и детства
680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49
[3] Территориальный консультативно-диагностический центр
681000, г. Комсомольск-на-Амуре, ул. Димитрова, 12

Резюме

Целью исследования явилась оценка вовлечения системы полиаминов в реализацию цитопротективного действия неопиатных аналогов лей-энкефалина в условиях окислительного стресса. **Материал и методы.** Пульмональные фибробласты крыс инкубировали с пептидом НАЛЭ (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Arg, 0,1 мкМ) и его структурным аналогом пептидом G (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Gly, 0,1 мкМ), некоторые серии – с дифторметилорнитином (ДФМО, 2 мМ). Окислительный стресс моделировали добавлением в культуральную среду H_2O_2 (100 мкМ). На монослоях изучали морфометрические параметры нуклео-нуклеолярного аппарата фибробластов, пролиферативную активность клеток, особенности экспрессии p53. **Результаты.** Инкубирование фибробластов с H_2O_2 приводит к стресс-реакции клеток, о чем свидетельствуют полное отсутствие митотической активности, достоверное уменьшение плотности клеточной культуры, увеличение площади ядер и повышение доли p53-позитивных фибробластов. Инкубирование с блокатором синтеза орнитиндекарбоксилазы ДФМО вызывало ухудшение состояния клеточной культуры: снижался митотический индекс, еще более значительно увеличивалось количество фибробластов, экспрессирующих p53. Предварительное инкубирование (до добавления H_2O_2) с пептидами НАЛЭ и G уменьшало, но не исключало полностью негативное воздействие H_2O_2 на клеточную культуру. Предварительное совместное инкубирование клеточных монослоев с пептидами и ДФМО показывало более выраженный цитопротективный эффект при окислительном стрессе. Так, в серии с НАЛЭ доля p53-позитивных фибробластов, плотность культуры, размер ядер фибробластов не имели отличий от контрольных параметров; регистрировалось достоверное увеличение суммарной площади ядрышек в ядрах клеток. В серии с пептидом G доля p53-позитивных фибробластов, размер их ядер, количество и суммарная площадь ядрышек были аналогичны контрольным показателям, выявлено достоверное возрастание плотности клеточной культуры по сравнению с контролем. **Заключение.** Результаты проведенного исследования указывают на прямое цитопротективное действие пептидов – неопиатных аналогов лей-энкефалина, в том числе в условиях блокады системы полиаминов.

Ключевые слова: аналоги лей-энкефалина, окислительный стресс, блокатор орнитиндекарбоксилазы, пульмональные фибробласты, цитопротективный эффект.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено за счет бюджетных средств государственного задания «Регуляторные олигопептиды как потенциальные корректоры изменений при типовых патологических процессах» (номер государственного учета 124022900081-9).

Автор для переписки: Малофей Ю.Б., e-mail: malofey2009@mail.ru

Для цитирования: Сазонова Е.Н., Репа О.Г., Малофей Ю.Б. Цитопротективный эффект неопиатных аналогов лей-энкефалина на фоне воздействия ингибитора орнитиндекарбоксилазы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):155–161. doi: 10.18699/SSMJ20240615

Cytoprotective effect of non-opiate leu-enkephalin analogues against the background of ornithine decarboxylase inhibitor exposure

E.N. Sazonova[1, 2], O.G. Repa[3], Yu. B. Malofey[1]

[1] *Far Eastern State Medical University of Minzdrav of Russia*
680000, Khabarovsk, Murav'yeva-Amurskogo st., 35
[2] *Far Eastern Scientific Center for Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute for the Protection of Motherhood and Childhood*
680022, Khabarovsk, Voronezhskaya st., 49
[3] *Territorial Consultative and Diagnostic Center*
681000, Komsomolsk-na-Amure, Dimitrova st., 12

Abstract

The purpose of the study was to assess the involvement of the polyamine system in the implementation of the cytoprotective effect of non-opiate analogues of leu-enkephalin under conditions of oxidative stress. **Material and methods.** Rat pulmonary fibroblasts were incubated with the NALE peptide (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Arg, 0.1 μM) and its structural analogue peptide G (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Gly, 0. 1 μM), some series - with difluoromethylornithine (DFMO, 2 mM). Oxidative stress was modeled by adding H_2O_2 (100 μM) to the culture medium. The morphometric parameters of the nucleo-nucleolar apparatus of fibroblasts, the proliferative activity of cells, and the features of p53 expression were studied on monolayers. **Results.** Incubation of fibroblasts with hydrogen peroxide leads to a stress response of cells, as evidenced by the complete absence of mitotic activity, a significant decrease in cell culture density, an increase in the area of nuclei and an increase in the proportion of p53 + fibroblasts. Incubation with the ornithine decarboxylase synthesis blocker DFMO caused a deterioration in the condition of the cell culture: the mitotic index decreased, and the number of p53 + fibroblasts increased even more significantly. Pre-incubation (before adding H_2O_2) with NALE and G peptides reduced, but did not completely eliminate, the negative effect of hydrogen peroxide on cell culture. Preliminary co-incubation of cell monolayers with peptides and DFMO showed a more pronounced cytoprotective effect in OS. Thus, in the series with NALE, the indicators of the proportion of p53 + fibroblasts, culture density, and size of fibroblast nuclei did not differ from the control parameters; a significant increase in the total area of nucleoli in cell nuclei was recorded. In the series with peptide G, the indicators of the proportion of p53 + fibroblasts, the size of fibroblast nuclei, the number and total area of nucleoli were similar to the control indicators, and a significant increase in the cell culture density was revealed, compared to the control. **Conclusions.** The results of the study indicate a direct cytoprotective effect of peptides - non-opiate analogues of leu-enkephalin, including conditions of blockade of the polyamine system.

Key words: leu-enkephalin analogues, oxidative stress, ornithine decarboxylase blocker, pulmonary fibroblasts, cytoprotective effect.

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

Financing. The study was carried out at the expense of budgetary funds of the state task "Regulatory oligopeptides as potential correctors of changes in typical pathological processes" (state registration number 124022900081-9)

Correspondence author: Malofey Yu.B., e-mail: malofey2009@mail.ru

Citation: Sazonova E.N., Repa O.G., Malofey Yu. B. Cytoprotective effect of non-opiate leu-enkephalin analogues against the background of ornithine decarboxylase inhibitor exposure. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):155–161. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240615

Введение

Неопиатные аналоги лей-энкефалина обладают прямым цитопротективным действием. Инкубирование первичной культуры фибробластов с пептидами этого семейства снижает неблагоприятное влияние окислительного стресса (ОС), индуцированного добавлением в культуральную среду перекиси водорода [1]. Одним из внутриклеточных факторов защиты от влияния ОС является система полиаминов [2]. Описана способность полиаминов оказывать стабилизирующее действие на мембранные структуры и конформацию РНК и ДНК, оказывать антиоксидантный эффект [3]. Цитопротективные и антиоксидантные эффекты биологически активных веществ могут быть опосредованы стимуляцией орнитиндекарбоксилазы и активацией синтеза полиаминов в клетках [4].

Целью работы было оценить вовлечение системы полиаминов в реализацию цитопро-

тективного действия неопиатных аналогов лей-энкефалина в условиях ОС.

Материал и методы

Первичную культуру пульмональных фибробластов получали из ткани легких новорожденных белых крыс Wistar (всего в эксперименте использован клеточный материал от 12 крыс 2–3-суточного возраста). Фрагменты ткани легкого перед выделением клеток инкубировали при комнатной температуре в течение 4 ч в питательной среде DMEM с высокой концентрацией антибиотиков (гентамицин («Биолот», Россия), 0,5 мг/мл; амфотерицин B («Биолот»), 25 мкг/мл), фрагментировали и обрабатывали коллагеназой панкреаса краба («Биолот», 750 Ед/мл) в течение 5 мин при температуре 37 °C. Полученную суспензию клеток после двукратной промывки раствором Хенкса помещали в среду DMEM/F12 («Биолот») с добавлением 10 % фетальной сыворотки крупного рогатого скота («Биолот»). Культивирование клеток осуществляли при 5%-м содержании CO_2 в воздухе CO_2-инкубатора.

Фибробласты пятого пассажа инкубировали в течение 16 ч с исследуемыми неопиатными аналогами лей-энкефалина: пептидом НАЛЭ (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Arg) и его структурным аналогом пептидом G (Phe–D-Ala–Gly–Phe–Leu–Gly) (Atagenix, Китай). Концентрация изучаемых пептидов в культуральной среде составляла 0,1 мкМ. В отдельных сериях эксперимента клетки инкубировали в течение 16 ч с необратимым ингибитором ключевого фермента синтеза полиаминов орнитиндекарбоксилазы дифторметилорнитином (ДФМО, Sigma-Aldrich, США) в концентрации 2 мМ. По данным литературы, инкубирование клеток с 1–10 мМ ДФМО подавляет образование полиаминов без цитотоксического эффекта [5]. Для индукции ОС фибробласты инкубировали в течение двух часов в растворе H_2O_2 100 мкМ [6].

Формировали следующие экспериментальные серии монослоев пульмональных фибробластов: «Контроль» – интактные клетки, не подвергнутые каким-либо воздействиям; «ОС» – клетки, инкубированные в растворе H_2O_2 100 мкМ в течение 2 ч; «N + ОС» – клетки, инкубированные в растворе пептида НАЛЭ 0,1 мкМ в течение 16 ч с добавлением H_2O_2 100 мкМ в заключительные 2 ч инкубирования; «N + D + ОС» – клетки, инкубированные в растворе пептида НАЛЭ 0,1 мкМ и ДФМО 2 мМ в течение 16 ч с добавлением H_2O_2 100 мкМ в заключительные 2 ч инкубирования; «G + ОС» – клетки, инкубированные в растворе пептида G 0,1 мкМ в течение 16 ч с H_2O_2 100 мкМ в заключительные 2 ч инкубирования; «G + D + ОС» – клетки, инкубированные в растворе пептида G 0,1 мкМ и ДФМО 2 мМ в течение 16 ч с добавлением H_2O_2 100 мкМ в заключительные 2 ч инкубирования; «D» – клетки, инкубированные в растворе ДФМО 2 мМ в течение 16 ч.

Фибробласты, адгезированные к предметному стеклу, фиксировали 95%-м раствором этанола и окрашивали азотнокислым серебром по методике AgNOR [7]. В полученных монослоях оценивали пролиферативную активность клеток по количеству митотических фигур (митотический индекс, %) и плотности клеток (количество клеток в поле зрения светового микроскопа МИКМЕД-6 (АО «ЛОМО», Россия) при увеличении 10×40). Площадь поля зрения составляла 100 000 мкм^2. Для определения плотности клеток просматривали не менее 20 полей зрения в разных участках монослоя. Исследовали показатели нуклео-нуклеолярного аппарата клеток: размер (площадь, мкм^2) ядер фибробластов, суммарную площадь ядрышкового материала (мкм^2), количество ядрышек. Известно, что ядрышки являются стрессовым сенсором клетки [8]. Морфометрию нуклео-нуклеолярного аппарата проводили на компьютерной установке «МЕКОС-Ц» (ООО «МЕКОС», Россия). В каждой экспериментальной серии осуществляли морфометрию 250 клеток.

В клеточных монослоях исследовали долю фибробластов, экспрессирующих белок p53. Для этого их подвергали тепловой демаскировке с цитратным буфером pH 6 (Leica Biosystems, США) в гистопроцессоре HISTOS 5 (Milestone, Италия). Последующее иммуногистохимическое окрашивание проводили с помощью набора Novocastra™ Novolink™ Polymer Detection System (Leica Biosystems, США) согласно протоколу производителя. Использовали первичные моноклональные антитела мыши к p53 (клон DO-7, RTU, Leica Biosystems, США), время инкубирования – 40 мин. Вторичные антитела из набора Novocastra™ Novolink™ Polymer Detection System – антитела кролика к IgG мыши. Подсчитывали количество клеток при световой микроскопии (увеличение 10×100): анализировали долю клеток, имеющих коричневое окрашивание ядер при просмотре 2500 фибробластов каждой экспериментальной серии.

Результаты исследования анализировали с использованием программы Statistica 6.0. После проверки каждой выборки на нормальность распределения рассчитывали арифметический средний показатель и стандартную ошибку среднего показателя ($M \pm m$); для сравнения контрольной и опытной серий использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок; различия между

контрольной и опытными сериями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

На проведение исследования получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 1 от 15.11.2021).

Результаты

Установлено, что 16-часовое инкубирование с блокатором синтеза орнитиндекарбоксилазы ДФМО (серия «D») вызывало достоверное снижение митотического индекса по сравнению с контрольным параметром (0,402 ± 0,127 и 1,103 ± 0,180 % соответственно, $p = 0,04$). Воздействие H_2O_2 (серия «ОС») приводило к полной блокаде клеточного деления: митотические фигуры в монослоях фибробластов этой серии не выявлены (митотический индекс равен нулю). Блокирующее действие H_2O_2 на митотическую активность клеток не удалось предотвратить предварительным инкубированием с исследуемыми пептидами, все серии экспериментов с добавлением H_2O_2 («N + ОС», «N + D + ОС», «G + ОС», «G + D + ОС») характеризовались отсутствием митотических фигур в монослоях.

При исследовании экспрессии белка p53 обнаружено выраженное (в 2,9 раза) повышение доли p53-позитивных фибробластов после воздействия H_2O_2 (серия «ОС») (таблица), еще более значительное (в 6,5 раза) увеличение мы наблюдали после 16-часового инкубирования с ДФМО (серия «D»). В серии клеток, культивируемых с пептидом НАЛЭ с последующим воздействием H_2O_2 («N + ОС»), мы отмечали статистически значимое возрастание количества фибробластов, экспрессирующих p53 (в 1,9 раза больше контрольного значения). Вместе с тем показатель был достоверно (на 34,0 %) меньше, чем в серии «ОС», что свидетельствует о цитопротективном влиянии пептида НАЛЭ на фибробласты. Инкубирование первичной культуры фибробластов с пептидом НАЛЭ на фоне блокады синтеза полиаминов обеспечивало нивелирование негативного воздействия на исследуемый показатель как H_2O_2, так и ДФМО: количество p53-позитивных фибробластов в серии «N + D + ОС» не имело отличий от контроля. Пептид G также оказывал выраженный цитопротективный эффект: клетки, предварительно инкубированные с пептидом G, не реагировали на воздействие H_2O_2 возрастанием экспрессии p53 (серия «G + ОС»). Цитопротективный эффект пептида G не изменялся сопутствующей блокадой системы полиаминов: в серии «G + D + ОС» количество фибробластов, экспрессирующих p53, не отличалось от контрольного значения.

Интегральную характеристику процессов пролиферации и апоптоза в клеточной культуре может дать показатель плотности клеток в монослоях, определяемый как среднее число фибробластов в поле зрения микроскопа (увеличение 10×40). Воздействие H_2O_2 (серия «ОС») вызывало достоверное снижение (на 47,8 %) количества клеток в поле зрения (см. таблицу). Присутствие H_2O_2 в культуре клеток, инкубированных с НАЛЭ (серия «N + ОС»), не приводило к уменьшению их количества. Более того, плотность культуры в этой экспериментальной серии была значительно выше, чем в контроле. Воздействие H_2O_2 на фибробласты, инкубированные с НАЛЭ на фоне блокады синтеза полиаминов (серия «N + D + ОС»), не изменяло их количество в поле

Доля p53-позитивных фибробластов, плотность клеток в монослоях, размер ядер фибробластов и морфометрические показатели нуклеолярного аппарата фибробластов исследованных серий

The proportion of p53⁺ fibroblasts, cell density in monolayers, size of fibroblast nuclei and morphometric parameters of the nucleolar apparatus of fibroblasts in the studied series

Группа	Доля p53-позитивных клеток, %	Плотность клеток	Площадь ядра, мкм^2	Суммарная площадь ядрышек, мкм^2	Количество ядрышек
Контроль	2,98 ± 0,29	41,3±3,2	153,41±1,80	12,447±0,199	2,788±0,034
ДМФО	19,41 ± 0,79*	52,8±5,1	155,27±3,07	18,749±0,398*	2,840±0,040
ОС	8,67 ± 0,49*	21,6±4,3*	165,26±2,97*	12,126±0,295	2,652±0,041
N + ОС	5,72 ± 0,44#	70,2±6,8*,#	169,71±2,08*	14,259±0,229*	2,418±0,032*
N + D + ОС	2,68 ± 0,32#,^	49,9±5,0#	155,05±2,40	18,148±0,274*	2,798±0,035
G + ОС	3,26 ± 0,36#	70,5±7,4*,#	182,85±2,02*,#	24,947±0,392*	2,613 ±0,043
G + D + ОС	3,46 ± 0,34#,^	67,7±6,9*,#	154,12±1,76	12,459±0,194	2,587±0,035*

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – серии «K», # – серии «ОС», ^ – серии «D».

зрения микроскопа по сравнению с контролем. Воздействие другого исследованного неопиатного аналога лей-энкефалина, пептида G, приводило к достоверному увеличению плотности клеток в монослое по отношению к контролю. Эффект проявлялся как после предварительного инкубирования с пептидом на фоне блокады синтеза полиаминов (серия «G + D + ОС»), так и без ДФМО (серия «G + ОС»).

На следующем этапе исследования был проведен анализ морфометрических показателей нуклео-нуклеолярного аппарата культивируемых фибробластов. Размер (площадь) ядра и суммарная площадь ядрышек являются «чувствительными» параметрами, позволяющими выявить ранние стрессовые изменения состояния клетки. Воздействие ОС индуцировало достоверное увеличение площади ядер фибробластов (на 7,8 %, см. таблицу), которое также регистрировалось в сериях клеток, предварительно инкубированных с пептидом НАЛЭ (серия «N + ОС») и с пептидом G (серия «G + ОС»). При этом увеличение ядер фибробластов в серии «G + ОС» было достоверно больше, чем в серии «ОС». Интересно, что после инкубирования клеточных монослоев с исследуемыми пептидами на фоне блокады орнитиндекарбоксилазы H_2O_2 не вызывала изменения размеров ядер фибробластов (серии «N + D + ОС», «G + D + ОС»). Инкубирование с ДФМО (серия «D») также не приводило к изменению размеров ядер фибробластов.

При анализе показателей нуклеолярного аппарата фибробластов (количества и размеров ядрышек) не выявлено достоверных изменений этих параметров после воздействия H_2O_2 (см. таблицу). В экспериментальной серии «N + ОС» зарегистрировано статистически значимое уменьшение количества ядрышек (на 13,3 %) по отношению к контрольному параметру; при этом суммарная площадь ядрышек в ядрах клеток, культивируемых в присутствии пептида НАЛЭ с последующим воздействием ОС, оказалась на 14,6 % больше контроля. Стимулирующее влияние на нуклеолярный аппарат пептид НАЛЭ оказывал и при воздействии на фоне блокады синтеза полиаминов: в клетках серии «N + D + ОС» выявлено возрастание суммарной площади ядрышек на ядро на 45,8 % по отношению к контролю. В экспериментальной серии «G + ОС» мы наблюдали значительное – более чем в 2 раза – превышение суммарной площади ядрышкового материала при отсутствии изменения количества ядрышек. Эффект не регистрировался, если воздействие пептида G осуществлялось на фоне ДФМО (серия «G + D + ОС»). Интересно, что 16-часовое инкубирование клеток с блокатором ключевого фермента синтеза полиаминов статистически значимо (на 50,6 %) увеличивало суммарную площадь ядрышек фибробластов.

Обсуждение

Зарегистрированные нами эффекты воздействия H_2O_2 отражают повреждающее влияние ОС на культуру клеток. Мы отмечали полную блокаду митотической активности клеточной культуры, которая наблюдалась во всех экспериментальных сериях, подвергнутых воздействию H_2O_2, независимо от предшествующего влияния исследуемых веществ. В ранее проведенных исследованиях мы также неоднократно регистрировали выраженное снижение пролиферативной активности клеточной культуры при воздействии H_2O_2 [9]. Вероятно, прекращение деления клеток в условиях ОС является важным протективным механизмом, предупреждающим окислительное повреждение наследственного аппарата клеток. Кроме того, в этой экспериментальной серии мы регистрировали почти двукратное уменьшение количества клеток в монослоях клеточной культуры, что, возможно, свидетельствует о клеточной гибели под влиянием H_2O_2. В пользу этого предположения свидетельствует значительное увеличение экспрессии проапоптического белка p53 в культуре фибробластов. Изменений суммарной площади и количества ядрышек в клетках серии «ОС» не выявлено. Инкубирование культуры пульмональных фибробластов с H_2O_2 в течение двух часов приводило к увеличению площади ядра фибробластов. Этот эффект отличался от полученных нами ранее: в предшествующих исследованиях мы регистрировали уменьшение площади ядра фибробластов при воздействии H_2O_2 [10]. Можно предположить, что увеличение размеров ядер фибробластов в данном эксперименте обусловлено отеком ядра из-за увеличения ядерных пор под влиянием активных форм кислорода. Повышение размеров ядер фибробластов в сочетании с возрастанием экспрессии белка p53 характерно для фенотипа клеточного старения [11].

Предварительное 16-часовое инкубирование культуры фибробластов с пептидами снижало негативные изменения, индуцированные ОС. Культивирование клеток с пептидом НАЛЭ (серия «N + ОС») не отменяло блокирование митотической активности клеточной культуры, вызванное воздействием H_2O_2. Фибробласты этой экспериментальной серии, так же как и клетки серии «ОС», характеризовались увеличенным размером клеточного ядра. Вместе с тем инкубирование с пептидом НАЛЭ уменьшало индуцированное ОС возрастание числа p53-позитивных клеток: показатель был достоверно (в 1,5 раза) меньше

параметра серии «ОС», хотя и оставался статистически значимо больше контроля. Кроме того, в данной серии зарегистрировано значительное количество клеток в монослоях, существенно превышающее показатели серии не только «ОС», но и контрольной. Это позволяет предположить выраженное цитопротективное действие пептида на клеточную культуру. При анализе ядрышек клеток данной экспериментальной серии зарегистрировано возрастание суммарной площади ядрышек на 14,6 % при уменьшении их количества на 13,3 %. Эффект может быть обусловлен переходом клеток в покоящееся состояние (фазу G0). В целом можно заключить, что предварительное инкубирование с пептидом НАЛЭ уменьшало, но не исключало полностью негативное воздействие H_2O_2 на клеточную культуру.

Эффект 16-часового инкубирования клеток с пептидом G (серия «G + ОС») был аналогичным. В этой экспериментальной серии мы также регистрировали отсутствие пролиферативной активности клеток и значительное увеличение размеров клеточных ядер. При этом мы выявили нормализацию количества p5-позитивных фибробластов, значительное увеличение количества клеток в монослое, почти двукратное возрастание суммарной площади ядрышек в ядрах клеток. Таким образом, пептид G также обладал цитопротективным эффектом в условиях ОС.

Инкубирование клеток с блокатором ключевого фермента синтеза полиаминов орнитиндекарбоксилазы ДФМО приводило к уменьшению митотической активности клеток и многократному возрастанию количества фибробластов, экспрессирующих p53. Полученные результаты соответствуют данным литературы об угнетающем влиянии ДФМО на процессы пролиферации [12, 13]. Вместе с тем мы не наблюдали изменения количества клеток в поле зрения по сравнению с контролем, не зарегистрировано влияния ДФМО на размер ядер клеток и количество ядрышек. По данным M. Grossi et al., ДФМО в концентрации до 5 мМ не имеет выраженного влияния на морфологию клеток, что свидетельствует об отсутствии цитотоксического эффекта. Парадоксальным кажется зарегистрированный нами эффект увеличения суммарной площади ядрышек в клетках, инкубированных с ДФМО. По данным литературы, увеличение размера ядрышек прямо коррелирует с увеличением синтеза полиаминов [14].

Предварительное совместное инкубирование клеточных монослоев с пептидами и ДФМО показывало выраженный цитопротективный эффект при ОС. Защитное действие пептидов на фоне блокады синтеза полиаминов не только не уменьшалось, но было даже более выраженным. В серии «N + D + ОС» доля p53-позитивных фибробластов, количество клеток в поле зрения (плотность культуры), размеры ядер фибробластов не имели отличий от контрольных параметров, регистрировалось достоверное увеличение суммарной площади ядрышек в ядрах клеток. В серии «G + D + ОС» доля p53-позитивных фибробластов, размеры их ядер, количество и суммарная площадь ядрышек были аналогичны контрольным значениям, в то время как плотность клеточной культуры – больше. По данным литературы, ДФМО уменьшает индуцированное H_2O_2 повреждение HL-60 клеток в культуре. Цитотоксичность H_2O_2 в этих условиях была на 50 % меньше, чем в группе сравнения. Это связывают с меньшим потреблением клетками ионов железа и меньшим повреждением лизосом при ОС [15].

Заключение

Таким образом, прямое цитопротективное действие пептидов – неопиатных аналогов лей-энкефалина – реализуется и в условиях блокады системы полиаминов.

Список литературы / References

1. Сазонова Е.Н., Лебедько О.А., Пинаева О.Г. Цимбалист Н.А., Куприянова Д.А., Тарасов П.К., Малофей Ю.Б. Роль аминокислоты аргинин и оксида азота в реализации цитопротективного действия неопиатного аналога лей-энкефалина *in vitro*. *Клеточ. технол. в биол. и мед.* 2021;(3):194–200. doi: 10.47056/1814-3490-2021-3-194-200

Sazonova E.N., Lebed'ko O.A., Pinaeva O.G., Tsimbalist N.A., Kupriyanova D.A., Tarasov P.K., Malofey Yu.B. Role of amino acid arginine and nitric oxide in mechanisms of cytoprotective effect of non-opiate leu-enkephalin analogue *in vitro*. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;172(2):270–275. doi: 10.1007/s10517-021-05374-2

2. Rider J.E., Hacker A., Mackintosh C.A., Pegg A.E., Woster P.M., Casero R.A.Jr. Spermine and spermidine mediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids*. 2007;33(2):231–240. doi: 10.1007/s00726-007-0513-4

3. Егоров О.С., Борисова Н.Ю., Борисова Е.Я., Режаббаев М.Л., Афанасьева Е.Ю., Арзамасцев Е.В. Структура и биологическое действие аналогов и производных биогенных полиаминов. *Тонкие химические технологии.* 2021;16(4):287–306. doi: 10.32362/2410-6593-2021-16-4-287-306

Egorov O.S., Borisova N.Yu., Borisova E.Ya., Rezhabbaev M.L., Afanas'eva E.Yu., Arzamastsev E.V. Structure and biological action of analogs and derivatives of biogenic polyamines. *Tonkiye khimicheskiye tekhnologii = Fine Chemical Technologies.* 2021;16(4):287–306. [In Russian]. doi: 10.32362/2410-6593-2021-16-4-287-306

4. Tong F., Liu S., Yan B., Li X., Ruan S., Yang S. Endogenous ornithine decarboxylase/polyamine system mediated the antagonist role of insulin/PEG-CMCS preconditioning against heart ischemia/reperfusion injury in diabetes mellitus. *Int. J. Nanomedicine*. 2018;13:2507–2520. doi: 10.2147/ijn.s160848

5. Grossi M., Phanstiel O., Rippe C., Swärd K., Alajbegovic A., Albinsson S., Forte A., Persson L., Hellstrand P., Nilsson B.O. Inhibition of polyamine uptake potentiates the anti-proliferative effect of polyamine synthesis inhibition and preserves the contractile phenotype of vascular smooth muscle cells. *J. Cell. Physiol*. 2016;231(6):1334–1342. doi: 10.1002/jcp.25236

6. Самохвалов В.А., Сметанина М.Д., Мусейкина Н.Ю., Мельников Г.В., Федотова О.В., Игнатов В.В. Влияние низкой концентрации перекиси водорода на метаболизм клеток крови. *Биомед. химия.* 2003;49(2):122–127.

Samokhvalov V.A., Smetanina M.D., Museykina N.Yu., Melnikov G.V., Fedotova O.V., Ignatov V.V. The influence of low doses of hydrogen peroxide on metabolism of blood cells. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry.* 2003;49(2):122–127. [In Russian].

7. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии: руководство. Ред. Д.Э. Коржевский. СПб.: СпецЛит, 2013. 127 с.

Morphological diagnosis. Preparation of material for histological examination and electron microscopy: a guide. Ed. D.Je. Korzhevsky. Saint-Petersburg: SpetsLit, 2013. 127 p. [In Russian].

8. Lewinska A., Wnuk M., Grzelak A., Bartosz G. Nucleolus as an oxidative stress sensor in the yeast Saccharomyces cerevisiae. *Redox Rep.* 2010;15(2):87–96. doi: 10.1179/174329210x12650506623366

9. Сазонова Е.Н., Кузнецова М.С., Васильева Е.А., Мищенко Н.П., Цимбалист Н.А., Лебедько О.А. Цитопротективный эффект Эхинохрома А в первичной культуре пульмональных фибробластов белых крыс в условиях окислительного стресса. *Клеточ. технол. в биол. и мед.* 2020;(2):125–128.

Sazonova E.N., Kuznetsova M.S., Lebed'ko O.A., Tsimbalist N.A., Vasileva E.A., Mishchenko N.P. Cytoprotective effect of Echinochrome A in primary culture of pulmonary fibroblasts from albino rats under conditions of oxidative stress. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020;169(4):582–585. doi: 10.1007/s10517-020-04933-3

10. Сазонова Е.Н., Лебедько О.А., Денисюк Г.А., Жмеренецкий К.В., Добрых В.А. Цитопротективный эффект неопиатного аналога лей-энкефалина в первичной культуре пульмональных фибробластов в условиях окислительного стресса. *Казан. мед. ж.* 2019;100(1):153–157. doi: 110.17816/KMJ2019-153

Sazonova E.N., Lebed'ko O.A., Denisyuk G.A., Zhmerenetskiy K.V., Dobrykh V.A. Cytoprotective effect of non-opioid leu-enkephalin analogue in primary culture of pulmonary fibroblasts in oxidative stress. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal = Kazan Medical Journal.* 2019;100(1):153–157. [In Russian]. doi: 110.17816/KMJ2019-153

11. Yoon K.B., Park K.R., Kim S.Y., Han S.Y. Induction of nuclear enlargement and senescence by sirtuin inhibitors in glioblastoma cells. *Immune Netw*. 2016;16(3):183–188. doi: 10.4110/in.2016.16.3.183

12. Zou C., Vlastos A.T., Yang L., Wang J., Nishioka K., Follen M. Effects of difluoromethylornithine on growth inhibition and apoptosis in human cervical epithelial and cancerous cell lines. *Gynecol. Oncol*. 2002;85(2):266–273. doi: 10.1006/gyno.2002.6599

13. Grossi M., Persson L., Swärd K., Turczyńska K.M., Forte A., Hellstrand P., Nilsson B.O. Inhibition of polyamine formation antagonizes vascular smooth muscle cell proliferation and preserves the contractile phenotype. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol*. 2014;115(5):379–388. doi: 10.1111/bcpt.12237

14. Brooks W.H. Viral impact in autoimmune diseases: expanding the "X Chromosome-Nucleolus Nexus" hypothesis. *Front. Immunol*. 2017;8:1657. doi: 10.3389/fimmu.2017.01657

15. Shim H.W., Moon M.S., Shin K.S., Cho H.J., Yoo B.S., Kim I.G. Alpha-difluoromethylornithine, ornithine decarboxylase inhibitor, antagonizes H_2O_2-induced cytotoxicity in HL-60 leukemia cells: regulation of iron-dependent lysosomal damage. *Cell. Biol. Toxicol*. 2003;19(6):393–405. doi: 10.1023/b:cbto.0000013355.63593.35

Сведения об авторах:

Сазонова Елена Николаевна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-8668-492X, e-mail: sazen@mail.ru
Репа Ольга Геннадьевна, e-mail: potrekeevna96@mail.ru
Малофей Юлия Борисовна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-5698-3665, e-mail: malofey2009@mail.ru

Information about the authors:

Elena N. Sazonova, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-8668-492X, e-mail: sazen@mail.ru
Olga G. Repa, e-mail: potrekeevna96@mail.ru
Yuliya B. Malofey, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-5698-3665, e-mail: malofey2009@mail.ru

Поступила в редакцию 04.07.2024
После доработки 04.10.2024
Принята к публикации 04.11.2024

Received 04.07.2024
Revision received 04.10.2024
Accepted 04.11.2024

УДК 577.34:57.043:57.085.23 DOI: 10.18699/SSMJ20240616
Оригинальное исследование / Research article

Изменение скорости деления костномозговых клеток крыс Wistar после воздействия наносекундными микроволновыми импульсами разной интенсивности

А.В. Самойлова[1, 2, 3], А.А. Гостюхина[1, 2, 4], Л.П. Жаркова[1, 2], М.А. Большаков[1, 2], О.С. Дорошенко[2, 4], Р.В. Цыганков[1], К.В. Зайцев[4], В.В. Ростов[1]

[1] Институт сильноточной электроники СО РАН
634055, г. Томск, пр. Академический, 2/3
[2] Томский государственный университет
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36
[3] Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России
634050, г. Томск, Московский тракт, 2
[4] Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии ФМБА России
141551, Московская обл., Солнечногорский р-н, д. Голубое, ул. Родниковая, стр.6, корп. 1

Резюме

Одним из перспективных направлений регенеративных технологий является стимуляция пролиферативной активности стволовых клеток и, соответственно, скорости их самообновления посредством воздействия наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением (ИПМИ). В статье представлены данные о влиянии наносекундного ИПМИ на скорость деления мезенхимальных стволовых клеток из бедренной кости крыс линии Wistar. **Материал и методы.** Клетки облучались ИПМИ с несущей частотой 9,4 ГГц, количеством импульсов 50, частотой повторения импульсов 13 Гц, пиковой плотностью потока мощности (пППМ) 140, 210 и 310 Вт/см^2, величиной поглощенной энергии в 50 импульсах на глубине 1 см соответственно 699, 1049 и 1549×10^{-6} Дж/см^3. Эффект воздействия оценивался по изменению количества клеток в культуре через 24 и 72 ч после однократного облучения ИПМИ с фиксированным малым количеством импульсов и фиксированной частотой повторения импульсов, но с разными интенсивностями. **Результаты и их обсуждение.** В зависимости от интенсивности ИПМИ наблюдалось как увеличение, так и торможение скорости деления клеток, т. е. реагирование имело фазный характер. Наиболее выраженное стимулирующее ускорение деления клеток оказывает воздействие ИПМИ с пППМ 140 Вт/см^2, при этом эффект максимального увеличения скорости самообновления реализуется через 24 ч**. Заключение**. Рассмотрены наиболее вероятные биофизические и физиологические механизмы формирования эффектов стимуляции и ингибирования скорости самообновления стволовых клеток посредством наносекундных микроволновых импульсов.

Ключевые слова: стволовые клетки, костный мозг, скорость деления, пролиферация, наносекундные микроволновые импульсы, интенсивность, поглощенная энергия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (FWRM-2021-0002).

Автор для переписки: Самойлова А.В. e-mail: kereya21@mail.ru

Для цитирования: Самойлова А.В., Гостюхина А.А., Жаркова Л.П., Большаков М.А., Дорошенко О.С., Цыганков Р.В., Зайцев К.В., Ростов В.В. Изменение скорости деления костномозговых клеток крыс Wistar после воздействия наносекундными микроволновыми импульсами разной интенсивности. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):162–170. doi: 10.18699/SSMJ20240616

Changes in the division rate of bone marrow cells in Wistar rats after exposure to nanosecond microwave pulses of different intensities

A.V. Samoylova[1, 2, 3], A.A. Gostyukhina[1, 2, 4], L.P. Zharkova[1, 2], M.A. Bolshakov[1, 2], O.S. Doroshenko[2, 4], R.V. Tsygankov[1], K.V. Zaitsev[4], V.V. Rostov[1]

[1] *Institute of High Current Electronics of SB RAS*
634055, Tomsk, Academichesky ave., 2/3
[2] *Tomsk State University*
634050, Tomsk, Lenina ave., 36
[3] *Siberian State Medical University of Minzdrav of Russia*
634050, Tomsk, Moskovsky path, 2
[4] *Federal Scientific and Clinical Center of Medical Rehabilitation and Balneology of the FMBA of Russia*
141551, Moscow region, Solnechnogorsk district, Goluboe village, Rodnikovaya st., p. 6, bidg. 1

Abstract

One of the promising areas of regenerative technologies is the stimulation of proliferative activity of stem cells and, accordingly, the rate of their self-renewal, by exposure to nanosecond repetitive pulsed microwave radiation (RPMs). The article presents data on the effect of nanosecond RPMs on the rate of division of mesenchymal stem cells from the femur of Wistar rats. **Material and methods.** Data are presented on the effect of nanosecond repetitively pulsed microwave radiation carrier frequency of 9.4 GHz, pulse repetition rate of 13 Hz, 50 pulses, peak power flux density of 140, 210, and 310 W/cm^2, absorbed energy value in 50 pulses at a depth of 1 cm, respectively 699, 1049 and 1549×10^{-6} J/cm^3 on the division rate of mesenchymal stem cells from the femur of laboratory rats Wistar. The effect of the exposure was assessed by the change in the number of cells in the culture 24 and 72 hours after a single irradiation with RPMs with different intensity. **Results.** Depending on the intensity of RPM, both an increase and inhibition of cell division rate were observed, that is, the response had a phasic character. The most pronounced stimulating acceleration of cell division is exerted by RPMs with a peak power flux density of 140 W/cm^2, and the effect is realized at the maximum rate after 24 h. **Conclusions.** The most probable biophysical and physiological mechanisms for the formation of the effects of changes in the rate of self-renewal of stem cells induced by RPMs are considered.

Key words: stem cells, bone marrow, rate of division, proliferation, nanosecond microwave pulses, intensity, absorbed energy.

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

Financing. The study was supported by the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (FWRM-2021-0002).

Correspondence author: Samoylova A.V., e-mail: kereya21@mail.ru

Citation: Samoylova A.V., Gostyukhina A.A., Zharkova L.P., Bolshakov M.A., Doroshenko O.S., Tsygankov R.V., Zaitsev K.V., Rostov V.V. Changes in the division rate of bone marrow cells in Wistar rats after exposure to nanosecond microwave pulses of different intensities. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):162–170. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240616

Введение

Поиск и внедрение перспективных направлений регенеративных тканеинженерных технологий на основе стволовых клеток является актуальным [1, 2]. В качестве источников клеточного материала для реализации таких технологий, как правило, служат собственные ткани взрослого человека [3]. Для клеточной трансплантологии и терапии важны не только поиск новых источников получения стволовых клеток, но и разработка технологий их дифференцировки и масштабирования, а также эффективных способов управления этими процессами. Кроме того, применительно к стволовым клеткам объективная интерпретация получаемых экспериментальных данных и эффективное использование пула малодифференцированных стромальных предшественников невозможны без всестороннего исследования физиологических характеристик клеток с учетом их специализации и места в конкретном тканевом процессе. Одним из возможных и перспективных способов влияния на пролиферативную активность стволовых клеток и, соответственно, скорость самообновления является воздействие на них наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением (ИПМИ) [4, 5].

В предыдущей работе [6] нами продемонстрирован эффект воздействия ИПМИ на стволовые клетки красного костного мозга крыс, существенно зависящий от количества использованных импульсов. Как выяснилось, процесс стимуляции пролиферации клеток оказался более эффективным при меньших количествах импульсов (50 и 100) в сравнении с результатом влияния большего количества (500, 1000 и 4000 импульсов). При анализе такого факта предположено, что эффект имеет нетепловой механизм формирования. В со-

ответствии с гипотезой W.R. Adey [7] следовало, что величина биологического эффекта должна зависеть от частоты повторения микроволновых импульсов, как показано ранее [8–10], а также от пиковой плотности потока мощности (пППМ). Поскольку оба биотропных параметра воздействующего электромагнитного излучения присутствовали совместно, следовало выявить роль интенсивности и соответствующей поглощенной энергии ИПМИ в формировании эффекта и предложить возможный механизм влияния на молекулярные мишени. В современной литературе встречаются данные о зависимости биологических эффектов микроволнового излучения от энергии воздействия. В частности, некоторые реакции, вызванные микроволновым излучением, в значительной степени определяются мощностью его воздействия, а не частотой [11].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования было изучение влияния наносекундного ИПМИ с фиксированным малым количеством импульсов и фиксированной частотой повторения импульсов на скорость деления стволовых клеток красного костного мозга крыс в зависимости от интенсивности воздействующего излучения.

Материал и методы

Выделение и культивирование стволовых клеток костного мозга крыс Wistar

Исследование выполнено на 12 культурах клеток, выделенных из бедренной кости крыс линии Wistar общепринятым стандартным методом [12]. Животных содержали в стандартных условиях вивария по 8–10 особей в клетке при естественном освещении, на стандартном рационе со свободным доступом к воде, пище. Круглосуточно в виварии поддерживали относительную влажность 50–65 % и температуру воздуха 20–25 ºС. Все процедуры с животными выполняли в утренние часы (с 9:00 до 11:00 местного времени) согласно правилам и рекомендациям гуманного обращения с животными, используемым для экспериментальных и иных научных целей [13]. Эксперименты выполнены в соответствии с принципами гуманности и одобрены комиссией по биоэтике Биологического института Томского государственного университета (протокол № 33 от 05.06.2024).

Выделенные из костного мозга мононуклеарные клетки культивировали в атмосфере 5%-го CO_2 при температуре 37 °С и 100%-й влажности согласно методике, описанной в работе [6]. В результате на 6–7-е сутки культивирования образовывалось до 60–70 % монослоя, а на 12–14-е сутки окончательно формировался монослой клеток (95–100 %), их жизнеспособность составляла 92 ± 2 %. Для проведения эксперимента в трех повторах получено 12 культур клеток. Однократное облучение выполняли на 14-е сутки культивирования при достижении клетками от 80 % степени покрытия культуральной поверхности. В данных условиях толщина монослоя составляла около 100 мкм. Культуры клеток при выполнении всех процедур размещались в полистироловых флаконах прямоугольной формы площадью 25 см^2 с наклонным горлом и двухпозиционной крышкой. Воздействию ИПМИ культуры подвергали через сутки после съема монослоя и подсчета количества клеток, которые просматривали на микроскопе XDS-2SFL (Optika, Италия) при 20-кратном увеличении. Каждая культура до начала эксперимента содержала в себе от $23{,}8\times10^5$ до $33{,}8\times10^5$ клеток.

Облучение клеточных культур

Полученные культуры разделяли на группы: культуры контрольной группы не подвергали никаким воздействиям, опытные (три группы) подвергали однократному воздействию 50 наносекундных импульсов ИПМИ с частотой повторения импульсов 13 Гц, с пППМ 140, 210 и 310 Вт/см^2. Для каждого режима воздействия использовалось по три культуры клеток. Фиксированные частота повторения импульсов 13 Гц и количество наносекундных импульсов (50) были выбраны по итогам предыдущего исследования как наиболее эффективно обеспечивающие стимуляцию пролиферации мезенхимальных стволовых клеток [6]. Использованные пППМ, которые не вызывали измеряемого нагрева клеточной среды, определяли и фиксировали по стандартной методике на основе антенных измерений и калориметрических калибровок [14].

В качестве источника ИПМИ использовали лабораторный импульсный СВЧ-генератор на основе магнетрона МИ-459 (изделие серийного производства АО «Плутон», Россия). Несущая частота генератора составляла 9,4 ГГц, выходная пиковая мощность – не менее 20 кВт, длительность импульсов на половинном уровне мощности – 100 нс. В ходе воздействий клеточную культуру размещали на расстоянии 20 см от рупора антенны генератора в зоне сформировавшейся волны наносекундного ИПМИ. Во время радиочастотного электромагнитного воздействия возможны нагрев тканей и, соответственно, повышение температуры в облучаемом объекте/ткани. Измеренная величина нагрева используется для расчета удельной поглощенной мощности (УПМ), но ввиду невозможности измерения

нагрева применительно к наносекундным импульсам, корректно оценить УПМ невозможно. Поэтому целесообразнее использовать величину поглощенной энергии, которую можно рассчитать на основе измеренной пППМ. Для оценки поглощения электромагнитной волны в слое биологической ткани, толщиной L, можно использовать упрощенные формулы [15]:

$$\alpha = \frac{\pi\varepsilon''}{\lambda_0\sqrt{\varepsilon'}}, \quad (1)$$

$$\varepsilon'' = \frac{\sigma}{2\pi f \varepsilon_0}, \quad (2)$$

$$L = -20\lg\left(e^{\alpha l}\right), \quad (3)$$

где α – постоянная поглощения; ε' и ε'' – действительная и мнимая части диэлектрической проницаемости; σ – проводимость среды; ε_0 – электрическая постоянная; λ_0 и f – длина волны в свободном пространстве и частота; l – глубина (см). Приняв некоторые допущения, получаем выражение для поглощенной дозы (Дж/см^3), учитывающее диэлектрические свойства раствора клеток:

$$\Delta U\left(\frac{Дж}{см^3}\right) = NtS_0\left(1 - \frac{1}{L}\right), \quad (4)$$

где N – количество импульсов; t – длительность импульса; S_0 – плотность потока мощности падающей волны (пППМ, Вт/см^2); L – ослабление (кратность) по мощности на глубине 1 см. Однако следует учитывать, что в направлении распространения волны затухание происходит по экспоненциальному закону. Подставляя в эти выражения характеристики биологических тканей, для клеток костного мозга составляющие $\varepsilon' = 28$ и $\sigma = 10$ См/м [16, 17], можно получить значения ослабления, близкие по величине к результатам компьютерного моделирования. В соответствии с использованными в работе пППМ 140, 210 и 310 Вт/см^2 рассчитанная величина поглощенной энергии наносекундного ИПМИ в 50 импульсах на глубине 1 см составила соответственно 699, 1049 и 1549×10^{-6} Дж/см^3.

Статистическая обработка результатов исследования

При обработке полученных данных рассчитывали медиану (Me), верхний и нижний квартили [Q1; Q3], использовали критерии сравнения, включающие тест Фридмана и Краскела – Уоллиса. Для оценки нормальности распределения применяли тест Шапиро – Уилка. При принятии гипотез о различии уровень статистической значимости составил менее 5 % ($p < 0{,}05$) [18].

Результаты

Результаты проведенного исследования продемонстрировали разнонаправленное изменение скорости пролиферации стволовых клеток костного мозга крыс после воздействия на них наносекундным ИПМИ с разными значениями пППМ (таблица). В контрольной группе за счет естественного деления количество клеток увеличивалось на 21 % через 24 ч после начала эксперимента и на 42 % через 72 ч (см. таблицу, рис. 1). После облучения культуры клеток ИПМИ с максимальной использованной интенсивностью 310 Вт/см^2 (величина поглощенной энергии 1549×10^{-6} Дж/см^3) статистически значимых различий в скорости пролиферации клеток костного мозга в сравнении с контрольной группой не наблюдалось как через 24 ч, так и через 72 ч (см. таблицу). Однако относительно первого дня эксперимента (до облучения) максимальный эффект увеличения скорости самообновления клеток в исследуемой культуре регистрировался только через 72 ч ($p = 0{,}05$) (см. таблицу).

Воздействие на культуру клеток с пППМ 210 Вт/см^2 (величина поглощенной энергии 1049×10^{-6} Дж/см^3) инициировало статистически значимое торможение пролиферации клеток кост-

Количество мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крыс после воздействия наносекундным ИПМИ разной интенсивности, ×10^5

Number of mesenchymal stem cells in the rat bone marrow after exposure to nanosecond RPMs of different intensities

Группа клеток	До облучения	Через 24 ч	Через 72 ч
Контроль	23,8 [20,0; 27,5]	28,8 [25,0; 32,5]	33,8 [30,0; 37,5]
310 Вт/см^2	27,5 [25,0; 30,0]	33,8 [32,5; 35]	37,5 [35,0; 40] #
210 Вт/см^2	23,8 [20,0; 27,5]	18,8 [15,0; 22,5] *	22,5 [17,5; 27,5] *
140 Вт/см^2	33,8 [32,5; 35]	46,3 [45,0; 47,5] *,#	51,3 [50,0; 52,5] *,#

Примечание. *Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей: * – группы контроля в соответствующий день измерения (p < 0,05), # – до облучения внутри соответствующей группы (# – при p < 0,05, ## – при p < 0,001).*

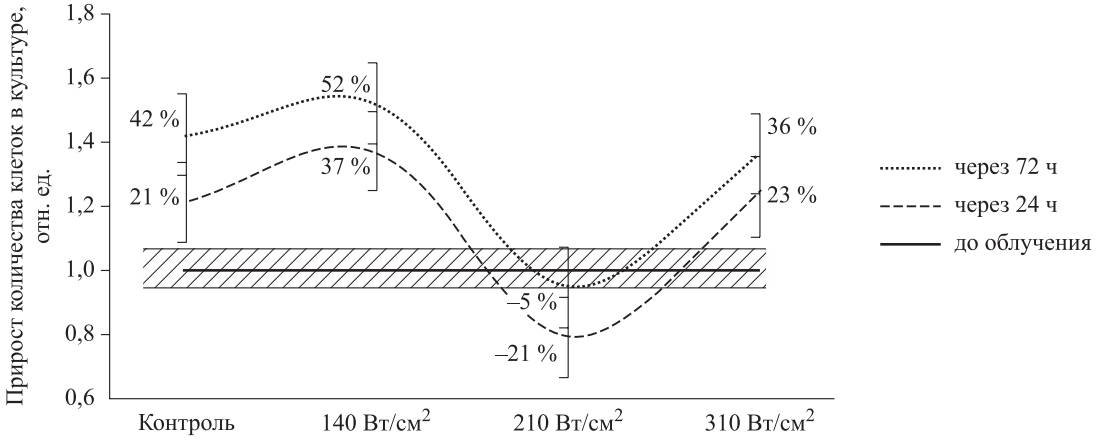


Рис. 1. *Изменение скорости деления мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крыс после воздействия наносекундными ИПМИ разной интенсивности. Заштрихованное пространство – 95%-й доверительный интервал среднего значения количества клеток до облучения*

Fig. 1. *Change in the rate of division of mesenchymal stem cells of the bone marrow of laboratory rats after exposure to RPMs of different intensities. Shaded space – 95 % confidence interval of the average value of the number of cells before irradiation*

ного мозга как через 24 ч, так и через 72 ч по отношению к контрольной культуре (см. таблицу.). Торможение деления клеток, опосредованное таким воздействием, может представлять принципиально важное значение при формулировке физиологического механизма реагирования данных стволовых клеток. Наиболее сильное влияние, стимулирующее скорость деления клеток костного мозга, оказывало воздействие ИПМИ с наименьшей интенсивностью – 140 Вт/см^2 (величина поглощенной энергии 699×10^{-6} Дж/см^3) (см. таблицу). Через 24 ч после воздействия количество клеток в культуре увеличивалось на 37 %, а через 72 ч эффект стимуляции достиг 52 % по отношению к контрольной культуре (см. рис. 1). Внутри облученной группы количество клеток статистически значимо увеличивалось как через 24 ч, так и через 72 ч после начала эксперимента (p = 0,001).

В зависимости от интенсивности ИПМИ скорость деления клеток как возрастала (стимуляция пролиферации), так и уменьшалась (ингибирование), т. е. реагирование имело фазный характер (см. рис. 1). Подобное реагирование наблюдалось в экспериментах с воздействием на клетки различным количеством микроволновых импульсов [6]. В настоящем исследовании эффект изменения скорости пролиферации формировался на фоне естественного самообновления клеток, т. е. ИПМИ инициировало дополнительную активацию неких молекул-мишеней, стимулирующих или ингибирующих соответствующие изменения пролиферации.

Обсуждение

Результаты проведенных экспериментов позволили установить, что скорость деления мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крыс после облучения ИПМИ разной интенсивности изменяется немонотонно (рис. 2). Совпадение реакций стволовых клеток после облучения с разным количеством импульсов, выявленное в предыдущем исследовании [6], и реагирование на ИПМИ разной интенсивности, описанное в настоящей работе, свидетельствует о наличии общих физиологического и первичного биофизического механизмов влияния наносекундных микроволновых импульсов на пролиферативную активность. В физиологической основе формирования эффекта может лежать активирующее влияние наносекундных импульсов на две различные молекулярные системы (клеточные мишени), обеспечивающие после микроволнового воздействия либо стимуляцию, либо торможение пролиферации клеток. Пока не представляется возможным четко идентифицировать конкретные клеточные мишени, ответственные за формирование эффекта, и это затрудняет количественное оценивание механизмов влияния.

По современным представлениям, на поведение клеток существенно влияет их локальное окружение – ниша [19]. В частности, ниша стволовых клеток влияет на их самообновление, адгезию к белкам внеклеточного матрикса, контакт с соседними клетками и на многие другие процессы, обеспечивающие функционирование кле-

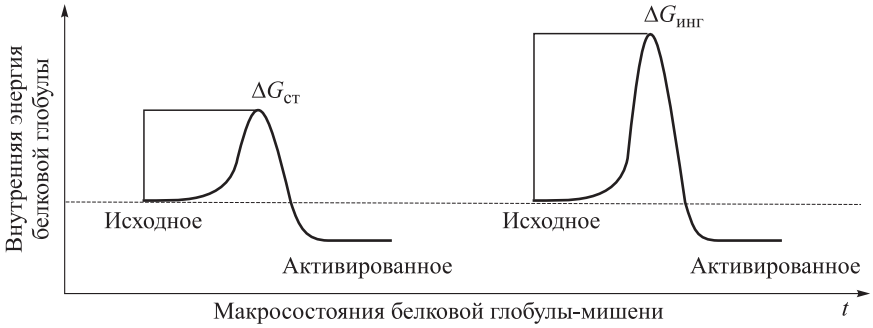


Рис. 2. *Предполагаемый биофизический механизм активации белковой глобулы-мишени, ответственной за процессы стимуляции и ингибирования наносекундными микроволновыми импульсами во время воздействия на стволовые клетки. Примечание: ΔG – активационные барьеры для стимулирования ($\Delta G_{ст}$) или ингибирования ($\Delta G_{инг}$) процессов пролиферации клеток воздействием ИПМИ. Эффект с меньшей высотой барьера характеризуется более быстрой кинетикой формирования*

Fig. 2. *The proposed biophysical mechanism of activation of the target protein globule responsible for the processes of stimulation and inhibition by nanosecond microwave pulses during exposure to stem cells. Note: ΔG – activation barriers for stimulation ($\Delta G_{ст}$) or inhibition ($\Delta G_{инг}$) of cell proliferation processes under the influence of RPMs. The effect with a lower barrier height is characterized by faster formation kinetics*

ток [20–23]. Существенно, что воздействие секретированных и иных химических соединений, а также внешних физических факторов способно модифицировать метаболический статус клеток [21–23]. Исходя из этого, при идентификации мишеней, реагирующих на ИПМИ, важно выявить те молекулярные сигналы окружения, которые управляют пролиферацией и дифференцированием стволовых клеток, на основе чего устанавливать конкретные механизмы влияния.

Нельзя исключить, что использованное нами наносекундное микроволновое излучение могло активировать не только какие-либо конкретные макромолекулы белков, но и отдельные звенья сигнальных систем из окружения клеток костного мозга или из окружения трансмембранных сигнальных путей, что в итоге обеспечивало активацию или торможение самообновления клеток. Особенно важным представляется обстоятельство, связанное с кальций-опосредованными сигнальными процессами. Это весьма существенно с той точки зрения, что, по модели W.R. Adey, эффекты модулированных электромагнитных излучений во многом обусловлены именно Ca^{2+}-зависимыми процессами [7]. При этом самые различные физиологические проявления клеточной активности связаны с наличием Ca^{2+}, регулирующего такие внутриклеточные процессы, как пролиферация, а также внеклеточные взаимодействия стволовых клеток [24, 25].

Исходя из характера реагирования стволовых клеток на воздействие ИПМИ, первичный биофизический механизм может быть представлен как результат индуцированного наносекундными микроволновыми импульсами перехода молекул-мишеней, в частности белковых глобул, из начального неактивированного состояния в активированное (см. рис. 2). Это соответствует представлению М.Б. Джаксона о различных макросостояниях белковых глобул и переходах между ними под влиянием внешних воздействий [26]. Энергия для преодоления активационного барьера между двумя макросостояниями белковых глобул появляется в виде их электронного возбуждения после поглощения энергии ИПМИ. Величина поглощенной энергии может быть рассчитана по формуле (4).

Условия перехода активационных барьеров $G_{ст}$ и $G_{инг}$ задаются термодинамическим уравнением: $\Delta U = \Delta H + T\Delta S$ (ΔH – изменение энтальпии; $T\Delta S$ – изменение энтропии глобулы). Очевидно, что в случае микроволнового излучения энергия воздействия $\Delta U = \Delta G$, где ΔG – энергия, необходимая для преодоления активационного барьера при переходе между макросостояниями молекулярных мишеней из неактивированного в активированное состояние. Таким образом, поглощенная энергия микроволнового излучения обеспечивает изменение внутренней энергии мишени (энтальпийный фактор) и пространственной реорганизации глобулы (энтропийный фактор). При этом изменение энтальпии отображает увеличение внутренней энергии глобулы, что происходит, возможно, за счет изменения внутримолекулярных взаимодействий (например, разрывов водородных связей или измене-

ния взаимодействия аминокислот с молекулами воды – гидрофобное взаимодействие) [26]. Такой процесс реализуется не самопроизвольно, а требует притока энергии извне, что может обеспечиваться электронным возбуждением белковой глобулы во время микроволнового воздействия. Такая внутримолекулярная перестройка способствует изменению конформационного состояния молекулы и обеспечивает тем самым ее переход в функционально активное состояние и, соответственно, влияет на изменение пролиферативной активности клетки. Поскольку максимальный эффект реализуется после воздействия ИПМИ с самой низкой интенсивностью из использованных (140 Вт/см^2, 699×10^{-6} Дж/см^3), по-видимому, макромолекулы-мишени, ответственные за стимуляцию, имеют самый низкий активационный барьер.

Заключение

Несмотря на неполное понимание первичного механизма воздействия наносекундного ИПМИ на пролиферативную активность стволовых клеток, использованный подход анализа полученных результатов позволяет, не прибегая к терминам «термогенные» и «нетермогенные» механизмы влияния, на основе рассчитанных значений поглощенной энергии ΔU идентифицировать возможные внутриклеточные события, индуцированные наносекундным ИПМИ. Это способствует оптимальному выбору стратегии изменения чувствительности клеточных мишеней за счет сочетанного с другими химическими или физическими факторами воздействия ИПМИ, изменяющего высоту активационных барьеров. Понимание же общих закономерностей реагирования стволовых клеток костного мозга на облучение ИПМИ в зависимости от параметров облучения (частоты повторения, количества импульсов, поглощенной энергии) позволяет эффективно управлять процессом пролиферации мезенхимальных стволовых клеток для обеспечения необходимого в практических целях масштабирования стволовых клеток *in vitro*.

Список литературы / References

1. Farabi B., Roster K., Hirani R., Tepper K., Atak M.F., Safai B. The efficacy of stem cells in wound healing: a systematic review. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;25(5):3006. doi: 10.3390/ijms25053006

2. Jin Y., Li S., Yu Q., Chen T., Liu D. Application of stem cells in regeneration medicine. *MedComm. (2020).* 2023;4(4):e291. doi: 10.1002/mco2.291

3. Kokai L.E., Marra K., Rubin J.P. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration. *Transl. Res.* 2014;163(4):399–408. doi: 10.1016/j.trsl.2013.11.009

4. Керея А.В., Гостюхина А.А., Межерицкий С.А, Большаков М.А., Зайцев К.В., Кутенков О.П., Ростов В.В. Пролиферативная активность клеток костного мозга крыс после облучения наносекундным импульсно-периодическим микроволновым излучением. *Соврем. вопр. биомед*. 2019;2(7):6–22.

Kereya A.V., Gostyukhina A.A., Mezheritsky S.A., Bol'shakov M.A., Zaitsev K.V., Kutenkov O.P., Rostov V.V. Proliferative activity of bone marrow mononuclear cells of rats after irradiation by nanosecond microwave pulses. *Sovremennye voprosy biomeditsiny = Modern Issues of Biomedicine.* 2019;2(7):6–22. [In Russian].

5. Самойлова А.В., Гостюхина А.А., Большаков М.А., Светлик М.В., Дорошенко О.С., Кутенков О.П., Зайцев К.В., Ростов В.В. Возможности управления пролиферацией гемопоэтических стволовых клеток посредством наносекундных импульсных микроволн. *Соврем. вопр. биомедицины*. 2021;5(1):15. doi: 10.51871/2588-0500_2021_05_01_15

Samoylova A.V., Gostyukhina A.A., Bol'shakov M.A., Svetlik M.V., Doroshenko O.S., Kutenkov O.P., Zaitsev K.V., Rostov V.V. Possibilities to control the proliferation of hematopoietic stem cells after irradiation by nanosecond microwave pulses. *Sovremennye voprosy biomeditsiny = Contemporary Issues in Biomedicine.* 2021;5(1):15. [In Russian]. doi: 10.51871/2588-0500_2021_05_01_15

6. Гостюхина А.А., Большаков М.А., Самойлова А.В., Дорошенко О.С., Светлик М.В., Кутенков О.П., Зайцев К.В., Ростов В.В. Стимуляция пролиферации мезенхимальных стволовых клеток из бедренной кости крыс Wistar наносекундным микроволновым излучением: зависимость от количества импульсов. *Радиац. биол. Радиоэкол.* 2023;63(1):80–86. doi: 10.31857/S0869803123010083

Gostyukhina A.A., Bolshakov M.A., Samoylova A.V., Doroshenko O.S., Svetlik M.V., Kutenkov O.P., Zaitsev K.V., Rostov V.V. Stimulation of mesenchymal stem cells proliferation from the femur of Wistar rats by nanosecond microwave radiation: dependence on the number of pulses. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology.* 2023;63(1):80–86. [In Russian]. doi: 10.31857/S0869803123010083

7. Adey W.R. Biological effects of electromagnetic fields. *J. Cell. Biochem*. 1993;51(4):410–416.

8. Керея А.В., Большаков М.А., Жаркова Л.П., Иванов В.В., Князева И.Р., Кутенков О.П., Ростов В.В., Семенова Ю.Н. Эффект воздействия наносекундного импульсно-периодического микроволнового излучения на эпididимальную жировую ткань мышей. *Радиац. биол. Радиоэкол.* 2014;54(6):606–612. doi: 10.7868/S0869803114060071

Kereya A.V., Bol'shakov M.A., Zharkova L.P., Ivanov V.V., Knyazeva I.R., Kutenkov O.P., Rostov V.V., Semenova Yu.N. The epididymal adipose tissue of mice after nanosecond pulse-periodic microwave irradiation. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology.* 2014;54(6);606–612. [In Russian]. doi: 10.7868/S0869803114060071

9. Керея А.В., Большаков М.А., Ходанович М.Ю., Немирович-Данченко Н.М., Кутенков О.П., Ростов В.В. Оценка реакции мозга мышей на воздействие наносекундных микроволновых импульсов по экспрессии белка c-fos. *Радиац. биол. Радиоэкол.* 2017;57(2):179–184. doi: 10.7868/S0869803117020072

Kereya A.V., Bolshakov M.A., Khodanovich M.Yu,. Nemirovich-Danchenko N.M., Kutenkov O.P., Rostov V.V. Evaluation of mice brain reactions after nanosecond microwave pulses using c-fos expression. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology.* 2017;57(2):179–184. [In Russian]. doi: 10.7868/S0869803117020072

10. Самойлова А.В., Большаков М.А., Жаркова Л.П., Гостюхина А.А., Кутенков О.П., Ростов В.В. Поведенческая активность и уровень кортикостерона в сыворотке крови мышей в динамике семидневного воздействия наносекундным импульсным микроволновым излучением. *Радиац. биол. Радиоэкол.* 2021;61(2):168–174. doi.10.31857/S0869803121020107

Samoylova A.V., Bolshakov M.A., Zharkova L.P. Gostyukhina A.A., Kutenkov O.P., Rostov V.V. Behavioral activity and corticosterone level in the mice blood serum during the 7-day exposure to nanosecond microwave pulses. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya = Radiation Biology.* 2021;61(2):168–174. [In Russian]. doi.10.31857/S0869803121020107

11. Tan S., Wang H., Xu X., Zhao L., Zhang J., Dong J., Yao B., Wang H., Zhou H., Gao Ya., Peng R. Study on dose-dependent, frequency-dependent, and accumulative effects of 1.5 GHz and 2.856 GHz microwave on cognitive functions in Wistar rats. *Sci. Rep*. 2017;7(1):10781. doi: 10.1038/s41598-017-11420-9

12. Шахов В.П., Хлусов И.А., Дамбаев Г.Ц. Введение в методы культуры клеток, биоинженерии органов и тканей. Томск: STT, 2004. 386 с.

Shakhov V.P., Khlusov I.A., Dambaev G.Ts. Introduction to cell culture methods, bioengineering of organs and tissues. Tomsk: STT, 2004. 386 p. [In Russian].

13. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Available at: http://data.europa.eu/eli/dir/1986/609/oj

14. Цыганков Р.В., Ростов В.В., Большаков М.А., Самойлова А.В., Жаркова Л.П., Гостюхина А.А., Кутенков О.П. Применение наносекундных СВЧ-импульсов в пачечном режиме для заживления ожоговых ран. *International Research Journal*. 2024;(1):1–17. doi: 10.23670/IRJ.2024.139.11

Tsygankov R.V., Rostov V.V., Bolshakov M.A., Samoylova A.V., Zharkova L.P., Gostyukhina A.A., Kutenkov O.P. Application of nanosecond microwave pulses in batch regime for healing of burn wounds. *International Research Journal*. 2024;(1):1–17. doi: 10.23670/IRJ.2024.139.11

15. Malik N.A., Sant P., Ajmal T., Ur-Rehman M. Implantable antennas for biomedical applications. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering.* 2021;5(1):84–96. doi: 10.1109/JERM.2020.3026588

16. Peyman A., Rezazadeh A.A., Gabriel C. Changes in the dielectric proper ties of rat tissue as a function of age at microwave frequencies. *Phys. Med. Biol.* 2001;46(6):1617–1629. doi: 10.1088/0031-9155/46/6/303

17. Sasaki K., Porter E., Rashed E.A., Farrugia L., Schmid G. Measurement and image-based estimation of dielectric properties of biological tissues – past, present, and future. *Phys. Med. Biol.* 2022;67(14):14TR01. doi: 10.1088/1361-6560/ac7b64

18. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии. М.: Медицина, 2000. 412 с.

Medik V.A., Tokmachev M.S., Fishman B.B. Statistics in medicine and biology. Moscow: Meditsina; 2000. 412 p. [In Russian].

19. Moore K.A., Lemischka I.R. Stem cells and their niches. *Science.* 2006;311(5769):1880–1885. doi: 10.1126/science.1110542

20. Comazzetto S., Shen B., Morrison S.J. Niches that regulate stem cells and hematopoiesis in adult bone marrow. *Dev. Cell.* 2021;56(13):1848–1860. doi: 10.1016/j.devcel.2021.05.018

21. Нимирицкий П.П., Сагарадзе Г.Д., Ефименко А.Ю., Макаревич П.И., Ткачук В.А. Ниша стволовой клетки. *Цитология.* 2018;60(8):575–586. doi: 10.31116/tsitol.2018.08.01

Nimiritsky P.P., Sagaradze G.D., Efimenko A.Yu., Makarevich P.I., Tkachuk V.A. The stem cell niche. *Cell Tissue Biol*. 2019;53(6):1012–1019. doi: 10.31116/tsitol.2018.08.01

22. Белявский А.В. Ниши гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге. *Молекул. биол.* 2019;53(6):1012–1019. doi: 10.1134/S0026898419060028

Belyavsky A.V. Niches of hematopoietic stem cells in bone marrow. *Mol. Biol. (Mosc.)*. 2019;53(6):889–895. doi: 10.1134/S0026898419060028

23. Wei Q., Frenette P.S. Niches for hematopoietic stem cells and their progeny. *Immunity.* 2018;48(4):632–648. doi: 10.1016/j.immuni.2018.03.024

24. Chen S., Fang W., Ye F., Liu Yu.H., Qian J., Shan Sh.J., Chunhua R.Zh., Liao L.M. Lin S., Sun J.P. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarc-

tion. *Am. J. Cardiol.* 2004;94(1):92–95. doi: 10.1016/j.amjcard.2004.03.034

25. Kim T.J., Joo C., Seong J., Vafabakhsh R., Botvinick E., Berns M.W., Palmer A.E., Wang N., Ha T., Jakobsson E., Sun J., Wang Y. Distinct mechanisms regulating mechanical force-induced Ca(2+) signals at the plasma membrane and the ER in human MSCs. *eLife.* 2015;4:e04876. doi: 10.7554/eLife.04876

26. Джаксон М.Б. Молекулярная и клеточная биофизика. М.: Мир, 2009. 551 с.

Jackson M.B. Molecular and cellular biophysics. Moscow: Mir, 2009. 551 p. [In Russian].

Сведения об авторах:

Самойлова Анна Викторовна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-4857-935X, e-mail: kereya21@mail.ru
Гостюхина Алена Анатольевна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-3655-6505, e-mail: antariks-tomsk2015@yandex.ru
Жаркова Любовь Петровна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-0293-3077, e-mail: Zharkova_lubov@mail.ru
Большаков Михаил Алексеевич, д.б.н., проф., ORCID: 0000-0001-7955-1478, e-mail: mbol@ngs.ru
Дорошенко Ольга Сергеевна, ORCID: 0000-0003-4764-4842, e-mail: doroshenko.olga.95@mail.ru
Цыганков Руслан Вячеславович, ORCID: 0000-0002-8253-3796, e-mail: mincemeat@rambler.ru
Зайцев Константин Васильевич, д.м.н., ORCID: 0000-0003-6504-5232, e-mail: exper@med.tomsk.ru
Ростов Владислав Владимирович, д.ф.-м.н., проф., ORCID: 0000-0002-1718-0111, e-mail: rostov@lfe.hcei.tsc.ru

Information about the authors:

Anna V. Samoylova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-4857-935X, e-mail: kereya21@mail.ru
Alena A. Gostyukhina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-3655-6505, e-mail: antariks-tomsk2015@yandex.ru
Lyubov P. Zharkova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-0293-3077, e-mail: Zharkova_lubov@mail.ru
Mikhail A. Bolshakov, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0001-7955-1478, e-mail: mbol@ngs.ru
Olga S. Doroshenko, ORCID: 0000-0003-4764-4842, e-mail: doroshenko.olga.95@mail.ru
Ruslan V. Tsygankov, ORCID: 0000-0002-8253-3796, e-mail: mincemeat@rambler.ru
Konstantin V. Zaitsev, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-6504-5232, e-mail: exper@med.tomsk.ru
Vladislav V. Rostov, doctor of physical and mathematical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-1718-0111, e-mail: rostov@lfe.hcei.tsc.ru

Поступила в редакцию 05.07.2024
После доработки 23.08.2024
Принята к публикации 18.11.2024

Received 05.07.2024
Revision received 23.08.2024
Accepted 18.11.2024

УДК 615.32 DOI: 10.18699/SSMJ20240617
Оригинальное исследование / Research article

Улучшение антиоксидантной защиты и энергопродукции при нейродегенеративных процессах в головном мозге, вызванных длительной алкоголизацией, под действием экстракта *Lophantus chinensis* Benth

А.А. Торопова[1], Я.Г. Разуваева[1], Е.Д. Халтагарова[1, 2], Д.Н. Оленников[1]

[1] *Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН*
670042, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6
[2] *Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова*
670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а

Резюме

Длительное злоупотребление алкоголем вызывает психоэмоциональные и когнитивные нарушения вплоть до тяжелой деменции. Окислительный стресс считается одним из основных механизмов в патофизиологии когнитивных расстройств, вызванных длительной алкоголизацией. В связи с этим актуальным является поиск веществ, способных корригировать митохондриальную дисфункцию и окислительный стресс, возникающие в результате продолжительного потребления этанола. Определенный интерес в комплексном лечении алкогольной энцефалопатии вызывает лофант китайский (*Lophanthus chinensis*), используемый в тибетской и монгольской традиционной медицине при заболеваниях печени, а также в качестве средства, улучшающего функциональное состояние организма и обмен веществ, замедляющего процесс старения. **Материал и методы.** Алкогольную интоксикацию моделировали на крысах Wistar введением *per os* 40%-го раствора этанола в объеме 10 мл/кг в течение шести недель. Сухой экстракт *L. chinensis* в дозе 100 мг/кг вводили животным *per os* начиная с третьей недели через час после этанола. На 45-е сутки в гомогенате головного мозга животных спектрофотометрически определяли содержание малонового диальдегида (MDA), восстановленного глутатиона (GSH), активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, NADH-дегидрогеназного и сукцинатдегидрогеназного комплекса, а также концентрацию ATP. **Результаты**. Установлено, что экстракт *L. chinensis* повышает активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы (соответственно на 10 %, $p = 0{,}016$, на 31 %, $p = 0{,}001$, на 30 %, $p = 0{,}041$ и на 29 %, $p = 0{,}009$) и содержание GSH (на 24 %, $p = 0{,}019$), а также уменьшает концентрацию MDA (на 20 %, $p = 0{,}014$) в ткани головного мозга. Снижение интенсивности окислительного стресса способствует усилению функционирования ферментативных комплексов I (на 23 %, $p = 0{,}017$) и II (на 72 %, $p = 0{,}001$) дыхательной цепи митохондрий и увеличению содержания ATP (на 23 %, $p = 0{,}029$) в мозге крыс. **Заключение.** Экстракт *L. chinensis* проявляет антиоксидантное действие и стимулирует энергетические процессы в головном мозге при нейродегенеративных процессах, вызванных длительной алкоголизацией.

Ключевые слова: экстракт *Lophanthus chinensis*, алкогольная интоксикация, антиоксидантная активность, энергопротективное действие.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследования проведены в рамках выполнения темы госзадания по проекту FWSM-2021-0005 (№ госрегистрации 121030100227-7).

Автор для переписки: Разуваева Я.Г., e-mail: tatur75@mail.ru

Для цитирования: Торопова А.А., Разуваева Я.Г., Халтагарова Е.Д., Оленников Д.Н. Улучшение антиоксидантной защиты и энергопродукции при нейродегенеративных процессах в головном мозге, вызванных длительной алкоголизацией, под действием экстракта *Lophantus chinensis* Benth. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):171–178. doi: 10.18699/SSMJ20240617

Improvement of antioxidant protection and energy production in neurodegenerative processes in the brain caused by long-term alcoholism under the influence of *Lophantus chinensis* Benth extract

A.A. Toropova[1], Ya.G. Razuvaeva[1], E.D. Khaltagarova[1, 2], D.N. Olennikov[1]

[1] *Institute of General and Experimental Biology of SB RAS*
670047, Ulan-Ude, Sakhyanovoy st., 6
[2] *Banzarov Buryat State University*
670000, Ulan-Ude, Smolina st., 24a

Abstract

Long-term alcohol abuse causes psycho-emotional and cognitive impairment, including severe dementia. Oxidative stress is considered one of the main mechanisms in the cognitive disorders pathophysiology caused by long-term alcoholism. In this regard, the search for substances capable of correcting mitochondrial dysfunction and oxidative stress that arise as a result of prolonged ethanol consumption is relevant. Of particular interest in the complex treatment of alcoholic encephalopathy is Chinese hyssop (*Lophanthus chinensis*), used in Tibetan and Mongolian traditional medicine for liver diseases, as well as a means of improving the functional state of the body and metabolism, slowing down the aging process. **Material and methods.** Alcohol intoxication was modeled in Wistar rats by per os administration of a 40 % ethanol solution in a volume of 10 ml/kg for six weeks. The *L. chinensis* dry extract at a dose of 100 mg/kg was administered to animals per os starting from the third week, an hour after ethanol. On day 45, the content of malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), activity of catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase, NADH dehydrogenase and succinate dehydrogenase complex, concentration of ATP were determined spectrophotometrically in the animal brain homogenate. **Results.** It was found that *L. chinensis* extract increases the activity of catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase (by 10 %, $p = 0.016$, by 31 %, $p = 0.001$, by 30 %, $p = 0.041$, by 29 %, $p = 0.009$, respectively) and GSH content (by 24 %, $p = 0.019$), and also reduces the concentration of MDA (by 20 %, $p = 0.014$) in brain tissue. A decrease in the intensity of oxidative stress enhances the functioning of enzymatic complexes I (by 23 %, $p = 0.017$) and II of the mitochondrial respiratory chain (by 72 %, $p = 0.001$) and increases the ATP content (by 23 %, $p = 0.029$) in the rat's brain. **Conclusions.** *L. chinensis* extract exhibits antioxidant effects and stimulates energy processes in neurodegenerative processes in the brain caused by long-term alcoholism.

Key words: *Lophanthus chinensis* extract, alcohol intoxication, antioxidant activity, energy protective effect.

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

Acknowledgments. The research was carried out as part of the state assignment topic for the project FWSM-2021-0005 (state registration number 121030100227-7).

Correspondence author: Razuvaeva Ya.G. , e-mail: tatur75@mail.ru

Citation: Toropova A.A., Razuvaeva Ya.G., Khaltagarova E.D., Olennikov D.N. Improvement of antioxidant protection and energy production in neurodegenerative processes in the brain caused by long-term alcoholism under the influence of *Lophantus chinensis* Benth extract. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):171–178. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240617

Введение

Алкоголизм является важной социальной и медицинской проблемой во всем мире. Длительное злоупотребление алкоголем приводит к дисфункции гематоэнцефалического барьера, синаптической дегенерации, демиелинизации нервных волокон и гибели нейронов. По данным литературы, наиболее выраженной дегенерации при алкоголизации подвержены кора больших полушарий, гиппокамп и мозжечок [1–3]. Вследствие этого длительное употребление алкоголя способствует ухудшению психоэмоционального состояния, развитию когнитивных нарушений, вплоть до тяжелой деменции [4, 5].

Гибель нервных клеток на фоне хронического употребления алкоголя обусловлена токсичностью этанола и его метаболитов, а также дефицитом питательных веществ, преимущественно тиамина. Их комбинированный эффект приводит к нарушению функционирования гематоэнцефалического барьера, отеку, вследствие чего развивается нейровоспаление, увеличивается выработка активных форм кислорода (АФК), синтез NO, усиливаются процессы свободнорадикального

окисления биомолекул, нарушается митохондриальное окислительное фосфорилирование и снижается выработка ATP [2, 6]. Считается, что окислительный стресс служит основным механизмом в патофизиологии когнитивных расстройств при алкоголизме, повышение его выраженности коррелирует с тяжестью алкогольной болезни и более высоким риском рецидива употребления этанола [3, 6].

Соответственно, разработка доступных натуральных лекарственных средств с антиоксидантной активностью и оценка их применения для лечения неврологических нарушений, вызванных употреблением алкоголя, являются перспективными. Определенный интерес в комплексном лечении алкогольной энцефалопатии вызывает растение семейства Lamiaceae – лофант китайский (*Lophanthus chinensis* Benth, он же *Nepeta lophanthus* (L.) Fisch. ex Loew). Извлечения *L. chinensis* широко используются в тибетской и монгольской медицине при заболеваниях печени, а также в качестве средства, повышающего функциональное состояние организма, улучшающего обмен веществ и замедляющего процесс старения [7, 8]. Несмотря на то что данное растение относится к роду *Lophanthus,* по химическому составу оно тесно связано с представителями хорошо изученного рода *Nepeta* [9]. В традиционной медицине бурят *L. chinensis* и *N. multifida* являются взаимозаменяемыми растениями в лечении многих заболеваний [7]. При этом растения рода *Nepeta* в эксперименте на животных показали антиоксидантные, анксиолитические, нейропротективные свойства [10–12]. Ранее нами установлено, что экстракт *L. chinensis* оказывает нейропротективный эффект при хронической алкоголизации лабораторных животных, нормализуя поведенческие реакции, ограничивая развитие когнитивных нарушений и гибель нейронов в коре больших полушарий [13]. В связи с этим актуальным является исследование механизмов нейропротективного действия экстракта *L. chinensis* при алкогольной энцефалопатии.

Цель исследования – оценить влияние экстракта *L. chinensis* на содержание редокс-активных компонентов и состояние энергетического метаболизма в головном мозге крыс при длительной алкоголизации.

Материал и методы

Исследования выполнены на 32 крысах Wistar массой 200 ± 20 г. Все работы с лабораторными животными проводили согласно этическим нормам в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986). Исследование одобрено этическим комитетом Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (протокол № 3 от 20.10.2021).

Животные были распределены на четыре группы: позитивный контроль (n = 8), негативный контроль (n = 8), 1-я опытная (n = 8), 2-я опытная (n = 8). Животным, которые входили в группы негативный контроль и опыт, в течение шести недель вводили 40%-й раствор этанола в объеме 10 мл/кг. Введение данной дозы этанола в течение указанного периода времени способствует развитию когнитивных нарушений и появлению структурных изменений в головном мозге лабораторных животных [14]. Начиная с 15-го дня и до конца эксперимента животным 1-й опытной группы через час после введения этанола вводили *per os* водный раствор сухого экстракта *L. chinensis* в дозе 100 мг/кг, в объеме 10 мл/кг, животным 2-й опытной группы – экстракт *Ginkgo biloba* (Танакан, ПN011709/01, «БофурИпсенИндастри», Франция) по аналогичной схеме, крысам группы негативного контроля – воду в объеме 10 мл/кг. Животным позитивного контроля этанол не вводили.

На 45-е сутки животных выводили из эксперимента методом мгновенной декапитации под эфирным наркозом. Головной мозг извлекали, промывали физиологическим раствором и готовили гомогенат для проведения биохимических исследований. Все манипуляции выполняли на льду при температуре +4 °C. Содержание редокс-активных компонентов оценивали спектрофотометрически. Интенсивность прооксидантных процессов в ткани головного мозга характеризовали по содержанию малонового диальдегида (MDA), образующего окрашенный триметиновый комплекс с тиобарбитуровой кислотой [15]. Эндогенную антиоксидантную защиту характеризовали следующим образом: определяли активность супероксиддисмутазы (SOD) в реакции торможения при восстановлении нитросинего тетразолия в присутствии NADH и феназинметасульфата [16], каталазы – по способности к разложению H_2O_2 с последующим определением остаточного субстрата в реакции с аммонием молибденовокислым [17], глутатионпероксидазы (GPx) – по степени расхода восстановленного глутатиона (GSH) [18], глутатионредуктазы – по скорости убыли NADPH при восстановлении окисленного глутатиона [18], содержание GSH в реакции с 5,5’-дитиобис-(2-нитробензойной кислотой) по

интенсивности образования окрашенного продукта реакции – 5-тио-2-нитробензойной кислоты [19]. Состояние энергетического метаболизма изучали по активности NADH-дегидрогеназного комплекса, определяя убыль NADH, рассчитывая ее как разницу между общей и устойчивой к ротенону активностью [20], по ферментативному состоянию сукцинатдегидрогеназного комплекса, оценивая степень восстановления 2,6-дихлорфенолиндофенола натрия [21], а также по содержанию ATP в реакции фосфорилирования глюкозы с измерением убыли NAD^+ [22].

Соответствие анализируемых признаков закону нормального распределения оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Переменные представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего арифметического ($M \pm m$). Достоверность различий между данными контрольной и опытных групп определяли с помощью критерия Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p \leq 0{,}05$.

Результаты

Полученные нами результаты подтверждают данные литературы, свидетельствующие о том, что хроническая алкоголизация способствует развитию в головном мозге окислительного стресса, который в свою очередь приводит к дисфункции митохондрий и снижению выработки нейронами ATP [1, 3, 6]. Так, у животных негативного контроля в гомогенате головного мозга на фоне увеличения концентрации продукта перекисного окисления липидов MDA (на 65 %) снижалась активность ферментов антиоксидантной системы SOD (на 28 %), каталазы (на 21 %), GPx (на 44 %), глутатионредуктазы (на 33 %), а также содержание GSH (на 21 %) по отношению к показателям позитивного контроля (таблица). За счет снижения функционирования I и II митохондриальных комплексов концентрация ATP в ткани головного мозга животных негативного контроля была на 44 % меньше, чем в группе позитивного контроля (см. таблицу).

Исследуемое средство проявляло выраженное антиоксидантное действие, препятствуя окислению биомакромолекул и повышая антиоксидантный статус животных, сопрягая клеточное дыхание и энергопродукцию (см. таблицу). При введении животным экстракта *L. chinensis* наблюдалось статистически значимое возрастание величины всех исследуемых компонентов антиоксидантной системы. Так, активность каталазы, участвующей в окислении этанола до ацетальдегида, а также в восстановлении пероксида водорода [6], повысилась относительно показателя

Влияние экстракта L. chinensis на уровень MDA, активность антиоксидантных ферментов, содержание GSH, активность митохондриальных комплексов и содержание ATP в гомогенате головного мозга белых крыс при длительном введении этанола

Effect of L. chinensis extract on the MDA level, antioxidant enzymes activity, GSH content, activity of mitochondrial complexes and ATP content in the brain homogenate of white rats with long-term administration of ethanol

Параметр	Позитивный контроль (вода) (1)	Негативный контроль (этанол + вода) (2)	Опытная 1 (этанол + *L. chinensis*) (3)	Опытная 2 (этанол + *G. biloba*) (4)	p_{1-2}	p_{2-3}	p_{2-4}
Содержание MDA, мкмоль/г ткани	9,7 ± 0,96	16,7 ± 1,33	12,7 ± 0,87	13,1 ± 0,39	0,002	0,014	0,012
Активность SOD, мкмоль/мин/мг белка	16,2 ± 0,39	11,7 ± 0,22	15,7 ± 0,47	14,2 ± 0,26	0,001	0,001	0,005
Активность каталазы, ммоль/мин/мг белка	9,4 ± 0,55	8,2 ± 0,29	9,0 ± 0,20	8,7 ± 0,17	0,037	0,016	> 0,05
Активность GPx, мкмоль/мин/мг белка	118,5 ± 9,68	80,1 ± 4,59	97,0 ± 6,90	92,7 ±4,25	0,002	0,041	0,020
Активность глутатионредукталазы, мкмоль/мин/мг белка	74,4 ± 7,78	50,0 ± 3,81	60,6 ± 2.61	64,5 ± 2,91	0,001	0,009	0,005
Содержание GSH, мкмоль/мг белка	21,2 ± 0,68	16,7 ± 0,38	21,0 ± 0,65	19,4 ± 0,42	0,001	0,001	0,019
Активность NADH-дегидрогеназы, ммоль/мин/мг белка	8,5 ± 0,37	5,6 ± 0,45	6,9 ± 0,29	6,3 ± 0,21	0,001	0,017	> 0,05
Активность сукцинатдегидрогеназного комплекса, ммоль/мин/мг белка	59,2 ± 3,12	31,8 ± 2,48	54,7 ± 2,53	51,3 ± 3,09	0,001	0,001	0,001
Содержание ATP, ммоль/г ткани	3,9 ± 0,22	2,2 ± 0,10	2,7 ± 0,15	2,5 ± 0,11	0,001	0,029	0,029

негативного контроля на 10 %, тогда как препарат сравнения увеличил данный параметр лишь на 7 %, и различие не было статистически значимым. Активность SOD у животных 1-й и 2-й опытных групп была выше на 31 и 21 % соответственно, чем в негативном контроле. Экстракт *L. chinensis* также оказывал значимое влияние и на глутатионовое звено антиоксидантной системы, повышая активность GPx, глутатионредуктазы и содержание GSH в гомогенате головного мозга на 44, 21 и 24 % по сравнению с таковыми у животных негативного контроля. Во 2-й опытной группе данные показатели были больше на 30, 29 и 17 % соответственно, чем в негативном контроле. Увеличение функциональной активности антиоксидантной системы у животных опытных групп способствовало снижению продукции MDA в среднем на 20 % по сравнению с негативным контролем.

Уменьшение интенсивности окислительного стресса способствовало повышению функционирования NADH-дегидрогеназного и сукцинатдегидрогеназного ферментативных комплексов дыхательной цепи митохондрий – у животных, которым вводили экстракт *L. chinensis*, статистически значимому, на 23 и 72 % соответственно, тогда как препарат сравнения способствовал росту активности только последнего (на 61 %) относительно показателей у животных негативного контроля. Как следствие, содержание ATP в ткани головного мозга животных 1-й опытной группы увеличилось на 23 %, 2-й опытной группы – на 14 % по сравнению с таковым у крыс группы негативного контроля (см. таблицу).

Обсуждение

Известно, что редокс-баланс поддерживает клеточный гомеостаз, тогда как гиперпродукция АФК приводит к окислительному стрессу, играющему значимую роль в патогенезе большинства заболеваний, включая алкоголизм [6]. В ходе метаболизма этанола образуется значительное количество высокореактивных молекул, которые индуцируют перекисное окисление липидов, деструкцию белков и нуклеиновых кислот, повышение продукции цитокинов, повреждение митохондрий [23]. Окислительный стресс усиливается в результате нарушения функционирования антиоксидантов (SOD, каталазы, компонентов системы глутатиона), активность которых снижается на фоне как хронического, так и острого употребления алкоголя [24]. Ацетальдегид, образующийся в ходе метаболизма этанола, увеличивает экспрессию и активность NAPDH-оксидазы 2, играющей важную роль в образовании митохондриальных АФК [25]. Чрезмерный окислительный стресс при приеме этанола повреждает все основные классы макромолекул, вследствие этого формируется митохондриальная дисфункция, нарушаются функции нейронов и передача ими сигналов, что в конечном итоге приводит к когнитивным нарушениям [6].

Исследуемое нами растительное средство, экстракт *L. chinensis*, при длительном введении этанола способно активировать ферменты антиоксидантной системы – SOD, каталазу, GPx и глутатионредуктазу, ингибировать процессы перекисного окисления липидов и нормализовать работу митохондриальных комплексов, что обусловлено разнообразием химического состава его метаболитов. Так, по данным фармацевтических исследований, в надземной части *L. chinensis* содержатся флавоноиды (апигенин, лютеолин, лютеолин-7-гликозид, сколимозид), кумарины (скополетин), фенолокислоты, каротиноиды, дитерпены, тритерпены (олеаноловая и урсоловая кислоты), β-ситостерины, полисахариды и др. [9, 26, 27].

Лютеолин и апигенин содержатся во многих растениях и, по данным исследований *in vitro* и *in vivo*, имеют широкий спектр биологической активности, включая антиоксидантную, которая обусловлена модуляцией редокс-зависимых сигнальных путей (с участием NF-κB, Nrf2, MAPK, P13/Akt), усилением активности ферментативных и неферментативных антиоксидантов, хелатированием металлов, инактивацией высокореактогенных молекул [28, 29]. Кроме того, антиоксидантное действие лютеолина обусловлено абсорбирующими свойствами его гликозидной группы, которая помогает удалять активные формы азота и кислорода; за счет повышения активности антиоксидантных ферментов флавоноид способствует детоксикации ксенобиотиков [30]. В модельных бесклеточных системах показана способность скополетина ингибировать супероксид-анион, гидроксильный радикал, перекисное окисление липидов [31]. В исследованиях *in vivo* при моделировании патологических состояний данный кумарин способствует активации антиоксидантных ферментов [32].

Для растений семейства Lamiaceae характерно наличие большого количества фенольных кислот, в частности, в составе *L. chinensis* присутствуют кофейная и розмариновая кислоты [26], представляющие собой соединения с выраженной противовоспалительной и антиоксидантной активностью [33, 34]. Розмариновую кислоту рассматривают также как потенциальное терапевтическое средство против алкогольной деменции: так, показано, что она устраняет когнитивный дефицит у животных, вызванный этанолом,

вследствие снижения интенсивности перекисного окисления липидов и уровня нитритов, нарушения редокс-баланса [35], способствует нормализации функционирования сукцинат-убихинон-оксидоредуктазы при митохондриальной дисфункции, вызванной токсическими веществами [33].

Хроническое чрезмерное употребление алкоголя приводит к воспалению во многих органах, включая головной мозг. Алкоголь проникает через гематоэнцефалический барьер, активирует через Toll-рецепторы микроглию и астроциты, тем самым способствует активации сигнальных молекул и повышенной секреции цитокинов, таких как TNF-α, IL-1β, IL-6, интерферон γ. Нейровоспаление в свою очередь способствует усилению выработки АФК, нейродегенерации и нарушению процессов нейропластичности [5, 6, 36]. Вследствие этого антиоксидантное действие и способность стимулировать энергетический метаболизм *L. chinensis* косвенно могут быть обусловлены присутствием в его составе дитерпенов, оказывающих ингибирующее действие на продукцию цитокинов микроглиоцитами [9].

Заключение

Таким образом, экстракт *L. chinensis* на фоне длительной алкогольной интоксикации проявляет антиоксидантное действие, ингибируя процессы перекисного окисления липидов и усиливая эндогенную антиоксидантную защиту, за счет увеличения каталитической активности митохондриальных комплексов повышает энергообеспечение нервных клеток. Антиоксидантное действие и способность нормализовать работу митохондриальных комплексов лежат в основе нейропротективного действия экстракта *L. chinensis* при алкоголизации.

Список литературы / References

1. Jabbari A., Alani B., Arjmand A., Mazoochi T., Kheiripour N., Ardjmand A. Silymarin pretreatment protects against ethanol-induced memory impairment: Biochemical and histopathological evidence. *J. Chem. Neuroanat*. 2023;132:102310. doi: 10.1016/j.jchemneu.2023.102310

2. Mitoma H., Manto M., Shaikh A.G. Mechanisms of ethanol-induced cerebellar ataxia: Underpinnings of neuronal death in the cerebellum. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2021;18(16):8678. doi: 10.3390/ijerph18168678

3. Nutt D., Hayes A., Fonville L., Zafar R., Palmer E.O.C., Paterson L., Lingford-Hughes A. Alcohol and the brain. *Nutrients*. 2021;13(11):3938. doi: 10.3390/nu13113938

4. Fairbanks J., Umbreit A., Kolla B.P., Karpyak V.M., Schneekloth T.D., Loukianova L.L., Sinha S. Evidence-based pharmacotherapies for alcohol use disorder: clinical pearls. *Mayo Clin. Proc.* 2020;95(9):1964–1977. doi: 10.1016/j.mayocp.2020.01.030

5. Pervin Z., Stephen J.M. Effect of alcohol on the central nervous system to develop neurological disorder: Pathophysiological and lifestyle modulation can be potential therapeutic options for alcohol-induced neurotoxication. *AIMS Neurosci.* 2021;8(3):390–413. doi: 10.3934/Neuroscience.2021021

6. Tsermpini E.E., Plemenitaš Ilješ A., Dolžan V. Alcohol-induced oxidative stress and the role of antioxidants in alcohol use disorder: A systematic review. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(7):1374. doi: 10.3390/antiox11071374

7. Асеева Т.А., Дашиев Д.Б., Дашиев А.Д., Николаев С.М., Суркова Н.А., Чехирова Г.В., Юрина Т.А. Тибетская медицина у бурят. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2008. 324 с.

Aseeva T.A., Dashiev D.B., Dashiev A.D., Nikolaev S.M., Surkova N.A., Chekhirova G.V., Yurina T.A. Tibetan medicine among the Buryats. Novosibirsk, 2008. 324 p. [In Russian].

8. Баторова С.М., Яковлев Г.П., Асеева Т.А. Справочник лекарственных растений традиционной тибетской медицины. Новосибирск: Наука, 2013. 292 с.

Batorova S.M., Yakovlev G.P., Aseeva T.A. Directory of medicinal plants of traditional Tibetan medicine. Novosibirsk: Nauka, 2013. 292 p. [In Russian].

9. Tanaka N., Kashiwada Y. Phytochemical studies on traditional herbal medicines based on the ethnopharmacological information obtained by field studies. *J. Nat. Med*. 2021;75(4):762–783. doi: 10.1007/s11418-021-01545-7

10. Razuvaeva Ya.G., Toropova A.A., Olennikov D.N., Kharzheev D.V. Antihypoxic activity of the dry extract from *Nepeta multifida* L. *Nat. Prod. Res*. 2022;36(12):3105–3109. doi: 10.1080/14786419.2021.1935932

11. Sharma A., Cooper R., Bhardwaj G., Cannoo D.S. The genus *Nepeta*: Traditional uses, phytochemicals and pharmacological properties. *J. Ethnopharmacol.* 2021;268:113679. doi: 10.1016/j.jep.2020.113679

12. Süntar I., Nabavi S.M., Barreca D., Fischer N., Efferth T. Pharmacological and chemical features of *Nepeta* L. genus: Its importance as a therapeutic agent. *Phytother. Res*. 2018;32(2):185–198. doi: 10.1002/ptr.5946

13. Разуваева Я.Г., Халтагарова Е.Д., Торопова А.А., Маркова К.В., Оленников Д.Н. Влияние *Lophanthus chinensis* экстракта сухого на морфофункциональное состояние головного мозга крыс Wistar при длительной алкоголизации. *Вопр. биол., мед. и фармац. химии*. 2024;27(5):65–71. doi: 10.29296/25877313-2024-05-08

Razuvaeva Ya.G., Khaltagarova E.D., Toropova A.A., Markova K.V., Olennikov D.N. Influence of *Lo-*

phanthus chinensis dry extract on the morphofunctional state of Wistar rats the brain during long-term alcoholization. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Problems of biological, medicinal and pharmaceutical chemistry.* 2024;27(5):65–71. [In Russian]. doi: 10.29296/25877313-2024-05-08

14. Дашинамжилов Ж.Б., Лоншакова К.С., Убашеев И.О., Николаев С.М., Гулевич А.А. Нейропротекторное действие растительного средства «нейрофит» при алкогольной интоксикации. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 2007;(4):27–29.

Dashinamzhilov Zh.B., Lonshakova K.S., Ubasheev I.O., Nikolaev S.M., Gulevich A.A. A neuroprotective effect of the herbal drug neurofit in alcoholic intoxication. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy.* 2007;(4):27–29. [In Russian].

15. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ, 2009. 896 с.

Kamyshnikov V.S. Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnostics. Moscow: MEDpress-inform, 2009. 896 p. [In Russian].

16. Boriskin P., Gulenko O., Deviatkin A., Pavlova O., Toropovskiy A. Correlation of superoxide dismutase activity distribution in serum and tissues of small experimental animals. *IOP Conf. Ser: Earth Environ. Sci. 2009;*403. doi: 10.1088/1755-1315/403/1/012112

17. Гирин С.В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах. *Лаб. диагност*. 1999;(4):45–46.

Girin S.V. Modification of the method for determining catalase activity in biological substrates. *Laboratornaya diagnostika = Laboratory Diagnostics*. 1999;(4):45–46. [In Russian].

18. Pinto R.E., Bartley W. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutation peroxidase activities and aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochem. J.* 1969;112(1):109–115. doi: 10.1042/bj1120109

19. Shaik I.H., Mehvar R. Rapid determination of reduced and oxidized glutathione levels using a new thiol-masking reagent and the enzymatic recycling method: Application to the rat liver and bile samples. *Anal. Bioanal. Chem*. 2006;385:105–113. doi: 10.1007/s00216-006-0375-8

20. Pollard A.K., Craig E.L., Chakrabarti L. Mitochondrial complex I activity measured by spectrophotometry is reduced across all brain regions in ageing and more specifically in neurodegeneration. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157405. doi: 10.1371/journal.pone.0157405

21. Spinazzi M., Casarin A., Pertegato V., Salviati L., Angelini C. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nat. Protoc*. 2012;7(6):1235–1246. doi: 10.1038/nprot.2012.058

22. Методы биохимических исследований. Ред. М.И. Прохорова. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. 272 с.

Methods of biochemical research. Ed. M.I. Prokhorova. Leningrad, 1982. 272 p. [In Russian].

23. Oliveira de Araújo Melo C., Cidália Vieira T., Duarte Gigonzac M.A., Soares Fortes J., Moreira Duarte S.S., da Cruz A.D., Silva D.M.E. Evaluation of polymorphisms in repair and detoxification genes in alcohol drinkers and non-drinkers using capillary electrophoresis. *Electrophoresis*. 2020;41(3-4):254–258. doi: 10.1002/elps.201900193

24. Kamal H., Tan G.C., Ibrahim S.F., Shaikh M.F., Mohamed I.N., Mohamed R.M.P., Hamid A.A., Ugusman A., Kumar J. Alcohol use disorder, neurodegeneration, Alzheimer's and Parkinson's disease: Interplay between oxidative stress, neuroimmune response and excitotoxicity. *Front. Cell. Neurosci*. 2020;14:282. doi: 10.3389/fncel.2020.00282

25. Yan T., Zhao Y. Acetaldehyde induces phosphorylation of dynamin-related protein 1 and mitochondrial dysfunction via elevating intracellular ROS and Ca^{2+} levels. *Redox. Biol*. 2020;28:101381. doi: 10.1016/j.redox.2019.101381

26. Olennikov D.N., Chirikova N.K., Tankhaeva L.M. Chemical study of *Lophanthus chinensis. Chem. Nat. Comp*. 2010;46(2):301–302. doi: 10.1007/s10600-010-9596-3

27. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Rokhin A.V. Lamiaceae carbohydrates. VI. Water-soluble polysaccharides from *Lophanthus chinensis*. *Chem. Nat. Comp*. 2008;45(3):300–303. doi: 10.1007/s10600-009-9358-2

28. Tian C., Liu X., Chang Y., Wang R., Lv T., Cui C., Liu M. Investigation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin. *South African Journal of Botany*. 2021;137(3):257–264. doi: 10.1016/j.sajb.2020.10.022

29. Kashyap P., Shikha D., Thakur M., Aneja A. Functionality of apigenin as a potent antioxidant with emphasis on bioavailability, metabolism, action mechanism and *in vitro* and *in vivo* studies: A review. *J. Food Biochem*. 2022;46(4):e13950. doi: 10.1111/jfbc.13950

30. Muruganathan N., Dhanapal A.R., Baskar V., Muthuramalingam P., Selvaraj D., Aara H., Shiek Abdullah M.Z., Sivanesan I. Recent updates on source, biosynthesis, and therapeutic potential of natural flavonoid luteolin: A review. *Metabolites*. 2022;12(11):1145. doi: 10.3390/metabo12111145

31. Antika L.D., Tasfiyati A.N., Hikmat H., Septama A.W. Scopoletin: a review of its source, biosynthesis, methods of extraction, and pharmacological activities. *Z. Naturforsch. C. J. Biosci.* 2022;77(7-8):303–316. doi: 10.1515/znc-2021-0193

32. Gao X.Y., Li X.Y., Zhang C.Y., Bai C.Y. Scopoletin: a review of its pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity. *Front. Pharmacol*. 2024;15:1268464. doi: 10.3389/fphar.2024.1268464

33. Noor S., Mohammad T., Rub M.A., Raza A., Azum N., Yadav D.K., Hassan M.I., Asiri A.M. Biomedical features and therapeutic potential of rosmarinic acid. *Arch. Pharm. Res.* 2022;45(4):205–228. doi: 10.1007/s12272-022-01378-2

34. Pavlíková N. Caffeic acid and diseases-mechanisms of action. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;24(1):588. doi: 10.3390/ijms24010588

35. Hasanein P., Seifi R., Hajinezhad M.R., Emamjomeh A. Rosmarinic acid protects against chronic ethanol-induced learning and memory deficits in rats. *Nutr. Neurosci*. 2017;20(9):547–554. doi: 10.1080/1028415X.2016.1203125

36. Abdul-Muneer P.M., Alikunju S., Mishra V., Schuetz H., Szlachetka A.M., Burnham E.L., Haorah J. Activation of NLRP3 inflammasome by cholesterol crystals in alcohol consumption induces atherosclerotic lesions. *Brain. Behav. Immun*. 2017;62:291–305. doi: 10.1016/j.bbi.2017.02.014

Сведения об авторах:

Торопова Анюта Алексеевна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-2618-7777, e-mail: anyuta-tor@mail.ru
Разуваева Янина Геннадьевна, д.б.н., ORCID: 0000-0001-7829-1424, e-mail: tatur75@mail.ru
Халтагарова Екатерина Дмитриевна, e-mail: haltik@yandex.ru
Оленников Даниил Николаевич, д.фарм.н., ORCID: 0000-0001-8194-1061, e-mail: olennikovdn@mail.ru

Information about the authors:

Anyuta A. Toropova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-2618-7777, e-mail: anyuta-tor@mail.ru
Yanina G. Razuvaeva, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0001-7829-1424, e-mail: tatur75@mail.ru
Ekaterina D. Khaltagarova, e-mail: haltik@yandex.ru
Daniil N. Olennikov, doctor of pharmaceutical sciences, ORCID: 0000-0001-8194-1061, e-mail: olennikovdn@mail.ru

Поступила в редакцию 21.05.2024
После доработки 10.06.2024
После повторной доработки 02.08.2024
Принята к публикации 02.08.2024

Received 21.05.2024
Revision received 10.06.2024
Second revision received 02.08.2024
Accepted 02.08.2024

УДК 612.015:617.51-001:577.112.6]:599.323.4 DOI: 10.18699/SSMJ20240618
Оригинальное исследование / Research article

Уровень апоптоза в клетках неокортекса и гиппокампа белых крыс после легкой черепно-мозговой травмы при введении глипролина

М.Ю. Флейшман, А.А. Сальников, А.А. Колесникова, Ю.Б. Малофей

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

Резюме

Глипролины обладают широким спектром фармакологических эффектов, в том числе антиоксидантной активностью. Это может быть использовано при коррекции функциональных и морфологических нарушений головного мозга после черепно-мозговой травмы (ЧМТ) за счет ингибирования вторичных повреждений, профилактика которых является главным способом улучшения исходов ЧМТ. Цель исследования – изучить уровень апоптоза в клетках собственно теменной доли (СТД) и поля CA1 гиппокампа половозрелых самцов крыс Вистар после легкой ЧМТ и курсового введения глипролина RPGP (Arg-Pro-Gly-Pro). **Материал и методы.** В эксперименте использовали ткани мозга крыс (n = 38). Легкую ЧМТ моделировали путем свободного падения груза. После травмы животные получали внутрибрюшинно пептид RPGP в дозе 0,1 мг/кг, растворенный в 0,9%-м растворе NaCl, или 0,9%-й раствор NaCl. Уровень апоптоза в тканях мозга оценивали по экспрессии антигена p53 методом иммуногистохимии. **Результаты.** На 22-й день после ЧМТ повышается количество клеток глии, вступивших в апоптоз во II слое СТД головного мозга крыс Вистар. У животных, подвергнутых моделированной ЧМТ и 21 день получавших внутрибрюшинно RPGP дозе 0,1 мг/кг, уровень апоптоза не повышался. **Заключение.** Установлено, что после курсового введения RPGP на фоне ЧМТ уровень апоптоза в клетках нейроглии снижается.

Ключевые слова: глипролины, регуляторные пептиды, апоптоз, неокортекс, черепно-мозговая травма.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № 124022900081-9.

Благодарность. Авторы выражают благодарность руководителю лаборатории молекулярной фармакологии пептидов ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт» академику РАН Н.Ф. Мясоедову.

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

Для цитирования: Флейшман М.Ю., Сальников А.А., Колесникова А.А., Малофей Ю.Б. Уровень апоптоза в клетках неокортекса и гиппокампа белых крыс после легкой черепно-мозговой травмы при введении глипролина. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):179–185. doi: 10.18699/SSMJ20240618

The level of apoptosis in the cells of the neocortex and hippocampus of white rats after mild traumatic brain injury with the introduction of glyproline

M.Yu. Fleishman, A.A. Salnikov, A.A. Kolesnikova, Yu.B. Malofey

Far Eastern State Medical University of Minzdrav of Russia
680000, Khabarovsk, Murav'yeva-Amurskogo st., 35

Abstract

Glyprolines have a wide range of pharmacological effects, including antioxidant effects. This can be used to correct functional and morphological disorders of the brain after traumatic brain injury (TBI) by inhibiting secondary damage, the prevention of which is the main way to improve TBI outcomes. The aim of the study was to investigate the level of apoptosis in the cells of the proper parietal lobe (PPL) and the CA1 field of the hippocampus of mature male Wistar rats after mild TBI and a course of glyproline RPGP (Arg-Pro-Gly-Pro). **Material and methods.** Rat brain tissues (n = 38) were used in the experiment. Mild TBI was modeled by free fall of a load. After the injury, the animals received

intraperitoneal RPGP peptide at a dose of 0.1 mg/kg, dissolved in 0.9% NaCl solution or NaCl solution. The level of apoptosis in brain tissues was assessed by the expression of p53 antigen using immunohistochemistry. **Results.** On the 22st day after TBI, the number of glial cells that entered into apoptosis in layer II of the proper parietal lobe (PPL) of the Wistar rat brain increases. In animals subjected to simulated TBI and receiving RPGP intraperitoneally at a dose of 0.1 mg/kg for 21 days, the level of apoptosis did not increase. **Conclusion.** It was found that after a course of RPGP administration against the background of TBI, the level of apoptosis in neuroglial cells decreases.

Key words: glyprolines, regulatory peptides, apoptosis, neocortex, traumatic brain injury.

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

Financing. The work was carried out within the framework of state assignment No. 124022900081-9.

Acknowledgment. The authors express their gratitude to the head of the laboratory of molecular pharmacology of peptides of the Federal State Budgetary Institution National Research Center “Kurchatov Institute”, academician of the Russian Academy of Sciences N.F. Myasoedov.

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

Citation: Fleishman M.Yu., Salnikov A.A., Kolesnikova A.A., Malofey Yu.B. The level of apoptosis in the cells of the neocortex and hippocampus of white rats after mild traumatic brain injury with the introduction of glyproline. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):179–185. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240618

Введение

Внимание ряда исследователей сосредоточено на пептидных препаратах, что обусловлено широким спектром их фармакологических эффектов [1]. Стабилизатором искусственных регуляторных пептидов (РП) в тканях и жидких средах организма служит трипептид Pro-Gly-Pro (PGP). РП нестабильны в тканях и жидких средах организма ввиду множества экзо- и эндопептидаз, которые значительно снижают их биодоступность. Одним из способов решения проблемы нестабильности РП стало их обогащение остатками пролина. Это объясняется тем, что широко распространенные низкоспецифичные пептидазы не расщепляют связи любой аминокислоты, связанной с пролином, в то время как специфичных к пролину пептидаз мало, и сосредоточены они в отдельных тканях. В конце XX в. к фрагменту адренокортикотропного гормона MEHF (Met-Glu-His-Phe) присоединили последовательность PGP (Pro-Gly-Pro), что значительно повысило его биодоступность и решило проблему реализации терапевтического потенциала. В результате был создан препарат MEHFPGP (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro, «Семакс») [2].

РП циркулируют в организме, некоторые проникают через гематоэнцефалический барьер. Имея мало побочных эффектов, они эффективны в низких концентрациях (10^{-9} М и менее). Возможность комбинирования аминокислот расширяет перспективы дизайна новых активных молекул [2]. В настоящее время доказана нейрометаболическая, ангиопротективная, нейротрофическая, антигипоксическая, стрессопротекторная, гипогликемическая, гиполипидемическая, иммунотропная активность РП. В ходе экспериментальных исследований на крысах, находящихся в состоянии стресса, подтверждено наличие антиоксидантных свойств у пролинсодержащих соединений [3]. Показано, что глипролины подавляют генерацию активных форм кислорода и восстанавливают показатели ферментного звена антиоксидантной защиты миокарда белых крыс в условиях экспериментального гипертиреоза [4]. Продолжается изучение влияния РП на регенеративные свойства и гомеостаз тканей организма. Актуальной остается тема защиты нервной ткани, особо чувствительной к свободнорадикальному окислению из-за высокого содержания липидов. Мозговая ткань имеет низкий регенеративный потенциал, высокую интенсивность метаболизма, крайне чувствительна к гипоксии и ишемии. Коррекция нарушений работы мозга является одним из важных направлений в фармакологии. Профилактические мероприятия, направленные на снижение интенсивности вторичных повреждений, улучшают исход ЧМТ. А такие вторичные механизмы, как нарушение антиоксидантной защиты и увеличение интенсивности свободнорадикального окисления, выступают одними из ведущих в гибели клеток после черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

Наличие нейромодулирующей активности у соединения TKPRPGP (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, «Селанк») позволило предположить подобные свойства у его аналога. Согласно данным литературы, RPGP обладает антитромботическим, антиагрегационным, противовирусным и иммуномодулирующим действием [5]. Одним из путей проникновения РП в клетку и реализации их

эффектов может быть процесс нерецепторной интернализации. Этим свойством обладают короткие пептиды, имеющие в своем составе не более 30 аминокислот (cell-penetrating peptides, CPPs). Благодаря структурным особенностям пептиды интегрируются в состав плазмалеммы («заякориваются»), затем пенетрируют ее и проходят в цитоплазму. Для этого нужны высокое содержание основных аминокислот с приданием пептиду положительного заряда и вторичная структура в виде альфа-спирали (для большинства пептидов этой группы). Также для таких пептидов характерна амфифильность – содержание в составе полярных (заряженных) и неполярных (гидрофобных) аминокислот (аланин, глицин, пролин и др.). Основная и положительно заряженная аминокислота аргинин обеспечивает «заякоривание» пептида с отрицательно заряженными компонентами плазматической мембраны (например, протеогликанами), а PGP как гидрофобный компонент способен интегрироваться в мембрану, взаимодействуя с гидрофобными хвостами. Присутствие остатка аргинина в последовательности RPGP приводит к стабилизации структуры нуклеиновой кислоты путем образования двух связей с атомами кислорода соседних фосфодиэфирных групп [6, 7]. Наличие аргинина в составе CPPs облегчает их интернализацию [8]. Исследуемый нами RPGP относится к олигопептидам, имеющим в своем составе глицин и пролин. Согласно исследованиям [9], такие соединения корректируют постстрессорные нарушения у животных, возможно, из-за присутствия глицина, который участвует в синтезе глутатиона, способствующего защите клеток при окислительном стрессе.

Цель исследования – изучить уровень апоптоза в клетках собственно теменной доли (СТД) неокортекса и поля CA1 гиппокампа половозрелых самцов Вистар после легкой ЧМТ и введения глипролина RPGP.

Материал и методы

Исследовали головной мозг 38 половозрелых самцов Вистар в возрасте 2,5–3,5 месяца. Животные приучались к рукам экспериментаторов, содержались при температуре 17–22 °C со свободным доступом к пище и воде. Выполненный эксперимент соответствует Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых для научных целей, и Федеральному закону «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» № 498-ФЗ от 27.12.2018. Протокол исследования утвержден на заседании этического комитета при ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 2 от 05.02.2019).

В первый день животным трех групп наносили легкую ЧМТ путем свободного падения груза [10]. Было сформировано четыре группы: «Интактные» (n = 8) – интактные животные; «ЧМТ» (n = 10) – крысы, подвергнутые моделированной ЧМТ легкой степени тяжести; «ЧМТ + NaCl» (n = 10) – крысы, после травмы получавшие в течение 21 дня внутрибрюшинно 0,9%-й раствора NaCl; «ЧМТ + RPGP» (n = 10) – животные, подвергнутые ЧМТ и 21 день получавшие внутрибрюшинно RPGP, растворенный в 0,9%-м растворе NaCl, в дозе 0,1 мг/кг. Животных выводили из эксперимента на 22-е сутки путем быстрой декапитации под ингаляционным наркозом парами хлороформа. Правое полушарие мозга фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде, подвергали стандартной гистологической обработке, после чего изготавливали парафиновые срезы толщиной 3 мкм.

Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание проводили с использованием набора Novolink TM Polymer Detection System (Leica Biosystems, США) в соответствии с протоколом производителя. После депарафинизации и тепловой демаскировки с цитратным буфером pH 6 в гистопроцессоре HISTOS 5 (Milestone, Италия) в течение 5 мин эндогенную пероксидазу блокировали раствором Peroxidase Block. После последующей промывки в трис-буфере с Твин-20 (TBS) наносили на срезы Protein Block и инкубировали в течение 5 минут. Повторно промывали в растворе TBS 2 раза по 5 мин, наносили на срезы первичные моноклональные антитела к p53 (клон DO-7, Leica Biosystems) и инкубировали в течение 30 мин. Далее еще дважды промывали в TBS, наносили на срезы раствор вторичных антител Post Primary, инкубировали в течение 30 мин и еще 2 раза промывали в TBS по 5 минут. Потом наносили на срезы Novolink TM Polymer и инкубировали в течение 30 мин, промывали в TBS 2 раза по 5 минут. Далее на срезы капали по 100 мкл рабочего раствора 3,3’-диаминобензидина на 5 мин (хромоген перед использованием был разведен в соотношении 1/20 в буфере Novolink™ DAB Substrate Buffer). Все реактивы, использованные при ИГХ-окраске, кроме первичных антител, были из набора Novolink™ Polymer Detection System (Leica Biosystems, США). Докрашивали гематоксилином для определения локализации ядер клеток. В результате ИГХ-реакции иммунопозитивные ядра в области экспрессии маркеров апоптоза белка p53 приобретают светло-корич-

невый цвет, иммунонегативные ядра окрашены в оттенки синего цвета.

На световом микроскопе «Микмед-6» АО «ЛОМО», Россия (×1000) просматривали не менее 500 клеток в каждой локализации. Подсчитывали меченые ядра и определяли их долю среди немеченых. Морфометрию осуществляли в трех локализациях: II и V слои СТД коры больших полушарий, поле CA1 гиппокампа. Выбор локаций для оценки возможного проапоптотического влияния ЧМТ и коррекционных эффектов глипролина обусловлен тем, что RPGP тестируются как потенциальный ноотроп. Слой V СТД состоит из пирамидных клеток, аксоны которых составляют пирамидную систему, II слой СТД относится к ассоциативным путям коры, поле CA1 гиппокампа представляет собой отдел старой коры; взаимодействие этих областей мозга обеспечивает основные функции мозга.

Данные подвергали статистической обработке с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.0. Поскольку, согласно критерию Шапиро – Уилка, распределение вариант отличалось от нормального, рассчитывали медиану и межквартильный интервал (Me [Q1; Q3]) [11]. Значимость различий между группами оценивали по U-критерию Манна – Уитни и считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что на 22-й день после ЧМТ (группа «ЧМТ») существенно изменяется уровень апоптоза в клетках нейроглии СТД головного мозга крыс Вистар (таблица): наблюдали увеличение количества меток на белок p53 в клетках II и V слоя по сравнению с группой «ЧМТ + NaCl» и сонаправленные изменения по сравнению с группой «Интактные», но только во II слое СТД. Между группами «ЧМТ + NaCl» и «Интактные» различий по уровню апоптоза не было. В группе «ЧМТ + RPGP» наблюдали снижение количества меток на белок p53 в клетках нейроглии II слоя СТД по сравнению с группой «ЧМТ», но не группой «Интактные». Во всех экспериментальных группах не выявлено статистически значимых изменений количества маркеров на антиген p53 в клетках нейроглии поля CA1 гиппокампа (см. таблицу).

Используя ИГХ-окрашивание, мы не зафиксировали изменений в уровне апоптоза в популяции нейронов головного мозга в исследованных локализациях во всех экспериментальных группах (см. таблицу). Это может быть связано с нормализацией осмотического давления, церебрального кровотока с восстановлением центрального венозного и артериального давления, увеличением количества пирувата и АТФ в ткани мозга, как при введении изотонического раствора NaCl после инсульта [12]. Назначение аргининсодержащих пептидов при ЧМТ в дозе 0,1 мг/кг положительно влияет на СТД головного мозга белых крыс Вистар. Количество глиоцитов, экспрессирующих p53 при введении RPGP после ЧМТ, не отличается от показателей в группе «Интактные». Это предполагает антиапоптотическую активность RPGP, которую можно считать комплексной (антиоксидантное воздействие, снижение уровня каспаз и провоспалительных цитокинов, повышение содержания нейротрофических факторов) [5]. В нашем исследовании у пептида RPGP в дозе 0,1 мг/кг показаны антиапоптотические свойства после ЧМТ в отношении II слоя СТД неокортекса крыс Вистар. Полученные данные согласуются с предположениями [13], что аргининсодержащие

Экспрессия антигена p53 в двух локализациях СТД неокортекса и в нервной ткани поля CA1 гиппокампа самцов крыс Вистар, %

Expression of p53 antigen in two localizations of the proper parietal lobe of the neocortex and in the nervous tissue of the CA1 field of the hippocampus of male Wistar rats, %

Объект морфометрии	Интактные	ЧМТ	ЧМТ + NaCl	ЧМТ + RPGP
II слой СТД				
Нейроны	0	0	0	0
Глиоциты	5,41 [1,31; 11,53]*	12,80 [7,37; 16,93]	5,44 [2,90; 10,39]*	5,43 [3,45; 8,89]*
V слой СТД				
Нейроны	0	0	0	0
Глиоциты	6,39 [0,00;12,54]	9,11 [2,45;19,40]	3,27 [0,00; 5,08]*	4,77 [0,00; 8,33]
Поле CA1 гиппокампа				
Нейроны	0	0	0	0
Глиоциты	2,38 [0,00; 7,94]	0,00 [0,00; 8,19]	0,00 [0,00; 4,00]	1,43 [0,00; 5,56]

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя группы «ЧМТ» статистически значимо при $p < 0,05$.

пептиды имеют дозозависимый эффект. Это может быть связано с системой оксида азота: при физиологических концентрациях (0,1 мг/кг) оксид азота выступает в роли антиоксиданта, а уже при 1 мг/кг – как прооксидант [14, 15].

В отдаленных последствиях ЧМТ на 22-й день мы наблюдали в основном поражение клеток глии II слоя СТД головного мозга, что, возможно, является следствием его непосредственной близости с местом приложения повреждающего агента, малой силы и придаваемого им ускорения мозга (которые сильно не повреждают V слой коры больших полушарий и слои гиппокампа). В дополнение это может свидетельствовать о роли в отдаленных последствиях ЧМТ гематоэнцефалического барьера с увеличением его проницаемости (разрыв плотных соединений и базальной мембраны) и о воздействии на астроциты белков плазмы (с инициацией нейровоспаления), приводящем к атипичному ответу, который характеризуется сниженной экспрессией гомеостатических белков (транспортер глутамата-1, калиевые каналы внутреннего выпрямления Kir4.1, кальций-связывающий белок β S100, глутаминсинтетаза, коннексин 43, компонент дистрофин-ассоциированного гликопротеинового комплекса β-дистрогликан, аквапорин-4), типичных для астроцитов, и отеком их концевых ножек. Показано, что многие клетки выживают после повреждения, однако могут наблюдаться длительные физиологические изменения или более поздняя гибель клеток отдельными волнами. Нарушение гематоэнцефалического барьера может сохраняться в течение многих лет и в значительной степени связано с долгосрочным неврологическим дефицитом у перенесших ЧМТ [16–18].

Через 21 день после моделированной ЧМТ мы не наблюдали апоптоз нейронов. Возможно, это обусловлено недостаточно сильным воздействием и/или уже свершившимся восстановлением популяции клеток к 22-му дню за счет активации нейропротективного фенотипа нейроглии (с выработкой противовоспалительных цитокинов и глутаматного транспортера для уменьшения эксайтотоксичности) [20].

Заключение

После 21-дневного внутрибрюшинного введения пептида RPGP в дозе 0,1 мг/кг на фоне ЧМТ уровень апоптоза в популяции нейроглии во II слое СТД головного мозга белых крыс ниже, чем у животных, не получавших пептид после травмы. Протективный эффект глипролина, возможно, объясняется его антиоксидантной активностью.

Список литературы

1. Хавинсон В.Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клин. мед.* 2020;98(3):65–177. doi: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177

2. Жуйкова С.Е. Физиологические и клинические эффекты синтетического аналога АКТГ4-10 семакса и его механизмы действия. *Интегратив. физиол.* 2022;3(2):204–220. doi: 10.33910/2687-1270-2022-3-2-204-220

3. Shi Y., Liu L., Yu Y., Long Y., Zheng H. Acidic amino acids: A new-type of enzyme mimics with application to biosensing and evaluating of antioxidant behavior. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc*. 2018;(201):367–375. doi: 10.1016/j.saa.2018.05.024

4. Цибизова А.А., Сергалиева М.У., Самотруева М.А. Оценка антиоксидантной активности глипролинов в условиях экспериментального гипертиреоза. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия.* 2023;9(2):219–228. doi: 10.29039/2413-1725-2023-9-2-219-228

5. Закирова Э.Г., Зайнуллина Л.Ф., Вахитова Ю.В. Нейропротекторные свойства пептида Arg-Pro-Gly-Pro. *Инновации в науке*. 2017;(7-1):4–7.

6. Кулинич Т.М., Иванов А.В., Захаренко М.В., Джикия Е.Л., Шишкин А.М., Боженко В.К. Интернализуемые пептиды (cell-penetrating peptides, CPPs) и возможности их терапевтического применения. *Вестн. Рос. науч. центра рентгенорадиол.* 2020;(4):106–126.

7. Сазонова Е.Н., Самарина Е.Ю., Ильиных А.В., Сазонов О.А. Использование метода кислотных эритрограмм для выявления мембранотропного эффекта биологически активных пептидов. *Дальневост. мед. ж*. 2020;(4):64–68. doi: 10.35177/1994-5191-2020-4-65-69

8. de Martini L.B., Sulmona C., Brambilla L., Rossi D. Cell-penetrating peptides as valuable tools for nose-to-brain delivery of biological drugs. *Cells*. 2023;12(12):1643. doi: 10.3390/cells12121643

9. Григорьева М.Е., Ляпина Л.А. Роль пептидов глипролинового ряда в регуляции системы гемостаза при стрессогенных воздействиях. *Успехи соврем. биол*. 2020;140(1):19–25. doi: 10.31857/S0042132420010020

10. Белошицкий В.В. Принципы моделирования черепно-мозговой травмы в эксперименте. *Укр. нейрохірург. ж.* 2008(4):9–15.

11. Барвина А.Р. Современные правила применения параметрических и непараметрических критериев в статистическом анализе медико-биологических данных. *Мед. альм.* 2021;(1):64–73.

12. Семененко А.И. Оценка терапевтического эффекта 0,9 % раствора NaCl по показателям церебральной гемодинамики при ишемии-репер-

фузии головного мозга крыс. *Ж. Гродненск. гос. мед. ун-та*. 2014;(3):49–52.

13. Флейшман М.Ю., Толстенок И.В., Иннокентьев А.А. Влияние пептида «Селанк» на уровень окислительного стресса в головном мозге и тонкой кишке белых крыс на модели черепно-мозговой травмы. *Сиб. науч. мед. ж*. 2019;39(2):46–51. doi: 10.15372/SSMJ20190205

14. Соловьева А.Г., Кузнецова В.Л., Перетягин С.П., Диденко Н.В., Дударь А.И. Роль оксида азота в процессах свободнорадикального окисления. *Вестн. Рос. воен.-мед. акад*. 2016;(1):228–233.

15. Suschek C.V., Schnorrn O., Hemmrich K., Aust O., Klotz L.O., Sies H., Kolb-Bachofen V. Critical role of L-arginine in endothelial cell survival during oxidative stress. *Circulation*. 2003;107(20):2607–2614. doi: 10.1161/01.CIR.0000066909.13953.F1

16. Grovola M.R., Jinich A., Paleologos N., Arroyo E.J., Browne K.D., Swanson R.L., Duda J.E., Cullen D.K. Persistence of hyper-ramified microglia in porcine cortical gray matter after mild traumatic brain injury. *Biomedicines*. 2023;11(7):1960. doi: 10.3390/biomedicines11071960

17. George K.K., Heithoff B.P., Shandra O., Robel S. Mild traumatic brain injury/concussion initiates an atypical astrocyte response caused by blood-brain barrier dysfunction. *J. Neurotrauma*. 2022;39(1-2):211–226. doi: 10.1089/neu.2021.0204

18. Zhao Q., Zhang J., Li H., Li H, Xie F. Models of traumatic brain injury-highlights and drawbacks. *Front. Neurol*. 2023;(14):1151660. doi: 10.3389/fneur.2023.1151660

References

1. Khavinson V.Kh. Peptide medicines: past, present, future. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*. 2020;98(3):165–177. [In Russian]. doi: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177

2. Zhuikova S.E. Physiological effects of Semax, a synthetic analogue of ACTH4–10: Experience and prospects for applications. *Integrativnaya fiziologiya = Integrative Physiology*. 2022;3(2):204–220. [In Russian]. doi: 10.33910/2687-1270-2022-3-2-204-220

3. Shi Y., Liu L., Yu Y., Long Y., Zheng H. Acidic amino acids: A new-type of enzyme mimics with application to biosensing and evaluating of antioxidant behavior. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc*. 2018;(201):367–375. doi: 10.1016/j.saa.2018.05.024

4. Tsibizova A.A., Sergalieva M.U., Samotrueva M.A. Assessment of the antioxidant activity of glyprolins in experimental hyperthyroidism. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni Vladimira Ivanovicha Vernadskogo. Biologiya. Khimiya = Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*. 2023;9(2):219–228. [In Russian]. doi: 10.29039/2413-1725-2023-9-2-219-228

5. Zakirova E.G., Zainullina L.F., Vakhitova Yu.V. Neuroprotective properties of the peptide Arg-Pro-Gly-Pro. *Innovatsii v nauke. = Innovation in Science*. 2017;7(1):4–7. [In Russian].

6. Kulinich T.M., Ivanov A.V., Zakharenko M.V., Dzhikiya E.L., Shishkin A.M., Bozhenko V.K. Cell-penetrating peptides (CPPs) and their therapeutic application. *Vestnik Rossiyskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii = Bulletin of the Russian Scientific Center of Roentgenology*. 2020;(4):106–126. [In Russian].

7. Sazonova E.N., Samarina E.Yu., Ilinykh A.V., Sazonov O.A. Implementation of the method of acidic erythrograms to reveal the membranotropic effect of biologically active peptides. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal = Far East Medical Journal*. 2020;(4):64–68. [In Russian]. doi: 10.35177/1994-5191-2020-4-65-69

8. de Martini L.B., Sulmona C., Brambilla L., Rossi D. Cell-penetrating peptides as valuable tools for nose-to-brain delivery of biological drugs. *Cells*. 2023;12(12):1643. doi: 10.3390/cells12121643

9. Grigoryeva M.E., Lyapina L.A. Role of glyproline peptides in the regulationof haemostasis system under stress conditions. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews*. 2020;140(1):19–25. [In Russian]. doi: 10.31857/S0042132420010020

10. Biloshitskiy V.V. The principles of experimental traumatic brain injury modelling. *Ukrayins'kiy neyrokhirurhichniy zhurnal = Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2008(4):9–15. [In Russian].

11. Barvina A.R. Modern rules for the use of parametric and nonparametric tools in the statistical analysis of biomedical data. *Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac*. 2021;(1):64–73. [In Russian].

12. Semenenko A.I. Assessment of the therapeutic effect of 0.9% NaCl on indicators of cerebral hemodynamics in ischemia-reperfusion of rat brain. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*. 2014;(3):49–52. [In Russian].

13. Fleishman M.Yu., Tolstenok I.V., Innokentyev A.A. Effects of peptide Selank on oxidative stress in the brain and thin intestine of white rats on experimental model of traumatic brain injury. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(2):46–51. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190205

14. Solovieva A.G., Kuznetsova V.L., Peretyagin S.P., Didenko N.V., Dudar A.I. Role of nitric oxide in processes of free radical oxidation. *Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2016;(1):228–233. [In Russian].

15. Suschek C.V., Schnorrn O., Hemmrich K., Aust O., Klotz L.O., Sies H., Kolb-Bachofen V. Critical role of L-arginine in endothelial cell survival during ox-

idative stress. *Circulation*. 2003;107(20):2607–2614. doi: 10.1161/01.CIR.0000066909.13953.F1

16. Grovola M.R., Jinich A., Paleologos N., Arroyo E.J., Browne K.D., Swanson R.L., Duda J.E., Cullen D.K. Persistence of hyper-ramified microglia in porcine cortical gray matter after mild traumatic brain injury. *Biomedicines*. 2023;11(7):1960. doi: 10.3390/biomedicines11071960

17. George K.K., Heithoff B.P., Shandra O., Robel S. Mild traumatic brain injury/concussion initiates an atypical astrocyte response caused by blood-brain barrier dysfunction. *J. Neurotrauma*. 2022;39(1-2):211–226. doi: 10.1089/neu.2021.0204

18. Zhao Q., Zhang J., Li H., Li H, Xie F. Models of traumatic brain injury-highlights and drawbacks. *Front. Neurol*. 2023;(14):1151660. doi: 10.3389/fneur.2023.1151660

Сведения об авторах:

Флейшман Марина Юрьевна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9337-2801, e-mail: marfl@yandex.ru
Сальников Антон Александрович, e-mail: anton231100@mail.ru
Колесникова Анна Александровна, ORCID: 0000-0002-0773-9293, e-mail: anna-kostina-88@mail.ru
Малофей Юлия Борисовна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-5698-3665, e-mail: malofey2009@mail.ru

Information about the authors:

Marina Yu. Fleishman, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9337-2801, e-mail: marfl@yandex.ru
Anton A. Salnikov, e-mail: anton231100@mail.ru
Anna A. Kolesnikova, ORCID: 0000-0002-0773-9293, e-mail: anna-kostina-88@mail.ru
Yliya B. Malofey, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-5698-3665, e-mail: malofey2009@mail.ru

Поступила в редакцию 26.07.2024
После доработки 31.08.2024
Принята к публикации 07.11.2024

Received 26.07.2024
Revision received 31.08.2024
Accepted 07.11.2024

УДК 616.833.15-009.7 DOI: 10.18699/SSMJ20240619
Оригинальное исследование / Research article

Short and long term follow-up of microvascular decompression for the management of trigeminal neuralgia caused by venous compression

A.F. Alzeeralhouseini[1], G.I. Moisak[1, 2, 3], E.A. Tkachenko[2], J.A. Rzaev[1, 2, 3]

[1] *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia*
630091, Novosibirsk, Krasny ave., 52
[2] *Novosibirsk State University*
630090, Novosibirsk, Pirogova st., 1
[3] *Federal Center of Neurosurgery of Minzdrav of Russia*
630087, Novosibirsk, Nemirovicha-Danchenko st., 132/1

Abstract

Introduction. Classical trigeminal neuralgia is caused by the compression of the trigeminal nerve root and often requires surgical intervention due to the maladaptive intense pain syndrome. Both arteries and veins are considered compressing vessels, however, the role of venous compression in the development of neuralgia remains undefined. The aim of the study was to investigate the effectiveness of microvascular decompression in the treatment of trigeminal neuralgia caused by venous compression, considering the use of various surgical tactics**. Material and methods.** A retrospective analysis of surgical outcomes in 70 patients who underwent microvascular decompression for trigeminal neuralgia at the Federal Neurosurgical Center (Novosibirsk, Russia) between 2017 and 2021 was conducted. The study included 46 women and 24 men aged 23–82 years with unilateral facial pain. Brain MRI was performed preoperatively to evaluate neuroimaging picture and to clarify the relationships between the trigeminal nerve root and adjacent vessels. The surgical results were assessed during follow-up using the Barrow Neurological Institution (BNI) scale. **Results.** The study showed that venous neurovascular compression is frequently found in trigeminal neuralgia patients undergoing microvascular decompression in 26.9 % of cases. Various operative strategies were used when venous compression was detected, with high short-term success rates and lower recurrence rates. Long-term monitoring indicated pain relief in 71.4 % of cases (BNI I–II) and pain recurrence in 28.6 % of cases (BNI III, IV, V). **Conclusion.** This study highlights the effectiveness of microvascular decompression in treating classical trigeminal nerve neuralgia caused by venous compression and emphasizes the importance of individual surgical tactics based on the characteristics of the adjacent veins to achieve optimal results.

Key words: trigeminal neuralgia, microvascular decompression, venous compression, neurovascular conflict.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author: Alzeeralhouseini A.F., e-mail: abedallahalhussini@gmail.com
Citation: Alzeeralhouseini A.F., Moisak G.I., Tkachenko E.A., Rzaev J.A. Short and long term follow-up of microvascular decompression for the management of trigeminal neuralgia caused by venous compression. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):186–196. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240619

Ближайшие и отдаленные результаты микроваскулярной декомпрессии у пациентов с тригеминальной невралгией, обусловленной венозной компрессией

А.Ф. Алзиралхусейни[1], Г.И. Мойсак[1, 2, 3], Е.А. Ткаченко[2], Д.А. Рзаев[1, 2, 3]

[1] *Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России*
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52
[2] *Новосибирский государственный университет*
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1
[3] *Федеральный центр нейрохирургии Минздрава России*
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 132/1

Резюме

Классическая тригеминальная невралгия вызвана компрессией корешка тройничного нерва и часто требует хирургического вмешательства в связи с дизадаптирующим интенсивным болевым синдромом. В качестве компримирующих сосудов рассматриваются как артерии, так и вены, однако роль венозной компрессии в развитии невралгии до сих пор не определена. Цель исследования – изучить эффективность микроваскулярной декомпрессии в лечении тригеминальной невралгии, вызванной венозной компрессией, с учетом применения различной хирургической тактики. **Материал и методы.** Проведен ретроспективный анализ результатов операций у 70 пациентов, перенесших микроваскулярную декомпрессию по поводу тригеминальной невралгии в Федеральном нейрохирургическом центре (Новосибирск, Россия) в период с 2017 по 2021 г. В исследование включены 46 женщин и 24 мужчины в возрасте 23–82 лет с односторонней лицевой болью. МРТ головного мозга применяли до вмешательства для оценки нейровизуализационной картины и уточнения варианта взаимоотношений корешка тройничного нерва и прилежащих сосудов. Результаты операции оценивали в катамнезе по шкале Barrow Neurological Institution (BNI). **Результаты.** Исследование показало, что венозная компрессия довольно часто встречается у пациентов с тригеминальной невралгией – в 26,9 % случаев. При обнаружении венозной компрессии использовались различные оперативные стратегии в зависимости от взаимоотношения вены с корешком нерва. Длительный катамнез показал облегчение боли в 71,4 % случаев (BNI I–II). Рецидивы наблюдались в 28,6 % случаев (BNI III, IV, V). **Заключение.** Данное исследование подчеркивает эффективность микроваскулярной декомпрессии в лечении классической невралгии тройничного нерва, вызванной венозной компрессией, и демонстрирует важность индивидуальной хирургической тактики в зависимости от характеристик прилежащих к корешку вен для достижения оптимального результата.

Ключевые слова: невралгия тройничного нерва, микроваскулярная декомпрессия, венозная компрессия, нейроваскулярный конфликт.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Альзиралхусейни А.Ф., e-mail: abedallahalhussini@gmail.com

Для цитирования: Алзиралхусейни А.Ф., Мойсак Г.И., Ткаченко Е.А., Рзаев Д.А. Ближайшие и отдаленные результаты микроваскулярной декомпрессии у пациентов с тригеминальной невралгией, обусловленной венозной компрессией. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):186–196. doi: 10.18699/SSMJ20240619

Introduction

Trigeminal neuralgia (TN) is defined as pain in the distribution of at least one of the branch of fifth cranial nerve distributions. The pain is paroxysmal, with sudden onset and termination of pain episodes [1]. The episodes can be brief, lasting only a few seconds, or can last up to 2 minutes and are stabbing, sharp, shooting, and electric shock in quality [2]. The pain episodes can be induced by mechanical stimuli such as a light touch or a breeze or by movements such as smiling or applying makeup [1–3]. The symptoms may be accompanied by weight loss, poor quality of life, or depression [4]. Vascular compression of the trigeminal nerve root by an arterial loop of superior cerebellar and/or anterior-inferior cerebellar arteries at the trigeminal root entry zone (TREZ) is the main cause of classical TN. But a neurovascular conflict (NVC) between the trigeminal nerve and a vein can be an acceptable cause of classical TN too [5, 6]. The routine magnetic resonance imaging (MRI) and its different sequences use to reveal potential vascular compressive lesions by clearly indicating the contact position, degree, and origin of blood vessels (arteries and veins) between the nerve and blood vessel [7–11]. Microvascular decompression (MVD) may have excellent immediate and long-term pain relief outcomes and is, by some, considered the “gold standard” surgery for managing classical TN [1, 12, 13]. MVD has been widely accepted as an effective surgical choice for classical trigeminal neuralgia (CTN) patients who fail to respond or become intolerant to medical treatment. If a vein is discovered during surgery as a factor of nerve compression it is difficult to dissect offending veins from the nerve, and thus, the neurosurgeon faces the difficult choice of sacrificing the veins or decompressing them with preservation. There is no universal consensus on the management of veins. Some authors advocated the preservation of veins because sacrificing the veins may affect the brainstem or cerebellum and cause severe complications [14–16]. Others claimed to cut the veins because saving the veins may result in unsatisfactory decompression or recurrence [17, 18]. This article was devoted to examining the patient’s characteristics, clinical presentation, and surgical management options for CTN caused by neurovascular conflicts, particularly focusing on the challenges and controversies surrounding the management of veins in microvascular decompression procedure.

The aim of the study was to investigate the effectiveness of microvascular decompression in the treatment of TN caused by venous compression, considering the use of various surgical tactics.

Material and methods

Patient population

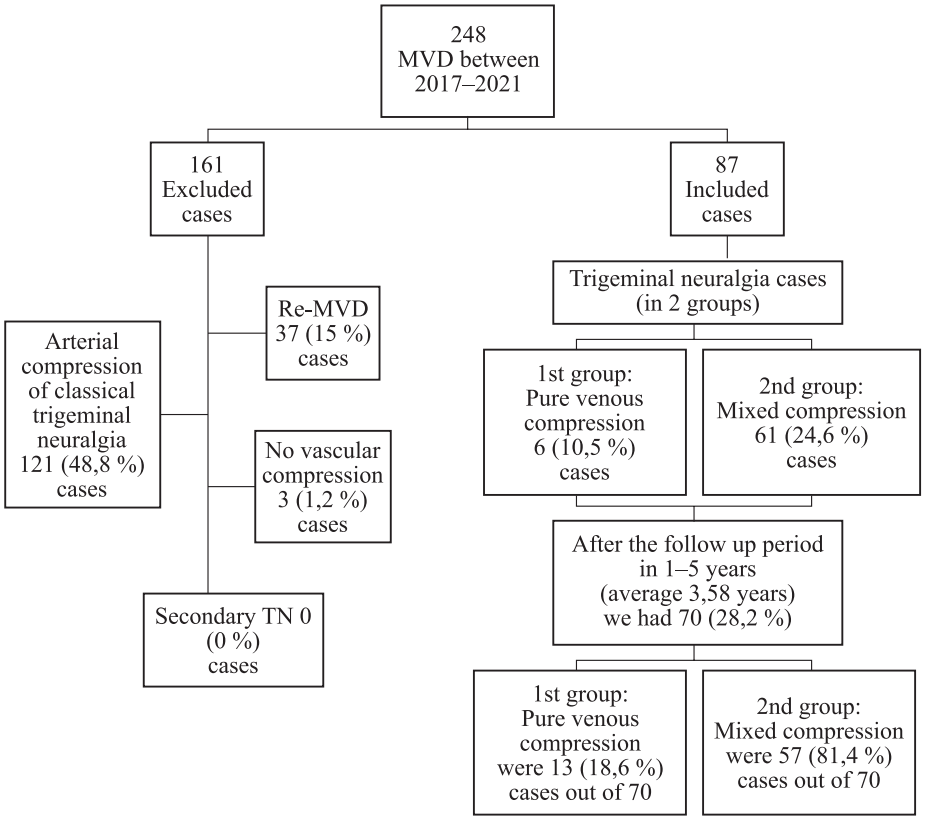
From January 2017 to December 2021, 248 cases underwent MVD for V cranial nerves neuralgias at the federal neurosurgical center, Novosibirsk, in Russia. For this retrospective study we included 70 (28.2 %) cases of CTN. The inclusion criteria were as follows: all ages; both genders; failed medical treatment to control the symptoms of TN; an MRI showed clear neurovascular compression; CTN caused by pure venous and mixed compression; first-time MVD; history of TN, paroxysmal and constant pain. Exclusion criteria: re-MVD; secondary TN, due to tumors, multiple sclerosis, or vascular malformation; CTN caused by pure arterial compression; no vascular compression near V nerve on the pain side

Group's formation

Between 2017 and 2021, 248 patients of V cranial nerve neuralgia underwent MVD surgery at Federal neurosurgical center. Some cases (121 with arterial compression, 3 without vascular compression, and 37 who underwent repeated MVD) were excluded based on the exclusion criteria. After the follow-up period ranging from 1 to 5 years (with an average of 3.6 years) 87 cases were selected for this study as they were diagnosed with CTN caused by venous and arteriovenous compression. During the follow-up period, 17 out of the 87 cases who diagnosed with venous and mixed compression did not respond to our follow-up attempts and were therefore excluded. These 70 cases were divided into two groups: 13 cases (18.6 %) with pure venous compression and 57 cases (81.4 %) with mixed compression (arteriovenous combination) (refer to figure).

Neuroimaging techniques

In this study, as a clinical routine for TN, pre-operative brain MRI sequences T1, T2 Axial, 3D TOF, FIESTA-C/CISS were done for all cases to identify the relationships between the trigeminal nerve and the offending vessels, utilized both 1.5 Tesla and 3 Tesla MRI machines, to enhance the detection of neurovascular conflicts and trigeminal nerve morphology, crucial for preoperative evaluation in TN treatment.



Group's formation

Формирование группы пациентов

Clinical assessment

The clinical diagnosis of TN was confirmed by a well-collected history of the disease, physical examination, and multiple MRI sequences. A detailed description of the TN was obtained to define its paroxysmal and constant pain history, which corresponds to the International Classification of Headache Disorders [19]. Patients were primarily evaluated at 1 week (short-term outcome) and at the last follow-up (long-term outcome) at least more than 1 year after surgery by using the Barrow Neurological Institute (BNI) pain intensity score [20]. Patients were classified as having a favorable outcome of BNI I and II, which represented successful treatment of TN symptoms following MVD surgery. An unfavorable outcome was represented by BNI III, IV, and V, representing the failure of the surgical treatment.

The surgical procedure involved performing a craniectomy with a burr hole over the asterion area, with a diameter ranging from 1–3 cm between patients. The dura mater was then opened, and cerebrospinal fluid was drained to facilitate cerebellum retraction. The superior petrosal vein (SPV) was visualized and dissected, with the sacrifice of these veins avoided as much as possible. Then the neurovascular conflict was searched for. The next step was to free the trigeminal nerve root from all arachnoid filaments and adhesions, entirely from the TREZ at the brainstem to the porus trigeminus of Meckel's cave. The conflicting arteries in the mixed group were separated from the trigeminal nerve root and maintained apart, using Teflon felt fibers to achieve optimal transposition and keep them away from the root. However, if the artery had an arteriole, if the cerebellopontine cistern was narrow, or if there was no space due to superior petrosal trunks, interposition with Teflon was used instead. In both groups (1st and 2nd), the offending vein(s) were managed by transposition, interposition, sacrifice (coagulation-cut off), or kept without manipulation. The trigeminal nerve root was reviewed in all cases to ensure that there was no more vascular compression. The final steps for the closure of the dura mater were sutures and fat grafting; next to that, cranioplasty was performed using the same drilled fragment of the asterion area.

The neurovascular conflict intraoperatively was classified based on macroscopically alterations over the nerve, with and without macroscopic nerve changes such as excavation, indentation, and nerve atrophy. Intraoperatively the situation of the NVC was classified according to the involved portion of the root, the trigeminal root entry zone (TREZ), the mid-cisternal portion, and the portion at the porus trigeminus of Meckel's cave where the root crosses over the petrous ridge [21].

Statistical analysis

The statistical analysis for this study was meticulously designed to assess the relationship between various factors and the outcomes of MVD surgery. The primary statistical tools and methods used in this analysis include the following. Continuous variables were examined in detail using the non-parametric test called the Mann – Whitney U Test to evaluate the median values of age, gender, side of the face affected, type of TN, duration of pain, location of the vein, situation of the vein, number of the veins, nerve macroscopic changes, and intraoperative management tactics across two independent groups. The pain relief (BNI I–II) and recurrence pain (BNI III, IV, V) for TN cases following MVD surgery were assessed using chi-square analysis in both pure and mixed compression groups. It was also utilized to investigate the viability of implementing venous compression manipulation techniques, particularly in the pure venous group.

Results

Demographic information

The demographic profile of the 70 patients analyzed in this study (tab. 1) predominantly comprises female subjects (46 cases), representing 65.7 % of the total cases, with an age distribution spanning from 23 to 82 years and an average age of 58.7 years. A significant proportion, 77.1 % (54 cases), reported a history of paroxysmal pain characteristic of TN, and the others, 22.9 % (16 cases), reported a history of continuous pain characteristics. While 67.1 % (47 patients) suffered from right-sided TN and 32.9 % (23 patients) from left-sided TN. The most frequently impacted portions of the trigeminal nerve were the V2-V3 divisions, accounting for 40 % (28 cases) of the cohort. The pain duration ranged from 1 to 44 years (average duration of 9.1 years). In accordance to the Mann-Whitney U test, these clinical characteristics as the age, gender, side of the face affected, affected branch, type of TN, duration of pain, across two independent groups were not significant factors in evaluating the outcomes of the MVD surgery. These elements exhibited $p > 0.05$, indicating their limited predictive value regarding surgical success.

Intra-operative anatomical findings

Anatomical-surgical features: In 70 pts (pure and mixed group), the conflicting veins were either of the superficial superior petrosal vein system in 51 (72.9 %) cases or of the deep superior petrosal vein system in 19 (27.1 %) cases. While the most common arterial conflict in 50 (87.8 %) patients out of 57 in the mixed group was caused by the superior cerebellar

Table 1. *Basic information about the patients*

Таблица 1. *Основная информация о пациентах*

Parameter	Total	1st group: pure venous compression	2nd group: mixed compression
Number of the cases	70 (28.2 %) cases	13 (18.6 %) cases	57 (81.4 %) cases
Age at MVD	23 to 82 years (mean age: 58.66 years)	23 to 82years (mean age: 59.30 years)	33 to 81years (mean age: 58.50 years)
Gender	F:M = 46:24	F:M = 10:3	F:M = 36:21
Affected side	R:L = 47:23	R:L = 11:2	R:L = 36:21
Type of TN	paroxysmal = 54 continuous = 16	paroxysmal = 9 continuous = 4	paroxysmal = 45 continuous = 12
Affected branch	V2 = 16 V3 = 13 V2–V3 = 28 V1–V2 = 8 V1–V3 = 5	V2 = 2 V3 = 2 V2–V3 = 7 V1–V2 = 1 V1–V3 = 1	V2 = 14 V3 = 11 V2–V3 = 21 V1–V2 = 7 V1–V3 = 4
Symptoms duration	1 year to 45 years (mean: 9.05 years)	2 years to 44years (mean:15.46 years)	1 year to 45 years (mean: 7.61 years)

Note. F – Female; M – Male; R – Right; L – Left; V1 – the first division of the trigeminal nerve; V2 – the second division of the trigeminal nerve; V3 – the third division of the trigeminal nerve.

artery. Anatomical features of the venous NVC: Situation of the venous conflict along the trigeminal nerve root: The offending veins were situated in 34 (48.8 %) cases on the TREZ, which is the most common affected portion (tab. 2). In accordance with the Mann – Whitney test, situation of the vein across two independent groups were not significant factor in evaluating the outcomes of the MVD surgery. These elements exhibited $p > 0.05$, indicating its limited predictive value regarding surgical success.

Location of the venous conflict around the trigeminal nerve root

According to the location of the venous NVC on the trigeminal nerve root surfaces, the most common affected location was the superior surface with 32 (33.7 %), followed by the posterior surface with 28 (29.5 %) (tab. 3). The location of the offending vein statistically was not significant factor to evaluate the outcomes of MVD and showed a $p > 0.05$.

Intraoperatively neurovascular conflict in according to the nerve macroscopic changes: The intraoperative management of neurovascular conflict is divided into two groups based on macroscopically nerve change. Firstly, those without macroscopically nerve changes, where the nerve remains intact (in 60 cases), according to the surgical tactics it was divided into 2 groups with and without manipulation of the offending vein. The tactics in the group of with manipulation (51 cases) were the transposition in 3

Table 2. *Situation of the venous NVC along the trigeminal nerve root*

Таблица 2. *Расположение венозных сосудов относительно участков корешка тройничного нерва*

NVC situation	Total number of NVC and cases of venous compression of both groups		1st group: pure venous compression		2nd group: mixed compression	
	Number of the cases	Number of the NVC	Number of the cases	Number of the NVC	Number of the cases	Number of the NVC
TREZ	34	46	10	17	24	29
Cisternal portion	2	3	1	2	1	1
Porus trigeminus portion	2	2	1	1	1	1
TREZ and cisternal	17	24	0	0	17	24
TREZ and porus trigeminus	10	15	1	3	9	12
TREZ and cisternal and porus trigeminus	5	5	0	0	5	5
Total NVC	70	95	13	23	57	72

Table 3. *Location of the NVC*

Таблица 3. *Расположение сосудов относительно корешка тройничного нерва*

Location of the NVC	Total number of venous NVC of both groups	1st group: pure venous compression in 13 cases	2nd group: mixed compression in 57 cases
Superior	32	13	19
Posterior	28	–	28
Anterior	6	1	5
Inferior	12	3	9
Lateral	3	3	–
Not available	14	3	11
Total NVC	95 NVC	23 NVC	72 NVC

cases, interposition – in 20 cases, coagulation-cut off – in 28 cases. The tactics of the group of without manipulation (9 cases) included the vein in 9 cases left without any manipulation due to its tiny small size). Secondly, in group with macroscopically nerve changes, where the nerve undergoes excavation (in 10 cases) according to the surgical tactics it was made only of one group which is with manipulation tactic of the offending vein: the tactics in this group were the transposition in 1 case, interposition – in 5 cases, and the coagulation-cut off in 4 cases (tab. 4, 5). In addition, statistically these nerve macroscopically

Table 4. *Intraoperative management in cases without macroscopically changes over the nerve V root*

Таблица 4*. Интраоперационная тактика при венозной компрессии без макроскопических изменений корешка V нерва*

Cases	Tactics in groups	Tactic types	Vein from the pure	Vein from the mixed	BNI I, II	BNI III, IV, V
60 cases of venous compression Without macroscopically changes (11 pure group, 49 mixed group)	With manipulation (in 51 cases)	Transposition (in 3 cases)	0	3	3 (mixed)	0
		Interposition (in 20 cases)	2	18	12 (1 pure, 11 mixed)	8 (1 pure, 7 mixed)
		Coagulation-cut off (in 28 cases)	9	19	21 (7 pure, 14 mixed)	7 (2 pure, 5 mixed)
	Without any manipulation (in 9 cases)	No manipulation (in 9 cases)	0	9	8 (mixed)	1 (mixed)
		in 60 pts			44 (8 pure, 36 mixed)	16 (3 pure, 13 mixed)

Table 5. *Intraoperative management in cases with macroscopically changes over the nerve V root*

Таблица 5. *Интраоперационная тактика при венозной компрессии с макроскопическими изменениями корешка V нерва*

Cases	Tactics in groups	Tactic types	Vein from the pure	Vein from the mixed	BNI I, II	BNI III,IV,V
10 cases of venous compression	With manipulation	Coagulation-cut off (in 4 cases)	1	3	3 (1 pure, 2 mixed)	1 (mixed)
With macroscopically changes (2 pure group, 8 mixed group)		Interposition (in 5 cases)	1	4	3 (1 pure, 2 mixed)	2 (mixed)
		Transposition (in 1 case)	0	1	0	1 (mixed)
		in 10 pts			6 (2 in pure, 4 in mixed)	4 (in mixed)

changes didn't show its significance as a factor to evaluate the outcomes of the MVD ($p > 0.05$).

Neurovascular manipulations

Intraoperative treatment was performed for 70 patients with venous compression, who were divided into two groups (pure venous and mixed compression groups) along the trigeminal nerve, from the TREZ at the brainstem to the Meckel's cave. The offending vessel(s) were detected, and they were managed by different tactics such as the transposition, interposition, coagulation-cut off tactic, and some had no manipulation of the offending vein, within the first group, the coagulation-cut off tactic was the most commonly used, appearing in 77 % of cases (10 out of 13). In contrast, in the second group, two tactics were equally common in between 57 cases: the interposition was performed in 22 cases (38.6 %) and the coagulation-cut off – in 22 cases (38.6 %) as detailed in (tab. 6).

Outcome

As a result of short-term outcome evaluation (at 1-week post-operative), 68 (97.2 %) cases were classified into the success group (BNI score = I and II), and 2 (2.8 %) cases were evaluated as failure cases (BNI score ≥ III). Within 3 months after the operation, the one of 2 these patients had achieved delayed pain relief (BNI I, II: 69 (98.5 %) cases). As a result of the follow-up of the 70 cases within a period ranging from 1 to 5 years (average: 3.6 years), 50 (71.4 %) cases had achieved control of their pain (BNI I, II); the outcome was not satisfactory (pain recurrences – BNI III–V) in the 20 (28.6 %) other cases (tab. 7).

Early postoperative complications were presented in 13 (18.5 %) cases out of 70, with 2 cases within the first group and the other 11 cases within the second group. In the first group, there was one case of right-side facial palsy and one case complicated by a right subacute subdural fronto-tempo-parietal hematoma. In the second group, there were 6 cases of hemi-facial hypoesthesia, 4 cases of meningitis and wound liquorrhea, and 1 case of acute sensorineural hearing loss. Statically, these complications in two groups exhibited $p > 0.05$. The most common complication observed in both groups during the follow-up period was facial numbness, which occurred in 6 cases (46.2 %), of the 13 cases.

According to the χ^2 test, in the group with purely venous compression, who have undergone MVD with different manipulation tactics (3 cases of interposition, 10 cases of coagulation-cut off) whatever the presence or not of the macroscopic changes by the vein over the nerve, the frequency of favorable outcomes (BNI I-II in 10 cases) following MVD surgery is statistically significantly greater than the frequency of negative results (BNI > II in 3 cases), ($\chi^2 = 3.77$; df = 1, $p = 0.052$). It demonstrates the potential for manipulating the offending vein in order to achieve the positive results of the MVD surgery, while in mixed compression group whatever the used tactic (with manipulation and without manipulation) and the presence or not of the macroscopic changes over the nerve didn't show any significant differences between the negative and positive outcomes.

For the 49 cases in the mixed compression group who were without macroscopic changes by the vein over the nerve, a deeper examination of the manipulation on the offending veins was performed. In which we had 40 cases with manipulations such as the transposition tactic in 3 cases, interposition in 18 cases, and coagulation-cut off in 19 cases, and 9 cases without manipulation of the vein. They did not exhibit any significant differences between the positive and negative outcomes ($\chi^2 = 0.88$, df = 1, $p = 0.35$). These tactics with and without macroscopically changes are detailed in tabl. 4, 5.

Table 6. *Neurovascular manipulations*

Таблица 6. *Характеристика хирургических манипуляций, выполненных во время микроваскулярной декомпрессии*

Intraoperative tactics in 70 cases	Total venous cases and NVC in both groups		1st group: pure venous compression in 13 cases		2nd group: mixed compression in 57 cases	
	Number of cases	Number of the NVC	Number of cases	Number of the NVC	Number of cases	Number of the NVC
Transposition	4	6	–	–	4	6
Interposition	25	27	3	5	22	22
Coagulation-cut off	32	50	10	18	22	32
No manipulation	9	12	–	–	9	12
Total	70 cases	95 NVC	13	23	57	72

NVC: Neurovascular conflict.

Note. The Number of NVC refers to the count of veins that exhibited a particular tactic in a given number of patients.

Table 7. *BNI outcomes*

Таблица 7. *Исходы микроваскулярной декомпрессии по шкале BNI в катамнезе*

	Total	1st group: pure venous compression	2nd group: mixed compression
Short term outcome (postoperatively until discharge time)	BNI I–II: 68 cases BNI III–V: 2 cases	BNI I–II: 12 cases BNI III–V: 1 case	BNI I–II: 56 cases BNI III–V: 1 case
Short term outcome (within 3 months) Delayed cure	BNI I–II: 69 cases BNI III–V: 1 cases	BNI I–II: 12 cases BNI III–V: 1 case	BNI I–II: 57 cases BNI III–V: 0 case
Follow up period	1year to 5 years (AV: 3.55 years)	1year to 5 years (AV: 4.077 years)	1year to 5 years (AV: 3.44 years)
Long term outcome	BNI I–I: 50 cases BNI III–V: 20 cases	BNI I–I: 10 cases BNI III–V: 3 cases	BNI I–II: 40 cases BNI III–V: 17cases
Recurrence of pain	BNI III–V: 20 cases	BNI III–V: 3 cases	BNI III–V: 17cases

Note. BNI – Barrow Neurological Institute; AV – Average

Discussion

In this study, an examination of 248 individuals who underwent MVD for the alleviation of TN, related to 5th cranial nerve, revealed a nuanced landscape of NVC. Specifically, 28.2 % of these patients were identified with venous NVC. Within the subset of 70 cases linked to TN, a detailed analysis uncovered that 13 cases (18.6 %) had purely venous compression, whereas a significant observation was made that 57 cases (81.4 %) exhibited mixed compression, characterized by the concurrent presence of both arterial and venous NVC. By comparing our findings of venous compression with the previous studies, they are slight differences. As indicated earlier, our findings show that the percentage of venous compression accounts for (28 %). However, Z.Y. Fayed et al. point out that the percentage of venous compression among patients with TN was 10 % [22]. Additionally, M. Wu et al. indicate that the percentage of venous compression among patients with TN was 20.3 % [23]. In contrast, Y. Zhao et al. reported that the incidence of venous compression in patients with TN was 9.2 % [24]. Similarly, W. Wang et al. stated that the prevalence of venous compression in patients with TN was 12.1 % [25] indicating that venous compression plays a significant role in the etiology of TN.

Intraoperatively, the vein was observed in three portions of the trigeminal nerve root. The venous NVC was notably situated not only in the TREZ but also impacted the mid-cisternal and porus trigeminus portions. Additionally, some cases exhibited venous NVC involving combinations of these areas, including the TREZ with mid-cisternal portions, TREZ with porus trigeminus portions, and even across all portions of the trigeminal nerve root. This venous NVC originated from both the superficial superior petrosal venous system, specifically the pontine tributary of the superior petrosal vein, and the deep superior petrosal venous system. These findings highlight the imperative for a thorough examination of the entire trigeminal nerve pathway, from the TREZ to the distal portions, to fully appreciate the extent and nature of venous compression.

Moreover, intraoperatively, the presence of macroscopic changes such as the excavation, indentation or grooving in relation to the venous conflict over the portions of the nerve root was noted in 10 cases (14.3 %) out of 70 cases, revealing significant alterations to the nerve's appearance. Such macroscopic alterations accentuate the critical influence of venous conflict on the trigeminal nerve structure and function.

In particular, our study pays specific attention to the surgical tactics used in the management of offending veins. These tactics included transposition, where the vein is moved away from the nerve, and interposition, where a barrier is placed between the vein and nerve. If both transposition and interposition do not yield the required result or turned out to be acceptable, we resorted to coagulation-cut techniques, where the vein was coagulated and cut to alleviate compression. These approaches were meticulously applied to address the venous conflict and mitigate its impact on the trigeminal nerve. The studies by, C. Durnot et al. [21], J. Baldauf et al. [6], employed various microsurgical techniques, including transposition, interposition, separation, and coagulation cut, to treat TN, each highlighting their specific applications and outcomes. C. Dumot et al. focused on techniques such as coagulation-division or simple cleavage of the conflicting vein, showcasing notable efficacy, with 75.2 % of patients reporting pain relief outcomes during the follow-up period [21]. In contrast, J. Baldauf et al. centered

their study on methods like transposing veins with Teflon, separating the vein, or coagulating/dividing veins based on size and collateral presence. Their approach demonstrated significant effectiveness, with 71.4 % of patients achieving excellent to very good pain relief outcomes during the follow-up period [6]. These comprehensive evaluations across various studies provide valuable insights into the effectiveness of these techniques in managing TN.

In our study, patients were initially categorized based on the type of vascular compression affecting them, identifying those with purely venous compression and those experiencing an arteriovenous combination, termed mixed compression.

Our idea for cases featuring exclusive venous compression, the primary surgical objective was to preserve the integrity of the offending vein. This was achieved through meticulous transposition or interposition tactics aimed at relieving pressure on the trigeminal nerve while maintaining venous circulation to avoid the related complications of the brainstem or cerebellum, when direct vein preservation methods were not feasible, a strategic approach was adopted involving venous coagulation-cutting off the vein.

In the treatment of conditions involving concurrent arterial and venous compression (mixed compression group), the primary objective is to relocate both offending vessels. Consequently, arterial transposition is adopted as the surgical strategy of choice. This technique is paramount for repositioning arterial structures to relieve the pressure exerted on the trigeminal nerve, directly addressing the root cause of the patient's pain.

While the presence of arterioles from the compressed artery made it difficult to perform the transposition tactic on the artery. Instead of using the transposition tactic here, which would cause bleeding from the rupture of those arterioles, the interposition tactic was used, which places Teflon material between the artery and the nerve. Additionally, the compressed artery interposition tactic was used when transposing the artery was not possible because of the multiple superior petrosal vein trunks, which left no room for the artery to be moved. In addressing venous compression, the strategy also focused on preserving the offending vein circulation and structure by employing transposition or interposition tactics, but when it was not possible to relocate it, the coagulation-cut-off tactic was the best choice to work with. Upon further assessment, it was determined that in certain cases, venous structures, despite their proximity to neural elements, did not warrant manipulation. This decision was grounded in the observation that these veins were of a small size and, critically, didn't cause any macroscopic changes over the nerve. Hence, a 'no manipulation' tactic was adopted for these specific venous instances. This approach underscores a tailored surgical strategy, prioritizing the avoidance of unnecessary interventions that do not contribute to symptom relief or may pose additional risks to nerve fibers integrity. Additionally, in both groups (pure venous and mixed compression), regardless of whether the macroscopic changes over the trigeminal nerve root were presented or not, the tactics used for the offending vein were done as indicated earlier.

In the evaluation of pain outcomes using BNI pain intensity scores, for 70 cases (13 pure and 57 mixed) revealed a significant trend towards achieving BNI pain intensity scores of I and II was demonstrated, indicating successful pain management in the majority of cases (50 cases, 71.4 %). The remaining 20 cases (28.6 %) experienced a recurrence of pain, classified under BNI scores of III, IV, and V, signifying varying degrees of persistent or worsening pain despite initial treatment. In contrast to other outcomes, Y. Wei et al. observed a success rate of 71.2 % and a pain recurrence rate of 28.8 % [26]. J. Herta et al. found a success rate of 59.6 % and a significant pain recurrence rate of 39.4 % [27], while I. Noorani et al. reported a success rate of 75 % and a pain recurrence rate of 25 % for MVD procedures [28]. Our study's outcomes closely resemble those of other studies regarding success rates and the occurrence of pain recurrence.

Our study investigated various factors that could impact the outcomes of MVD in patients with CTN over a 1–5-year follow-up period. These factors included age, gender, affected facial side, type of TN, pain duration, vein situation and location, number of veins, nerve changes, and surgical techniques. Surprisingly, the statistical analysis revealed no significant differences in these factors between patients who experienced favorable outcomes (BNI I–II) and those who faced non-favorable outcomes (BNI III, IV, V).

Detailed analysis using the chi-squared test focused on patients with purely venous compression. These patients underwent MVD with different manipulation tactics: 3 cases of interposition and 10 cases of coagulation-cut off. In this group, the frequency of favorable outcomes (BNI I-II in 10 cases) was significantly higher than the frequency of unfavorable outcomes (BNI >II in 3 cases). This finding highlights the potential for manipulating the offending vein to achieve positive results in MVD surgery.

These findings illuminate the critical role of vein manipulation in the symptomatic presentation of TN and underscore the necessity of adopting specific surgical tactics based on the vein's characteristics and its relationship to the nerve. This nuanced analysis

reinforces the importance of precision in surgical technique selection during MVD procedures. By carefully choosing the appropriate intervention or opting for non-intervention in the case of small-sized veins surgeons can achieve better patient outcomes, highlighting the pivotal role of tailored surgical approaches in enhancing the effectiveness of treatment for TN

Conclusions

In conclusion, the study underscores the efficacy of microvascular decompression in addressing TN associated with venous compression. The findings highlight the importance of tailored surgical approaches for optimal outcomes and emphasize the ongoing evolution of treatment strategies in neurovascular conflicts. This research contributes valuable insights to the field, paving the way for enhanced management of TN through refined surgical interventions.

References

1. Zakrzewska J.M., Linskey M.E. Trigeminal neuralgia. *BMJ*. 2015;350:h1238. doi: 10.1136/bmj.h1238

2. Cruccu G., Finnerup N.B., Jensen T.S., Scholz J., Sindou M., Svensson P., Treede R.D., Zakrzewska J.M., Nurmikko T. Trigeminal neuralgia: New classification and diagnostic grading for practice and research. *Neurology*. 2016;87(2):220–228. doi: 10.1212/WNL.0000000000002840

3. Zakrzewska J.M., Linskey M.E. Trigeminal neuralgia. *BMJ*. 2014;348:g474. doi: 10.1136/bmj.g474

4. van Kleef M., van Genderen W.E., Narouze S., Nurmikko T.J., van Zundert J., Geurts J.W, Mekhail N.; World Institute of Medicine. 1. Trigeminal neuralgia. *Pain. Pract.* 2009;9(4):252–259. doi: 10.1111/j.1533-2500.2009.00298.x

5. Woolfall P., Coulthard A. Pictorial review: Trigeminal nerve: anatomy and pathology. *Br. J. Radiol*. 2001;74(881):458–467. doi: 10.1259/bjr.74.881.740458

6. Baldauf J., Refaee E.E., Marx S., Matthes M., Fleck S., Schroeder H.W.S. Purely venous compression in trigeminal neuralgia-can we predict the outcome of surgery. *Acta Neurochir. (Wien)*. 2022;164(6):1567–1573. doi: 10.1007/s00701-022-05176-z

7. Brînzeu A., Drogba L., Sindou M. Reliability of MRI for predicting characteristics of neurovascular conflicts in trigeminal neuralgia: implications for surgical decision making. *J. Neurosurg*. 2018;130(2):611–621. doi: 10.3171/2017.8.JNS171222

8. Zhao Y., Chen J., Jiang R., Xu X., Lin L., Xue Y., Duan Q. MRI features of responsible contacts in vascular compressive trigeminal neuralgia and prediction modeling. *Acta Radiol*. 2022;63(1):100–109. doi: 10.1177/0284185120983971

9. Hong W., Zheng X., Wu Z., Li X., Wang X., Li Y., Zhang W., Zhong J., Hua X., Li S. Clinical features and surgical treatment of trigeminal neuralgia caused solely by venous compression. *Acta Neurochir. (Wien)*. 2011;153(5):1037–1042. doi: 10.1007/s00701-011-0957-x

10. Leal P.R., Hermier M., Froment J.C., Souza M.A., Cristino-Filho G., Sindou M. Preoperative demonstration of the neurovascular compression characteristics with special emphasis on the degree of compression, using high-resolution magnetic resonance imaging: a prospective study, with comparison to surgical findings, in 100 consecutive patients who underwent microvascular decompression for trigeminal neuralgia. *Acta Neurochir. (Wien)*. 2010;152(5):817–825. doi: 10.1007/s00701-009-0588-7

11. Inoue T., Hirai H., Shima A., Suzuki F., Fukushima T., Matsuda M. Diagnosis and management for trigeminal neuralgia caused solely by venous compression. *Acta Neurochir. (Wien)*. 2017;159(4):681–688. doi: 10.1007/s00701-017-3085-4

12. Montano N., Conforti G., di Bonaventura R., Meglio M., Fernandez E., Papacci F. Advances in diagnosis and treatment of trigeminal neuralgia. *Ther. Clin. Risk Manag*. 2015;11:289–299. doi: 10.2147/TCRM.S37592

13. Burchiel K.J. trigeminal neuralgia: new evidence for origins and surgical treatment. *Neurosurgery*. 2016;63 Suppl 1:52–55. doi: 10.1227/NEU.0000000000001276

14. Strauss C., Naraghi R., Bischoff B., Huk W.J., Romstöck J. Contralateral hearing loss as an effect of venous congestion at the ipsilateral inferior colliculus after microvascular decompression: report of a case. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 2000;69(5):679–682. doi: 10.1136/jnnp.69.5.679

15. Koerbel A., Wolf S.A., Kiss A. Peduncular hallucinosis after sacrifice of veins of the petrosal venous complex for trigeminal neuralgia. *Acta Neurochir. (Wien)*. 2007;149(8):831–832; discussion 832–833. doi: 10.1007/s00701-007-1181-6

16. Masuoka J., Matsushima T., Hikita T., Inoue E. Cerebellar swelling after sacrifice of the superior petrosal vein during microvascular decompression for trigeminal neuralgia. *J. Clin. Neurosci.* 2009;16(10):1342–1344. doi: 10.1016/j.jocn.2008.12.024

17. Lee S.H., Levy E.I., Scarrow A.M., Kassam A., Jannetta P.J. Recurrent trigeminal neuralgia attributable to veins after microvascular decompression. *Neurosurgery*. 2000;46(2):356–361; discussion 361–362. doi: 10.1097/00006123-200002000-00019

18. Zhong J., Li S.T., Xu S.Q., Wan L., Wang X. Management of petrosal veins during microvascular decompression for trigeminal neuralgia. *Neurol. Res*. 2008;30(7):697–700. doi: 10.1179/174313208X289624

19. Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders,

3rd edition. *Cephalalgia*. 2018;38(1):1–211. doi: 10.1177/0333102417738202

20. Rogers C.L., Shetter A.G., Fiedler J.A., Smith K.A., Han P.P., Speiser B.L. Gamma knife radiosurgery for trigeminal neuralgia: the initial experience of The Barrow Neurological Institute. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2000;47(4):1013–1019. doi: 10.1016/s0360-3016(00)00513-7

21. Dumot C., Sindou M. Trigeminal neuralgia due to neurovascular conflicts from venous origin: an anatomical-surgical study (consecutive series of 124 operated cases). *Acta Neurochir. (Wien).* 2015;157(3):455–466. doi: 10.1007/s00701-014-2330-3

22. Fayed Z.Y., Afify H. Long-term follow-up of microvascular decompression for management of trigeminal neuralgia. *The Egyptian Journal of Neurosurgery*. 2022;37:30. doi: 10.1186/s41984-022-00171-z

23. Wu M., Fu X., Ji Y., Ding W., Deng D., Wang Y., Jiang X., Niu C. Microvascular decompression for classical trigeminal neuralgia caused by venous compression: novel anatomic classifications and surgical strategy. *World Neurosurg*. 2018;113:e707–e713. doi: 10.1016/j.wneu.2018.02.130

24. Zhao Y., Zhang X., Yao J., Li H., Jiang Y. Microvascular decompression for trigeminal neuralgia due to venous compression alone. *J. Craniofac. Surg*. 2018;29(1):178–181. doi: 10.1097/SCS.0000000000004174

25. Wang W., Yu F., Kwok S.C., Wang Y., Yin J. Microvascular decompression for trigeminal neuralgia caused by venous offending on the ventral side of the root entrance/exit zone: classification and management strategy. *Front. Neurol.* 2022;13:864061. doi: 10.3389/fneur.2022.864061

26. Wei Y., Pu C., Li N., Cai Y., Shang H., Zhao W. Long-term therapeutic effect of microvascular decompression for trigeminal neuralgia: Kaplan-Meier analysis in a consecutive series of 425 patients. *Turk. Neurosurg.* 2018; 28(1):88–93. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.18322-16.1

27. Herta J., Schmied T., Loidl T.B., Wang W.T., Marik W., Winter F., Tomschik M., Ferraz-Leite H., Rössler K., Dorfer C. Microvascular decompression in trigeminal neuralgia: predictors of pain relief, complication avoidance, and lessons learned. *Acta Neurochir. (Wien).* 2021;163(12):3321–3336. doi: 10.1007/s00701-021-05028-2

28. Noorani I., Lodge A., Durnford A., Vajramani G., Sparrow O. Comparison of first-time microvascular decompression with percutaneous surgery for trigeminal neuralgia: long-term outcomes and prognostic factors. *Acta Neurochir. (Wien).* 2021;163(6):1623–1634. doi: 10.1007/s00701-021-04793-4

Information about the authors:

Abedallah F. Alzeeralhouseini, ORCID: 0009-0003-3739-8438, e-mail: abedallahalhussini@gmail.com
Galina I. Moisak, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3885-3004, e-mail: g_moysak@neuronsk.ru
Yevgeniy A. Tkachenko, ORCID: 0000-0002-4098-3887, e-mail: Evgenu.Tkachenko@yandex.ru
Jamil A. Rzaev, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-1209-8960, e-mail: jamilrzaev@gmail.com

Сведения об авторах:

Альзиралхусейни Абедалла Ф., ORCID: 0009-0003-3739-8438, e-mail: abedallahalhussini@gmail.com
Мойсак Галина Ивановна, к.м.н., RCID: 0000-0002-3885-3004, e-mail: g_moysak@neuronsk.ru
Ткаченко Евгений Алексеевич, ORCID: 0000-0002-4098-3887, e-mail: Evgenu.Tkachenko@yandex.ru
Рзаев Джамиль Афетович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-1209-8960, e-mail: jamilrzaev@gmail.com

Поступила в редакцию 07.06.2024
После доработки 24.07.2024
Принята к публикации 09.11.2024

Received 07.06.2024
Revision received 24.07.2024
Accepted 09.11.2024

УДК 616-053.31:616.348 DOI: 10.18699/SSMJ20240620
Оригинальное исследование / Research article

Изменения активности моноаминоксидазы кишечника у недоношенных и доношенных детей с хирургической патологией

П.К. Винель[1], А.И. Синицкий[1], В.В. Царева[1, 2], А.В. Грунин[1, 2], П.Г. Бабошко[2], Э.Ф. Аглетдинов[3]

[1] Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России
454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64
[2] Челябинская областная детская клиническая больница
454087, г. Челябинск, ул. Блюхера, 42а
[3] АО «Вектор-Бест»
630117, г. Новосибирск, ул. Пасечная, 3

Резюме

Достижения в области детской хирургии, интенсивной терапии и анестезиологии привели к значительному улучшению результатов оперативного лечения доношенных и недоношенных новорожденных с аномалиями развития кишечника и некротизирующим энтероколитом (НЭК). Основные проблемы лечения детей этой сложной группы сегодня находятся в плоскости совершенствования диагностики, выбора тактики лечения, обеспечения послеоперационного периода. Моноаминоксидаза (МАО) – митохондриальный фермент, катализирующий окислительное дезаминирование биогенных и ксенобиотических моноаминов, в том числе в клетках и тканях кишечной стенки, может являться прогностическим и диагностическим маркером эффективности и скорости восстановления кишечника в послеоперационный период, а также служить точкой приложения фармакологической коррекции. Целью исследования являлось определение активности МАО кишечника у детей первого года жизни с хирургической патологией. **Материал и методы.** В исследование включены 24 пациента с патологиями толстой и тонкой кишки, в возрасте от 1 дня до 3 мес., проходившие лечение в Челябинской областной детской клинической больнице с октября 2022 г. по май 2024 г. Активность МАО-А и МАО-Б исследовали в гомогенатах кишки, полученной на проксимальном крае резекции, спектрофотометрическим методом. **Результаты и их обсуждение.** В образцах кишечника, полученных от пациентов с заболеваниями, сопровождающимися выраженными воспалительными изменениями (НЭК IIIA–IIIБ стадии, закрытие энтеростомы после перенесенного НЭК III, интестинальная нейрональная дисплазия, болезнь Гиршпрунга), показано значимое снижение активности изоформы МАО-А. Продемонстрировано уменьшение активности МАО-Б в образцах стенки кишечника, полученных у детей с подтвержденными диагнозами «болезнь Гиршпрунга» и «интестинальная нейрональная дисплазия», а также у недоношенных новорожденных с хирургическими стадиями НЭК. Наиболее высокая активность обеих изоформ фермента установлена в образцах сигмовидной кишки без патологических изменений у пациентов с высокой атрезией ануса и прямой кишки.

Ключевые слова: моноаминоксидаза, кишечник, некротизирующий энтероколит, интестинальная нейрональная дисплазия, болезнь Гиршпрунга.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-10079.
Автор для переписки: Винель П.К., e-mail: vinelpolina@icloud.com
Для цитирования: Винель П.К., Синицкий А.И., Царева В.В., Грунин А.В., Бабошко П.Г., Аглетдинов Э.Ф. Изменения активности моноаминоксидазы кишечника у недоношенных и доношенных детей с хирургической патологией. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):197–202. doi: 10.18699/SSMJ20240620

Intestinal monoamine oxidase activity in premature and full-term infants with surgical pathology

P.K. Vinel[1], A.I. Sinitskii[1], V.V. Tsareva[1, 2], A.V. Grunin[1, 2], P.G. Baboshko[2], E.F. Agletdinov[3]

[1] *South Ural State Medical University of Minzdrav of Russia*
454092, Chelyabinsk, Vorovskogo st., 64
[2] *Chelyabinsk Region Children's Hospital*
454087, Chelyabinsk, Blyukhera st., 42a
[3] *JSC «Vector-Best»*
630117, Novosibirsk, Pasechnaya st., 3

Abstract

Advances in pediatric surgery, intensive care, and anesthesiology have significantly improved the outcomes of surgical treatment of full-term and premature infants with intestinal malformations and necrotizing enterocolitis (NEC). The main challenges in treating children of this complex group today lie in improving diagnostics, choosing treatment tactics, and ensuring the postoperative period. Monoamine oxidase (MAO) is a mitochondrial enzyme that catalyzes oxidative deamination of biogenic and xenobiotic monoamines, including those in intestinal wall cells and tissues. It can be a prognostic and diagnostic marker of the effectiveness and rate of intestinal recovery in the postoperative period, and also serve as a point of application for pharmacological correction. The aim of the study is to determine the activity of intestinal MAO in children of the first year of life with surgical pathology. **Material and methods.** The study included 24 patients with colon and small intestine pathologies, aged from 1 day to 3 months, who were treated at the Chelyabinsk Regional Children's Clinical Hospital from October 2022 to May 2024. MAO-A and MAO-B activity was studied by spectrophotometry in intestinal homogenates obtained at the proximal resection margin. **Results and discussion.** Intestinal samples obtained from patients with diseases accompanied by pronounced inflammatory changes (NEC stage IIIA–IIIB, enterostomy closure after NEC III, intestinal neuronal dysplasia (IND), Hirschsprung's disease) showed a significant decrease in the activity of the MAO-A isoform. A decrease in MAO-B activity was demonstrated in intestinal wall samples obtained from children with confirmed diagnoses of Hirschsprung's disease and intestinal neuronal dysplasia, as well as in premature infants with surgical stages of NEC. The highest activity of both enzyme isoforms was found in sigmoid colon samples without pathological changes in patients with anal and rectum atresia.

Key words: monoamine oxidase, intestine, necrotizing enterocolitis, intestinal neuronal dysplasia, Hirschsprung's disease.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-25-10079.
Correspondence author: Vinel P.K., e-mail: vinelpolina@icloud.com
Citation: Vinel P.K., Sinitskii A.I., Tsareva V.V., Grunin A.V., Baboshko P.G., Agletdinov E.F. Intestinal monoamine oxidase activity in premature and full-term infants with surgical pathology. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):197–202. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240620

Введение

Заболевания ЖКТ, в частности кишечника, требующие хирургического вмешательства на первом году жизни, достаточно распространены. В первую очередь это пороки развития и воспалительные заболевания. Аномалии ЖКТ занимают пятое место по распространенности среди всех врожденных пороков развития [1]. Показатели заболеваемости некротизирующим энтероколитом (НЭК) продолжают расти из-за увеличения выживаемости крайне и глубоконедоношенных детей [2]. Диагностика некоторых состояний зачастую неоднозначна и сложна, а от выбранной тактики лечения во многом зависит дальнейший прогноз и качество жизни ребенка. Основные проблемы лечения детей этой сложной группы сегодня находятся в плоскости совершенствования диагностики, выбора тактики лечения, обеспечения послеоперационного периода [3].

Моноаминоксидаза (МАО; EC 1.4.3.4) – фермент, локализованный на внешней мембране митохондрий, отвечающий за дезаминирование биогенных аминов. В первую очередь известен как регулятор обмена нейротрансмиттеров в центральной нервной системе. Имеет две изоформы, МАО-А и МАО-Б, отличающиеся субстратной и ингибиторной специфичностью и представленные практически во всех тканях [4]. В кишечнике человека МАО обладает высокой активностью и выполняет ряд важнейших функций, таких как дезинтоксикация пищевых и биогенных аминов, в том числе продуцируемых микробиотой кишки [5, 6], биотрансформация лекарственных препаратов [7], регуляция экспрессии провоспалительных цитокинов [8]. Продемонстрировано, что изменение активности МАО играет роль в развитии и поддержании таких патологических процессов, как воспаление и канцерогенез у взрослых [9–

12]. Несмотря на наличие единичных работ, посвященных определению активности фермента у детей с врожденным мегаколоном и целиакией [13, 14], к настоящему моменту МАО в тканях кишечника у детей практически не изучена. Анализ активности фермента в кишечной стенке предоставит важную информацию о патофизиологических механизмах, лежащих в основе заболеваний кишечника у детей на первом году жизни, и будет способствовать выявлению потенциально значимых прогностических и диагностических биомаркеров, а также точек приложения для фармакологической коррекции.

Целью исследования является определение активности МАО кишечника у детей первого года жизни с хирургической патологией.

Материал и методы

На базах центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России и ГАУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница» (г. Челябинск) проведено обсервационное ретроспективное одномоментное исследование. В него включены 24 ребенка, как доношенные, так и недоношенные, с патологией тонкого и толстого кишечника, в возрасте от 1 дня до 3 месяцев жизни, проходившие лечение в период с октября 2022 г. по май 2024 г. Взятие интраоперационного материала происходило при проведении оперативного вмешательства у новорожденных с хирургической патологией кишечника (НЭК IIIA–IIIБ стадии, закрытие энтеростомы после перенесенного НЭК III, высокая атрезия ануса и прямой кишки, интестинальная нейрональная дисплазия, болезнь Гиршпрунга). Диагнозы «интестинальная нейрональная дисплазия» и «болезнь Гиршпрунга» определялись результатами биопсии как морфологически установленная гиперплазия ганглиев или аганглиоз соответственно в фрагменте кишечной стенки. Вследствие ограниченного объема выборок, а также общности этиологии и патогенеза заболеваний, обозначенных выше, сформирована группа детей с дисганглиозами. У недоношенных новорожденных НЭК IIIA–IIIБ стадии установлен согласно модифицированным критериям стадирования по Белл. Воспалительные изменения в кишечной стенке фиксировались из протоколов планового патолого-анатомического гистологического исследования биопсийного операционного материала.

На основании полученных клинических данных о гестационном возрасте, возрасте на момент взятия материала (для недоношенных новорожденных с НЭК IIIA–IIIБ стадии и с закрытием энтеростомы после перенесенного НЭК III рассчитывали корригированный возраст), локализации и характере воспалительных изменений сформировано четыре группы: НЭК IIIA–IIIБ (n = 5), закрытие энтеростомы после перенесенного НЭК III (n = 8), высокая атрезия ануса и прямой кишки (n = 5) и дисганглиозы (n = 6). Гистологически НЭК IIIA–IIIБ характеризовался язвенно-некротическим энтеритом, гангреной кишки. Морфологическая картина воспалительных изменений кишечной стенки для НЭК на этапе закрытия энтеростомы и дисганглиозов была представлена слабо активным или хроническим неактивным воспалением тонкой и толстой кишки соответственно. Сигмовидная кишка у пациентов с высокой атрезией ануса и прямой кишки не имела воспалительных изменений и рассматривалась в рамках настоящего исследования как нормально функционирующая.

Образцы кишечной стенки, полученные на проксимальном крае резекции во время операции, незамедлительно промывали в 0,9%-м растворе натрия хлорида, переносили в забуференный раствор сахарозы, гомогенизировали и центрифугировали для получения митохондриальной фракции. Полученные образцы хранили при температуре –80 °C (камера Thermo Forma 902 (Thermo Fisher Scientific, США) до выполнения исследования. Оценку ферментативной активности МАО-А и МАО-Б проводили ДФНГ-спектрофотометрическим методом с использованием бензиламина и серотонина в качестве субстратов [15].

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета прикладных программ StatSoft Statistica 8.0. Для описания количественных данных использовались медиана и квартили (Me [Q1; Q3]), для попарных сравнений групп – критерий Манна – Уитни. Значимыми считались признаки, значение p для которых было меньше 0,05

С одобрения этического комитета ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 8 от 15.09.2021) получены информированные согласия от семей пациентов на взятие сегмента резецированной кишки для биохимического исследования. Критерии невключения/исключения: генетические заболевания, отказ законного представителя от участия в исследовании, невозможность получения биоматериала для исследования.

Результаты и их обсуждение

Характеристика групп пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1. При

Таблица 1. *Характеристика групп исследования*

Table 1. *Characteristics of the study groups*

Группа	Гестационный возраст, нед.	Возраст на момент взятия материала, нед.
1. Высокая атрезия ануса и прямой кишки (n = 5)	39,0 [39,0; 39,0]	1,0 [1,0;1,0]
2. Дисганглиозы (n = 6)	38,5 [38,0; 40,0] $p_{1,2}$ = 0,78	2,5 [1,0;4,0] $p_{1,2}$ = 0,083
3. НЭК IIIА-IIIБ (n = 5)	28,0 [27,0; 34,0] $p_{1,3}$ = 0,012	0,0 [0,0;1,0] $p_{1,3}$ = 0,14
4. Закрытие энтеростомы после перенесенного НЭК III (n = 8)	31,0 [28,0; 33,5] $p_{3,4}$ = 0,56	3,5 [1,0;6,0] $p_{3,4}$ = 0,067 $p_{2,4}$ = 0,61

сравнении образцов кишки с активным воспалительным процессом (НЭК IIIА–IIIБ) и без патологических изменений (высокая атрезия ануса и прямой кишки) прослеживается значимое (в 5 раз и более) снижение активности обеих изоформ фермента, даже с учетом различий в локализации патологического процесса (табл. 2). Все дети с атрезией ануса были доношенными и прооперированы в первые дни жизни. Недоношенные дети с НЭК имели сопоставимый возраст на момент взятия материла (см. табл. 1).

Активность МАО-Б была значительно меньше при остром выраженном воспалительном процессе в подвздошной кишке (НЭК IIIА–IIIБ), чем у пациентов с энтеростомой после перенесенного НЭК. Активность МАО-А также имела тенденцию к снижению, но достоверных различий не выявлено (см. табл. 2). Гестационный возраст и возраст на момент взятия материала в обеих группах статистически различий не имели (см. табл. 1). При сравнении детей, имеющих схожие воспалительные изменения в различных отделах кишечника (недоношенные новорожденные на этапе закрытия энтеростомы после перенесенного НЭК III и дети с дисганглиозами), отмечали достаточно высокую вариабельность активности МАО-А (см. табл. 2) без достоверных различий между группами. В то же время при дисганглиозах продемонстрировано статистически значимое снижение активности МАО-Б (значения соответствовали активности фермента у недоношенных новорожденных при НЭК III) (см. табл. 2). Возраст на момент взятия материла с учетом расчета скоррегированного возраста для недоношенных пациентов был сопоставим в обеих группах (см. табл. 1).

Несмотря на то что обе изоформы фермента демонстрировали тенденцию к уменьшению при заболеваниях, поражающих энтеральную нервную систему (ЭНС), только дезаминирующая активность МАО-Б в толстом кишечнике была значимо снижена у детей с дисганглиозами в сравнении с пациентами без патологических изменений в сигмовидной кишке. Все дети были доношенными с сопоставимым гестационным возрастом.

Исходя из полученных данных, можно говорить о том, что изменение активности МАО-А сопровождает воспалительный процесс, протекающий в кишечнике при таких патологиях, как интестинальная нейрональная дисплазия, болезнь Гиршпрунга, НЭК. Наиболее выраженное снижение было зафиксировано при НЭК – заболевании, в основе которого лежит тяжелое воспалительное поражение кишечника, характеризующееся язвенно-некротическим энтеритом. Это может

Таблица 2. *Активность МАО кишечника у детей с хирургической патологией, нмоль/мин/мг белка*

Table 2. *Intestinal monoamine oxidase activity in children with surgical pathology, nmol/min/mg protein*

Группа	МАО-А	МАО-Б
1. Высокая атрезия ануса и прямой кишки (n = 5)	2,64 1,11;3,96]	0,66 [0,47;0,69]
2. Дисганглиозы (n = 6)	1,00 [0,80;2,17] $p_{1,2}$=0,24	0,19 [0,12;0,23] $p_{1,2}$=0,036
3. НЭК IIIА–IIIБ (n = 5)	0,67 [0,30;0,73] $p_{1,3}$=0,012	0,11 [0,02;0,15] $p_{1,3}$=0,02
4. Закрытие энтеростомы после перенесенного НЭК III (n = 8)	1,14 [0,61;3,28] $p_{3,4}$=0,092	0,59 [0,45;0,76] $p_{3,4}$=0,004 $p_{2,4}$=0,002

объясняться преобладанием МАО-А в энтероцитах, а снижение ее активности, вероятнее всего, является вторичным по отношению к общему выраженному повреждению слизистой кишечника, протекающему на фоне дистрофии и некроза клеток [16]. Изменение активности МАО-Б зафиксировано не у всех детей с признаками воспаления кишечной стенки, а только у недоношенных новорожденных с НЭК IIIA–IIIБ и у пациентов с дисганглиозами. Несмотря на разную локализацию поражения, можно предположить, что и в одном, и в другом случае уменьшение активности происходит за счет изменения активности фермента в ЭНС, где МАО-Б локализуется как в различных нейрональных клетках, так и в глии [6, 17]. В случае с НЭК это может выступать следствием функциональной незрелости данных структур у недоношенных новорожденных. При дисганглиозах снижение активности МАО-Б, вероятно, является одной из причин и/или звеньев патогенеза нарушения формирования ЭНС в антенатальном периоде.

В литературе описан положительный эффект применения ингибиторов МАО у взрослых пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника [18] и снижение продукции провоспалительных цитокинов при нокауте МАО-Б в экспериментах на клеточных культурах и модельных животных [8, 19–21]. Данные настоящего исследования не подтверждают теорию о том, что воспалительный процесс кишечника сопровождается повышением активности МАО, более того, нами продемонстрировано выраженное снижение активности обеих изоформ фермента.

Заключение

Продемонстрировано снижение активности одной или обеих изоформ МАО при заболеваниях кишечника, требующих хирургического вмешательства, у детей первого года жизни. Несмотря на отсутствие точных данных о механизмах, приводящих к изменению активности фермента, его дефицит может приводить усилению перехода токсичных аминов в кровоток, нарушению секреторной и моторной функций кишечника, напрямую зависящих от концентраций как ведущих, так и следовых аминов, в деградации которых у новорожденных принимает участие именно МАО. Количественная оценка активности фермента в кишечной стенке при хирургической патологии может позволить более объективно установить тяжесть поражения и использоваться в качестве прогностического маркера скорости восстановления кишечника для детей с НЭК как в период носительства энтеростомы, так и после ее закрытия. Активность МАО-Б может служить дополнительным маркером для дифференциальной диагностики дисганглиозов и кишечной непроходимости другой этиологии.

Для установления референсных показателей активности МАО в тонком и толстом кишечнике и определения уровней патологических значений потребуются дальнейшие исследования с вовлечением большего количества пациентов.

Список литературы / References

1. Moorthie S., Blencowe H., Darlison M.W., Lawn J., Morris J., Modell B., Congenital Disorders Expert Group, Bittles A., Blencowe H., Christianson A., … Yunnis K.A. Estimating the birth prevalence and pregnancy outcomes of congenital malformations worldwide. *J. Community Genet.* 2018;9(4):387–396. doi: 10.1007/s12687-018-0384-2

2. Симаходский А.С., Горелик Ю.В., Горелик К.Д., Иванов С.Л., Лукашова Ю.В. Смертность детей, родившихся на ранних сроках гестации, – непреодолимый барьер или резерв снижения младенческой смертности? *Вопр. соврем. педиатрии.* 2020;19(5):340–345. doi: 10.15690/vsp.v19i5.2209

Simakhodsky A.S., Gorelik Yu.V., Gorelik K.D., Ivanov S.L., Lukashova Yu.V. Mortality of children born on early gestational age: is it the impassable barrier or the reserve for reducing the infants mortality? *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics*. 2020;19(5):340–345. [In Russian]. doi 10.15690/vsp.v19i5.2209

3. Морозов Д.А., Пименова Е.С., Горемыкин И.В., Филиппов Ю.В., Городков С.Ю., Антонов М.А., Дерюгина Л.А., Свиридов Н.Н., Чухрова Н.С. Организация хирургической помощи новорожденным (результаты и пример региональной модели). *Детская хирургия*. 2015;19(4):36–41.

Morozov D.A., Pimenova E.S., Goremykin I.V., Filippov Yu.V., Gorodkov S.Yu., Antonov M.A., Deryugina L.A., Sviridov N.N., Chukhrova N.S. Organization of neonatal surgical care as exemplified by a regional model. *Detskaya khirurgiya = Pediatric Surgery*. 2015;19(4):36–41. [In Russian].

4. Tipton K.F. 90 years of monoamine oxidase: some progress and some confusion. *J. Neural. Transm. (Vienna)*. 2018;125(11):1519–1551. doi: 10.1007/s00702-018-1881-5

5. Ma S.R., Yu J.B., Fu J., Pan L.B., Yu H., Han P., Zhang Z., Peng R., Xu H., Wang Y. Determination and application of nineteen monoamines in the gut microbiota targeting phenylalanine, tryptophan, and glutamic acid metabolic pathways. *Molecules*. 2021;26(5):1377. doi: 10.3390/molecules26051377

6. Liu C.Z., Zhang X.L., Zhou L., Wang T., Quan Z.S., Zhang Y., Li J., Li G.W., Zheng L.F., Li L.S.,. Zhu J.X. Rasagiline, an inhibitor of MAO-B, decreases colonic motility through elevating co-

lonic dopamine content. *Neurogastroenterol. Motil*. 2018;30(11):e13390. doi: 10.1111/nmo.13390

7. Wegler C., Wiśniewski J.R., Robertsen I., Christensen H., Kristoffer Hertel J., Hjelmesæth J., Jansson-Löfmark R., Åsberg A., Andersson T. B., Artursson P. Drug disposition protein quantification in matched human jejunum and liver from donors with obesity. *Clin. Pharmacol. Ther*. 2022;111(5):1142–1154. doi: 10.1002/cpt.2558

8. Tra M. Novel monoamine oxidase B inhibitor downregulation of lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokines: abstract of thesis of dissertation. Vancouver; 2015. doi: 10.14288/1.0166397

9. Putnins E.E., Goebeler V., Ostadkarampour M. Monoamine oxidase-B inhibitor reduction in pro-inflammatory cytokines mediated by inhibition of cAMP-PKA/EPAC signaling. *Front. Pharmacol*. 2021;12:741460. doi: 10.3389/fphar.2021.741460

10. Ye D., Xu H., Xia H., Zhang C., Tang Q., Bi F. Targeting SERT promotes tryptophan metabolism: mechanisms and implications in colon cancer treatment. *J. Exp. Clin. Cancer Res*. 2021;40(1):73. doi: 10.1186/s13046-021-01971-1

11. Yang Y.C., Chien M.H., Lai T.C., Su C.Y., Jan Y.H., Hsiao M., Chen C.L. Monoamine oxidase B expression correlates with a poor prognosis in colorectal cancer patients and is significantly associated with epithelial-to-mesenchymal transition-related gene signatures. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21(8):2813. doi: 10.3390/ijms21082813

12. Ostadkarampour M., Putnins E.E. Monoamine oxidase inhibitors: a review of their anti-inflammatory therapeutic potential and mechanisms of action. *Front. Pharmacol*. 2021;12:676239. doi: 10.3389/fphar.2021.676239

13. Challacombe D.N., Sandler M., Southgate J. Decreased duodenal monoamine oxidase activity in coeliac disease. *Arch. Dis. Child*. 1971;46(246):213–215. doi: 10.1136/adc.46.246.213

14. Niemi M., Kouvalainen K., Hjelt L. Cholinesterases and monoamine oxidase in congenital megacolon. *J. Pathol. Bacteriol.* 1961;82:363–366. doi: 10.1002/path.1700820214

15. Vinel P.K., Grobovoy S.I., Sinitskii A.I., Kolesnikov O.L. Modification of a spectrophotometric method for assessment of monoamine oxidase activity with 2,4-dinitrophenylhydrazine as a derivatizing reagent. *Anal. Biochem*. 2021;629:114294. doi: 10.1016/j.ab.2021.114294

16. Spiro H.M., Filipe M.I., Stewart J.S., Booth C.C., Pearse A. Functional histochemistry of the small bowel mucosa in malabsorptive syndromes. *Gut*. 1964;5(2):145–154. doi: 10.1136/gut.5.2.145

17. Gershon M.D., Sherman D.L., Pintar J.E. Type-specific localization of monoamine oxidase in the enteric nervous system: Relationship to 5-hydroxytryptamine, neuropeptides, and sympathetic nerves. *J. Comp. Neurol*. 1990;301(2):191–213. doi: 10.1002/cne.903010205

18. Kast R.E. Crohn's disease remission with phenelzine treatment. *Gastroenterology*. 1998;115(4):1034–1035. doi: 10.1016/s0016-5085(98)70292-6

19. Sánchez-Rodríguez R., Munari F., Angioni R., Venegas F., Agnellini A., Castro-Gil M.P., Castegna A., Luisetto R., Viola A., Canton M. Targeting monoamine oxidase to dampen NLRP3 inflammasome activation in inflammation. *Cell. Mol. Immunol.* 2020;18(5):1311–1313. doi: 10.1038/s41423-020-0441-8

20. Ostadkarampour M., Putnins E. Monoamine oxidase inhibitors: a review of their anti-inflammatory therapeutic potential and mechanisms of action. *Front. Pharmacol*. 2021;12:676239. doi: 10.3389/fphar.2021.676239

Сведения об авторах:

Винель Полина Константиновна, ORCID: 0000-0002-3745-3690, e-mail: vinelpolina@icloud.com
Синицкий Антон Иванович, д.м.н., ORCID: 0000-0001-5687-3976, e-mail: sinitskiyai@yandex.ru
Царева Валентина Викторовна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-6695-7388, e-mail: semenovatsareva@mail.ru
Грунин Александр Васильевич, ORCID: 0009-0007-9327-7779, e-mail: sasha_grunin@mail.ru
Бабошко Павел Григорьевич, ORCID: 0009-0009-2627-0459, e-mail: 9043060081@mail.ru
Аглетдинов Эдуард Феликсович, д.м.н., ORCID: 0000-0002-6256-2020, e-mail: agletdinov@vector-best.tu

Information about the authors:

Polina K. Vinel, ORCID: 0000-0002-3745-3690, e-mail: vinelpolina@icloud.com
Anton I. Sinitskii, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-5687-3976, e-mail: sinitskiyai@yandex.ru
Valentina V. Tsareva, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-6695-7388, e-mail: semenovatsareva@mail.ru
Alexandr V. Grunin, ORCID: 0009-0007-9327-7779, e-mail: sasha_grunin@mail.ru
Pavel G. Baboshko, ORCID: 0009-0009-2627-0459, e-mail: 9043060081@mail.ru
Eduard F. Agletdinov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-6256-2020, e-mail: agletdinov@vector-best.tu

Поступила в редакцию 24.09.2024
После доработки 04.10.2024
Принята к публикации 27.10.2024

Received 24.09.2024
Revision received 04.10.2024
Accepted 27.10.2024

УДК 618.3-06(616.12-008.331.1+576.344)] DOI: 10.18699/SSMJ20240621
Оригинальное исследование / Research article

Оценка рисков гипертензивных и метаболических нарушений у беременных с COVID-19

И.В. Жуковец[1], И.А. Андриевская[2], Н.А. Кривощекова[1], А.Н. Наркевич[3], Е.М. Устинов[2]

[1] Амурская государственная медицинская академия Минздрава России
675000, г. Благовещенск, ул. Горького, 95
[2] Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22
[3] Министерство здравоохранения Российской Федерации
127994, г. Москва, Рахмановский пер., 3

Резюме

Согласно данным международных исследований, COVID-19 увеличивает риск развития гипертензивных и метаболических нарушений. Цель исследования – оценить риски гипертензивных и метаболических нарушений у беременных с COVID-19 и определить возможные маркеры данных изменений. **Материал и методы.** Обследовано 265 беременных, инфицированных в первом, во втором и третьем триместрах беременности и не инфицированных COVID-19, в период с 2020 по 2022 г. Спектрофотометрическим методом проведена оценка в крови уровня глюкозы, общего холестерина, липопротеинов высокой и низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов, иммуноферментным методом – содержание окисленных ЛПНП и аполипопротеина В (апо В). **Результаты.** Гестационная артериальная гипертензия (ГАГ) у женщин с COVID-19, инфицированных во втором триместре беременности, развивалась чаще по сравнению с инфицированием в третьем триместре (в 15,7 и 6,1 % случаев соответственно, p = 0,044). Гестационный сахарный диабет (ГСД) чаще диагностирован у беременных с COVID-19 (17,2 %), чем у неинфицированных (4,0 %, p = 0,015), при этом инфицированных во втором и в третьем триместрах (17,6 и 18,9 % соответственно). У беременных с COVID-19 выявлено увеличение уровня глюкозы в 1,14 раза (p = 0,001), концентрации окисленных ЛПНП в 1,24 раза (p = 0,042) и белка апо В в 1,14 раза (p = 0,025) в сыворотке крови. **Заключение.** Инфицирование COVID-19 во втором триместре беременности увеличивает риск ГАГ в 2,56 раза, во втором и третьем триместре – риск ГСД в 4,3 раза. Повышение уровня глюкозы, окисленных ЛПНП и апо В, в сыворотке крови может иметь прогностическое значение в развитии гипертензивных нарушений.

Ключевые слова: COVID-19, беременные, гестационная артериальная гипертензия, гестационный сахарный диабет.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Жуковец И.В., e-mail: zhukovec040875@mail.ru
Для цитирования: Жуковец И.В., Андриевская И.А., Кривощекова Н.А., Наркевич А.Н., Устинов Е.М. Оценка рисков гипертензивных и метаболических нарушений у беременных с COVID-19. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):203–209. doi: 10.18699/SSMJ20240621

Risk assessment of hypertensive and metabolic disorders in pregnant women with COVID-19

I.V. Zhukovets[1], I.A. Andrievskaya[2], N.A. Krivoshchekova[1], A.N. Narkevich[3], E.M. Ustinov[2]

[1] Amur State Medical Academy of Minzdrav of Russia
675000, Blagoveshchensk, Gorkogo st., 95
[2] Far Eastern Research Center for Physiology and Pathology of Respiration
675000, Blagoveshchensk, Kalinina st., 22
[3] Ministry of Health of the Russian Federation
127994, Moscow, Rakhmanovsky ln., 3

Abstract

According to international research data, COVID-19 increases the risk of developing hypertensive and metabolic disorders. Aim of the study was to assess the risks of hypertensive and metabolic disorders in pregnant women with COVID-19 and to identify potential markers of these conditions. **Material and methods.** The study involved 265 pregnant women, infected in the first, second, and third trimesters of pregnancy, and uninfected with COVID-19, from 2020 to 2022. Spectrophotometric methods were used to evaluate blood level of glucose, total cholesterol, high- and low-density lipoprotein (LDL), and triglycerides. ELISA was used to measure content of oxidized LDL and apolipoprotein B (apo B). **Results.** Gestational arterial hypertension (GAH) developed more frequently in women with COVID-19 infected in the second trimester compared to those infected in the third trimester (15.7 and 6.1 % cases, respectively, $p = 0.044$). Gestational diabetes mellitus (GDM) was more commonly diagnosed in pregnant women with COVID-19 than in those uninfected (17.2 and 4.0 % cases, respectively, $p = 0.015$), particularly in those infected in the second and third trimesters (17.6 and 18.9 %, respectively). Pregnant women with COVID-19 showed an increase in glucose levels by 1.14 times ($p = 0.001$), oxidized LDL by 1.24 times ($p = 0.042$), and apo B protein by 1.14 times ($p = 0.025$) in blood serum. **Conclusions.** Infection with COVID-19 in the second trimester of pregnancy increases the risk of GAH by 2.56 times, and in the second and third trimesters, the risk of GDM by 4.3 times. Increase of glucose, oxidized LDL, and apo B content in blood serum may have prognostic significance in the development of hypertensive disorders.

Key words: COVID-19, pregnancy, gestational arterial hypertension, gestational diabetes mellitus.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author: Zhukovets I.V., e-mail: zhukovec040875@mail.ru
Citation: Zhukovets I.V., Andrievskaya I.A., Krivoshchekova N.A., Narkevich A.N., Ustinov E.M. Risk assessment of hypertensive and metabolic disorders in pregnant women with COVID-19. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):203–209. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240621

Введение

Гипертензивные нарушения являются наиболее распространенными заболеваниями, возникающими во время беременности, и служат ведущей причиной материнской, перинатальной заболеваемости и смертности [1, 2]. Пандемия COVID-19 внесла значимый вклад в материнскую смертность и увеличила риск сердечно-сосудистых заболеваний (отношение шансов 17, 95%-й доверительный интервал 9,6–28,8) [3]. В настоящее время описаны механизмы формирования гипертензивных нарушений во время беременности. Однако патогенез их развития сложен и многообразен. Показано значение ангиотензинпревращающего фермента 2 типа (ACE2) в развитии артериальной гипертензии, ожирения, сахарного диабета и пневмонии при COVID-19 [1, 3, 4].

Следует отметить, что во время беременности обменные процессы изменяются в соответствии с увеличением потребностей плода в энергоресурсах, главным образом в глюкозе и жирных кислотах, входящих в состав липидов [5]. В исследовании показано, что уровень общего холестерина (ХС) в крови у беременных увеличивается примерно на 50 %, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) – на 30–40 %, липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) – на 25 %, а триглицеридов (ТГ) – в 2–3 раза. При этом содержание ХС и ТГ имеет тенденцию к снижению на ранних сроках беременности с прогрессивным повышением к родам. Вероятно, механизм увеличения уровня липидов в крови у женщин во второй половине беременности связан с уменьшением чувствительности к инсулину, что может иметь значение в развитии гестационного сахарного диабета (ГСД) и гипертензивных нарушений.

В настоящее время имеются данные, что метаболические нарушения во время беременности и их неблагоприятные последствия ассоциированы с вирусными инфекциями. Цель исследования – оценить риски гипертензивных и метаболических нарушений у беременных с COVID-19 и определить возможные маркеры данных изменений.

Материал и методы

Проведено исследование 215 беременных с COVID-19 (основная группа), из них инфицированных COVID-19 в первом триместре беременности – 16, во втором – 51, в третьем – 148. Диагноз COVID-19 подтвержден положительными результатами ПЦР в режиме реального времени на наличие РНК COVID-19 в мазках со слизистой оболочки рото- и носоглотки. 50 (23,3 %) беременных в основной группе имели легкую форму течения COVID-19, 143 (66,5 %) – среднюю степень тяжести и 22 (10,2 %) – тяжелое течение заболевания. 50 беременных, не инфицированных COVID-19, составили контрольную группу.

Критериями включения для основной группы были: одноплодная беременность; COVID-19 в первом, втором или третьем триместрах беременности; клиническая симптоматика респираторного заболевания на фоне типичной клинической картины и релевантного эпидемиологического анамнеза. Критерии исключения: многоплодная беременность; обострение хронических неинфекционных заболеваний; наличие хронических неспецифических заболеваний легких; внелегочные очаги инфекций; наличие специфических заболеваний бронхолегочной системы; аномалии развития половых органов; наличие инфекций, передающихся половым путем; иммунодефицитные состояния.

Клинической базой для исследования служили городской родильный дом и инфекционный госпиталь ГАУЗ АО «Благовещенская городская клиническая больница», лабораторной – научные подразделения Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания. Все исследования выполнены в период с 2020 по 2022 г. в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации и заключением биоэтического комитета ФГБУ ВО Амурская государственная медицинская академия Минздрава России (протокол № 4 от 19.05.2021). Все исследуемые подписали письменное информированное согласие. Данные эпидемиологического анализа, клинического течения заболевания, течения беременности и родов получали при анализе обменных карт беременных, рожениц и родильниц (форма № 113/у-20), медицинских карт беременных, рожениц и родильниц, получающих медицинскую помощь в стационарных условиях (форма № 096/1у-20).

Общеклиническое исследование беременных включало определение возраста, массы тела до беременности и в первые 9 недель беременности, течение беременности по триместрам и осложнения. Клиническая форма течения заболевания учитывалась согласно методическим рекомендациям Министерства здравоохранения Российской Федерации «Организация оказания медицинской помощи беременным, роженицам, родильницам и новорожденным при новой коронавирусной инфекции COVID-19» (версия 1-5) на момент заболевания.

Содержание глюкозы в сыворотке крови определяли у всех женщин на сроке беременности 37–39 недель после 8–12-часового голодания ферментативным глюкозооксидазным методом с окислением ортотолидина. С целью исключения диагноза ГСД всем беременным в 24–26 недель проводили пероральный глюкозотолерантный тест, который включал определение содержания глюкозы в венозной крови натощак и через 120 минут после пероральной нагрузки глюкозой в количестве 75 г. Критериями диагностики ГСД служили уровень гликемии натощак в плазме венозной крови ≥ 5,1 ммоль/л.

Исследование липидного спектра в сыворотке крови проводили всем беременным на сроке 37–39 недель после 8–12-часового голодания. Содержание общего ХС, ТГ и ХС ЛПВП определяли ферментативным колориметрическим методом (набор Новохол, Вектор-Бест, г. Новосибирск), концентрацию ХС ЛПНП рассчитывали по формуле:

ХС ЛПНП = ОХС – ХС ЛПВП – (ТГ × 0,45) [6].

Концентрацию окисленных ЛПНП (набор Biomedica Medizinprodukte GmbH и Co KG, Австрия) и аполипопротеина В (апо В) (набор AssayMax, США) определяли иммуноферментным методом анализа.

Статистический анализ осуществляли с использованием программы SPSS Statistics v.19 (США). Поскольку проверка количественных данных с помощью критерия Шапиро – Уилка показала, что они не подчинялись закону нормального распределения, результаты представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей (Me [Q1; Q3]). Качественные данные представлены в виде абсолютных величин и относительных частот объектов исследования (*n*, %). Сравнение количественных данных между группами осуществляли с помощью критерия Манна – Уитни, качественных данных – с использованием критерия χ^2, χ^2 с поправкой Йейтса и точного критерия Фишера в зависимости от значений частот, полученных в процессе расчетов. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (*p*) принимали равным 0,05. Оценка факторов рисков проведена с использованием четырехпольных таблиц сопряженности, воздействие конкретного фактора риска определяли по величине относительного риска (ОР) и 95%-го доверительного интервала (ДИ). Если ДИ не включал 1, делали вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором и исходом с вероятностью ошибки $p < 0,05$.

Результаты

Брак был зарегистрирован у 147 (68,4 %) женщин в основной группе и у 29 (58,0 %) в контрольной ($p = 0,184$). Большинство исследуемых проживало в городской местности: в основной группе – 150 (69,8 %), в контрольной – 43 (86 %) ($p = 0,020$). Проживающих в селе было 7 (14,0 %) и 65 (30,2 %) женщин соответственно ($p = 0,020$). Возраст беременных в основной группе составил

30,0 (26,0; 35,0) года, что больше, чем в контрольной группе – 27,0 (23,7; 31,0) года (p = 0,010). Различий по весу женщин до беременности в исследуемых группах не выявлено (61,0 (55,5; 71,5) и 64,0 (56,0; 77,0) кг соответственно, p = 0,220). Беременность наступила самостоятельно у 211 (98,1 %) женщин в основной группе и у 48 (96 %) в контрольной, с помощью вспомогательных репродуктивных технологий – у 4 (1,9 %) и у 2 (4,0 %) соответственно (p = 0,317).

Течение беременности в первом триместре в основной и контрольной группах одинаково часто осложнялось угрожающим самопроизвольным выкидышем – у 35 (16,3 %) и у 3 (6,0 %), p = 0,073, рвотой беременных – у 11 (5,1 %) и у 2 (4,0 %), p = 0,998, и бессимптомной бактериурией – у 26 (12,1 %) и у 5 (10,0 %), p = 0,678. В основной группе у 3 (1,4 %) женщин отмечена внематочная беременность и у 10 (4,7 %) – самопроизвольный выкидыш. Во втором и в третьем триместрах беременность в основной и контрольной группах одинаково часто осложнялась отеками – у 49 (22,8 %) и у 6 (12,0 %,) p = 0,120, угрожающими родами – у 21 (9,8 %) и у 3 (6 %), p = 0,403, и задержкой роста плода – у 18 (8,4 %) и у одной (2 %) женщины (p = 0,139). Антенатальная гибель плода диагностирована у 4 (1,9 %) женщин в основной группе, повторное заражение COVID-19 – у 7 (3,3 %).

Оценка частоты распространения гипертензивных нарушений во время беременности показала, что преэклампсия развилась у 4 (2,0 %) женщин в основной группе и у 1 (0,5 %) в контрольной (p = 0,369), гестационная артериальная гипертензия (ГАГ) – у 17 (7,9 %) и у 2 (4,0 %) соответственно (p = 0,542). Значимых различий между частотой развития ГАГ и степенью тяжести COVID-19 во время беременности не выявлено (p > 0,05). У 4 (8 %) женщин с гипертензивными расстройствами COVID-19 имел легкое, у 9 (6,3 %) – среднетяжелое и у 4 (18,2 %) – тяжелое течение. ГАГ не зарегистрирована у женщин, инфицированных в первом триместре. У инфицированных во втором триместре ГАГ диагностирована в 8 (15,7 %) случаях – значимо чаще, чем при инфицировании в третьем триместре – 9 (6,1 %), p = 0,044. Установлено, что инфицирование COVID-19 во втором триместре имеет значимый риск развития ГАГ (ОР = 2,56; 95 % ДИ 1,04–6,28) по сравнению с инфицированием в третьем триместре.

ГСД развился у 37 (17,2 %) беременных основной группы (p = 0,015), что чаще в 4,3 раза (ОР = 4,30; 95 % ДИ 1,07–17,26), чем в контрольной группе (2 (4 %)). Различий между частотой ГСД, степенью тяжести COVID-19 и сроком инфицирования во время беременности у женщин в основной группе не выявлено (p > 0,05). При легкой степени COVID-19 ГСД сформировался у 5 (10,0 %), при среднетяжелой – у 27 (18,9 %) и при тяжелой – у 5 (22,7 %) беременных. ГСД выявлен у 9 (17,6 %) женщин, инфицированных во втором триместре, и у 28 (18,9 %) инфицированных в третьем триместре беременности.

Изменение показателей углеводного и липидного обмена в исследуемых группах беременных представлено в таблице. Основные различия в основной и контрольной группах проявлялись в увеличении уровня глюкозы в 1,14 раза (p = 0,001), окисленных ЛПНП в 1,24 раза (p = 0,042) и белка апо В в 1,14 раза (p = 0,025). По содержанию общего ХС (p = 0,875), ХС ЛПВП (p = 0,931), ХС ЛПНП (p = 0,871) и ТГ (p = 0,841) группы значимо не различались.

Обсуждение

Патогенез COVID-19 во многом объясняется механизмом проникновения SARS-CoV-2 и последствиями его внедрения в клетки, что предопределяет тяжесть течения заболевания и развитие неблагоприятных исходов, в том числе и у беременных [7–9]. Заражение клеток SARS-

Показатели углеводного и липидного обмена в исследуемых группах беременных

Indicators of carbohydrate and lipid metabolism in the studied groups of pregnant women

Показатель	Контрольная группа (n = 50)	Основная группа (n = 215)	p
Содержание глюкозы, ммоль/л	4,2 (3,97; 4,9)	4,8 (4,3; 5,57)	0,001
Содержание общего ХС, ммоль/л	4,6 (4,0; 5,1)	4,7 (4,1; 5,2)	0,875
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	2,63 (2,11; 2,82)	2,81 (2,31; 3,14)	0,931
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	1,33 (1,21; 1,42)	1,34 (1,21; 1,42)	0,871
Содержание ТГ, ммоль/л	1,38 (1,28; 1,47)	1,25 (1,18; 1,35)	0,841
Содержание окисленных ЛПНП, мМЕ/мл	71,9 (65,7; 101,08)	89,15 (52,5; 123,07)	0,042
Содержание апо В, нг/мл	760,0 (650,0; 960,0)	870,0 (750,0; 1170,0)	0,025

CoV-2 опосредовано ACE2 – особым ферментом, участвующим в регуляции ренин-ангиотензиновой системы (РАС). Внедрение вируса в клетки способствует угнетению функции ACE2, что вызывает дисбаланс в работе РАС, развитие вазоконстрикции, воспалительного ответа и других проявлений, связанных с действием ангиотензина II. Присутствие на эндотелии и гладкомышечных клетках сосудов ACE2 – одна из возможных причин вовлечения сердечно-сосудистой системы в системное повреждение, которое отмечается почти у всех больных COVID-19 и проявляется в виде гипертензивных нарушений [10]. По нашим данным, риск развития ГАГ у женщин с COVID-19, инфицированных во втором триместре беременности, в 2,56 раза выше, чем при инфицировании в третьем триместре.

Несмотря на высокую плотность распределения ACE2 на эндотелиальных клетках, есть данные об особенностях локализации энзима в отдельных органах и их системах [11]. В эндокринной системе ACE2 встречается во всех органах оси «гипоталамус–гипофиз–кора надпочечников» [12], тогда как его локализация в β-клетках поджелудочной железы до сих пор остается спорной. По некоторым данным, ACE2 не экспрессируется в островках Лангерганса, в отличие от эпителиальных клеток и протоках поджелудочной железы [7]. Согласно другим исследованиям, ACE2 широко представлен в субпопуляциях инсулин-продуцирующих β-клеток поджелудочной железы [13]. Однако до сих пор остается не ясным, влияет ли уровень экспрессии ACE2 на развитие COVID-19 или, наоборот, сама инфекция способствует активации фермента и повреждению поджелудочной железы.

Показано, что экспрессия ACE2 увеличивается при развитии системного воспалительного ответа, вызывающего повышение чувствительности β-клеток к SARS-CoV-2 [14], что не только облегчает проникновение вируса, но и способствует экссудации и инфильтрации иммунных клеток и провоспалительных цитокинов в ткани поджелудочной железы [13]. Все эти факторы могут вызывать нарушение функции островковых клеток, тем самым изменяя секрецию инсулина и повышая риск развития как инсулинорезистентного, так и инсулинозависимого диабета при COVID-19 [15].

Данные о влиянии SARS-CoV-2 на возникновение и течение ГСД у беременных ограничены. По имеющимся сведениям, в период пандемии COVID-19 значительно увеличилась заболеваемость ГСД среди беременных [16–18]. При физиологическом течении беременности наиболее подвержены риску развитию ГСД женщины во втором и в третьем триместрах, что связывают с недостаточной компенсацией β-клеток в ответ на формируемую в первом триместре инсулинорезистентность [19]. Наши результаты подтвердили, что ГСД значительно чаще развивался у беременных с COVID-19, чем у неинфицированных, а также у инфицированных во втором и в третьем триместрах.

Одним из механизмов развития инсулинорезистентности у беременных является увеличение циркуляции свободных жирных кислот, ХС и ТГ, которая проявляется вследствие усиления липолиза и снижения действия инсулина на клетки [20]. В третьем триместре беременности одновременно со снижением чувствительности к инсулину развивается системное вялотекущее воспаление, которое проявляется увеличением в крови уровня С-реактивного белка, провоспалительных цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α) [21, 22] и хемокинов [23]. Вполне вероятно, что беременность, сопровождающаяся развитием инсулинорезистентности и системного воспаления, а также увеличением циркуляции свободных жирных кислот в крови, может вызывать окислительный стресс в островковых клетках поджелудочной железы из-за низкой экспрессии генов ферментов антиоксидантной системы. В результате β-клетки становятся чувствительными к окислительному стрессу, что делает беременных восприимчивыми к развитию ГСД и его осложнений во время беременности (артериальная гипертензия, преэклампсия, угроза преждевременных родов).

Согласно нашему исследованию, у беременных с COVID-19 по сравнению с неинфицированными женщинами отмечалось увеличение уровня глюкозы, а также концентрации окисленных ЛПНП и белка апо В в крови, свидетельствующее о нарушении регуляции углеводного и липидного обмена, что имеет важное значение в механизме развития ГСД и ГАГ.

Заключение

На основании полученных результатов можно заключить, что при инфицировании COVID-19 во втором триместре беременности увеличивается риск ГАГ в 2,56 раза по сравнению с инфицированием в третьем триместре. Риск развития ГСД во втором и третьем триместре у инфицированных COVID-19 в 4,3 раза выше. Значимыми показателями метаболических нарушений у беременных с COVID-19 являются уровень глюкозы, окисленных ЛПНП и апо В в сыворотке крови, которые могут быть использованы в разработке прогностических критериев развития ГАГ и ГСД.

Список литературы / References

1. Khedagi A.M., Bello N.A. Hypertensive disorders of pregnancy. *Cardiol. Clin*. 2021;39(1):77–90. doi: 10.1016/j.ccl.2020.09.005

2. Барановская Е.И. Материнская смертность в современном мире. *Акушерство, гинекол. и репрод*. 2022;16(3):296–305. doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.279

Baranovskaya E.I. Maternal mortality in the modern world. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduktsiya = Obstetrics, Gynecology and Reproduction.* 2022;16(3):296–305. [In Russian]. doi: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2022.279

3. Jia G., Sowers J.R. Hypertension in diabetes: an update of basic mechanisms and clinical disease. *Hypertension*. 2021;78(5):1197–1205. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.17981

4. Чебуркин Ю.В., Сонин Д.Л., Полозов А.С., Матейкович П.А., Савочкина Е.В., Галагудза М.М. Роль мембранной и циркулирующей форм ACE 2 в развитии различных патологических процессов на фоне COVID-19. *Артериал. гипертензия*. 2021;27(6):608–616. doi: 10.18705/1607-419X-2021-27-6-608-616

Cheburkin Yu.V., Sonin D.L., Polozov A.S., Mateykovich P.A., Savochkina E.V., Galagudza M.M. The role of membrane and circulating forms of ACE 2 in pathological processes in COVID-19 infection. *Arterial'naya gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2021;27(6):608–616. [In Russian]. doi: 10.18705/1607-419X-2021-27-6-608-616

5. Effect of pregnancy on lipid metabolism and lipoprotein levels. *In: Endotext [Internet].* South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK498654/

6. Fridwald W.T., Levy R.J., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density-lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinic. Chem*. 1972;18(6):499–502.

7. Steenblock C., Schwarz P.E.H., Ludwig B., Linkermann A., Zimmet P., Kulebyakin K., Tkachuk V.A., Markov A.G., Lehnert H., de Angelis M.H., … Bornstein S.R. COVID-19 and metabolic disease: mechanisms and clinical management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2021;9(11):786–798. doi: 10.1016/S2213-8587(21)00244-8

8. Петрищев Н.Н., Халепо О.В., Вавиленкова Ю.А., Власов Т.Д. COVID-19 и сосудистые нарушения (обзор литературы). *Регионар. кровообращ. и микроциркуляция*. 2020;19(3):90–98. doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-90-98

Petrishchev N.N., Khalepo O.V., Vavilenkova Yu.A., Vlasov T.D. COVID-19 and vascular disorders (literature review). *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya = Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2020;19(3):90–98. [In Russian]. doi: 10.24884/1682-6655-2020-19-3-90-98

9. Жуковец И.В., Андриевская И.А., Кривощекова Н.А., Смирнова Л.С., Петрова А.П., Харченко М.В., Никачало Д.А. Первые последствия пандемии COVID-19: осложнения беременности, здоровье новорожденных и ожидаемые репродуктивные потери. *Бюл. физиол. и патол. дыхания*. 2022;(84):77–85. doi: 10.36604/1998-5029-2022-84-77-85

Zhukovets I.V., Andrievskaya I.A., Krivoshchekova N.A., Smirnova L.S., Petrova A.P., Kharchenko M.V., Nikachalo D.A. First effects of the COVID-19 pandemic: pregnancy complications, newborn health, and expected reproductive losses. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya = Bulletin of Physiology and Pathology of Respiration*. 2022;(84):77–85. [In Russian]. doi: 10.36604/1998-5029-2022-84-77-85

10. Зураева З.Т., Викулова О.К., Малышева Н.М., Никанкина Л.В., Зайцева Н.В., Сухарева О.Ю., Шамхалова М.Ш., Шестакова М.В., Мокрышева Н.Г. Влияние компонентов ренин-ангиотензиновой системы, полиморфизма rs2106809 гена *ACE2* и терапии блокаторами РАС на тяжесть течения COVID-19. *Пробл. эндокринол*. 2023;69(4):21–31. doi: 10.14341/probl13274

Zuraeva Z.T., Vikulova O.K., Malysheva N.M., Nikankina L.V., Zaitseva N.V., Sukhareva O.Yu., Shamkhalova M.Sh., Shestakova M.V., Mokrysheva N.G. Effect of components of the renin-angiotensin system, rs2106809 polymorphism of the ACE2 gene, and therapy with RAS blockers on the severity of COVID-19. *Problemy endocrinologii = Problems of Endocrinology*. 2023;69(4):21–31. [In Russian]. doi: 10.14341/probl13274

11. Coto E., Avanzas P., Gómez J. The renin-angiotensin-aldosterone system and coronavirus disease 2019. *Eur. Cardiol.* 2021;16:e07. doi: 10.15420/ecr.2020.30

12. Lv Q., Yang Q., Cui Y., Yang J., Wu G., Liu M., Ning Z., Cao S., Dong G., Hu J. Effects of taurine on ACE, ACE2 and HSP70 expression of hypothalamic-pituitary-adrenal axis in stress-induced hypertensive rats. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;975 Pt 2:871–886. doi: 10.1007/978-94-024-1079-2_69

13. Deng W., Bao L., Song Z., Zhang L., Yu P., Xu Y., Wang J., Zhao W., Zhang X., Han Y., … Qin C. Infection with SARS-CoV-2 can cause pancreatic impairment. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2024;9:98. doi: 10.1038/s41392-024-01796-2

14. Fignani D., Licata G., Brusco N., Nigi L., Grieco G.E., Marselli L., Overbergh L., Gysemans C., Colli M.L., Marchetti P., … Dotta F. SARS-CoV-2 receptor angiotensin I-converting enzyme type 2 (ACE2) is expressed in human pancreatic β-cells and in the human pancreas microvasculature. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2020;11:596898. doi: 10.3389/fendo.2020.596898

15. van der Heide V., Jangra S., Cohen P., Rathnasinghe R., Aslam S., Aydillo T., Geanon D., Handler D.,

Kelly G., Lee B., … Homann D. Limited extent and consequences of pancreatic SARS-CoV-2 infection. *Cell Rep.* 2022;38(11):110508. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110508

16. Zanardo V., Tortora D., Sandri A., Severino L., Mesirca P., Straface G. COVID-19 pandemic: Impact on gestational diabetes mellitus prevalence. *Diabetes Res. Clin. Pract*. 2022;183:109149. doi: 10.1016/j.diabres.2021.109149

17. Jiang L., Tang K., Magee L.A., von Dadelszen P., Ekeroma A., Li X., Zhang E., Bhutta Z.A. A global view of hypertensive disorders and diabetes mellitus during pregnancy. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2022;18(12):760–775. doi: 10.1038/s41574-022-00734-y

18. Yefet E., Bejerano A., Iskander R., Zilberman Kimhi T., Nachum Z. The association between gestational diabetes mellitus and infections in pregnancy-systematic review and meta-analysis. *Microorganisms*. 2023;11(8):1956. doi: 10.3390/microorganisms11081956

19. Usman T.O., Chhetri G., Yeh H., Dong H.H. Beta-cell compensation and gestational diabetes. *J. Biol. Chem*. 2023;299(12):105405. doi: 10.1016/j.jbc.2023.105405

20. Barbour L.A., McCurdy C.E., Hernandez T.L., Kirwan J.P., Catalano P.M., Friedman J.E. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30 Suppl 2:S112-9. doi: 10.2337/dc07-s202

21. Parisi F., Milazzo R., Savasi V.M., Cetin I. Maternal low-grade chronic inflammation and intrauterine programming of health and disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2021;22(4):1732. doi: 10.3390/ijms22041732

22. Xuan Nguyen K., Bui Minh T., Dinh H.T., Viet Tran T., Dinh Le T., Phi Thi Nguyen N., Tran T.T.H., Hien Vu T., Ho Thi Nguyen L., Trung Nguyen K., … Tien Nguyen S. Low-grade inflammation in gestational diabetes mellitus and its correlation with maternal insulin resistance and fetal growth indices. *Int. J. Gen. Med*. 2023;16:1429–1436. doi: 10.2147/IJGM.S408856

23. Liu H., Liu A., Kaminga A.C., McDonald J., Wen S.W., Pan X. Chemokines in gestational diabetes mellitus. *Front. Immunol*. 2022;13:705852. doi: 10.3389/fimmu.2022.705852

Сведения об авторах:

Жуковец Ирина Валентиновна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-0555-848X, e-mail: zhukovec040875@mail.ru
Андриевская Ирина Анатольевна, д.б.н., проф. РАН, ORCID: 0000-0003-0212-0201, e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru
Кривощекова Наталья Анатольевна, ORCID: 0000-0001-9345-1553, e-mail: ob-gim@bgkb.ru
Наркевич Артем Николаевич, д.м.н., ORCID: 0000-0002-1489-5058, e-mail: narkevichart@gmail.com
Устинов Егор Михайлович, ORCID: 0000-0002-6235-8732, e-mail: eustinov.asma@gmail.ru

Information about the authors:

Irina V. Zhukovets, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-0555-848X, e-mail: zhukovec040875@mail.ru
Irina A. Andrievskaya, doctor of biological sciences, professor of RAS, ORCID: 0000-0003-0212-0201, e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru
Natalya A. Krivoshchekova, ORCID: 0000-0001-9345-1553, e-mail: ob-gim@bgkb.ru
Artem N. Narkevich, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-1489-5058, e-mail: narkevichart@gmail.com
Egor M. Ustinov, ORCID: 0000-0002-6235-8732 e-mail: eustinov.asma@gmail.ru

Поступила в редакцию 04.07.2024
После доработки 12.09.2024
Принята к публикации 17.11.2024

Received 04.07.2024
Revision received 12.09.2024
Accepted 17.11.2024

УДК 616.1 DOI: 10.18699/SSMJ20240622
Оригинальное исследование / Research article

Возможности метода бесконтрастной перфузионной МРТ в количественной оценке изменений церебрального кровотока

В.В. Попов[1, 2], Ю.А. Станкевич[1, 2], О.Б. Богомякова[1, 2], А.А. Тулупов[1, 2]

[1] *Институт «Международный томографический центр» СО РАН*
630090, г. Новосибирск, ул. Институтская, 3а
[2] *Новосибирский государственный университет*
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1

Резюме

Бесконтрастная МР-перфузия (arterial spin labeling, ASL) позволяет оценивать перфузию исследуемых тканей, имея существенные преимущества в виде неинвазивности и возможности неоднократного повторения исследования, что дает возможность осуществлять динамическое наблюдение за пациентом без контрастной нагрузки. Одной из самых перспективных тенденций современных исследований является оценка перфузионных изменений головного мозга при диагностике ишемического инсульта (ИИ). Цель исследования – провести комплексную динамическую оценку перфузионных изменений головного мозга у пациентов в раннем постинсультном восстановительном периоде и условно-здоровых добровольцев методом ASL. **Материал и методы.** Осуществлено проспективное наблюдение двух групп исследуемых; в группу контроля вошли 20 условно здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 25 лет (21,8 ± 2,6 года) (среднее арифметическое ± стандартное отклонение), в группу патологии – 20 человек с верифицированным ИИ в возрасте от 40 до 70 лет (59,4 ± 9,2 года) на 1–3-и, 7–10-е сутки и спустя 3 месяца после манифестации заболевания. Интегрально оценены показатели перфузии серого и белого вещества долей больших полушарий головного мозга (теменная, затылочная, лобная, височная), рассчитаны значения перфузии в ипси- и контралатеральных относительно очага инсульта областях интереса. **Результаты и их обсуждение.** У пациентов с ИИ очаг инсульта имеет нелинейную динамику изменений перфузии с 19,86 ± 5,69 мл/100 г/мин на 1–3-и сутки, повышением показателя до 27,57 ± 4,86 мл/100 г/мин на 7–10-е сутки и уменьшением до 14,48 ± 3,66 мл/100 г/мин к 3–4-му месяцу, оставаясь в пределах низких значений по сравнению с визуально-интактными областями и контрольной группой. Перфузия в визуально-интактной области ипсилатерального по отношению к очагу инсульта полушария на 1–3-и и 7–10-е сутки статистически значимо ($p < 0,05$) снижена по сравнению с другими областями интереса на 4–5 %. При этом наблюдается плавное нарастание значений перфузии во всех анализируемых объемных областях от первого исследования к третьему. **Заключение.** Методика ASL позволяет количественно оценивать динамику церебральной перфузии раннего восстановительного периода с регистрацией статистически значимого снижения ($p < 0,001$) тканевого кровотока в очаге ишемии относительно анализируемых областей интереса головного мозга и контрольной группы. Интактная область в ипсилатеральном по отношению к очагу инсульта полушарии имеет плавную динамику роста от гипоперфузии к нормоперфузии, что связано с вовлечением мозга как органа в целом и постепенным восстановлением его перфузионной характеристики.

Ключевые слова: ишемический инсульт, бесконтрастная перфузия, ASL, pCASL, CBF.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проведено при поддержке Минобрнауки России (гос. задание: 1023110800234-5-3.2.25;3.1.4;3.2.12, «Изучение процессов постинсультной структурно-функциональной реорганизации головного мозга современными методами нейровизуализации»).

Автор для переписки: Попов В.В., e-mail: popov.v@tomo.nsc.ru

Для цитирования: Попов В.В., Станкевич Ю.А., Богомякова О.Б., Тулупов А.А. Возможности метода бесконтрастной перфузионной МРТ в количественной оценке изменений церебрального кровотока. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):210–217. doi: 10.18699/SSMJ20240622

The possibilities of the non-contrast MRI perfusion in the quantitative assessment of changes in cerebral blood flow

V.V. Popov[1, 2], Yu.A. Stankevich[1, 2], O.B. Bogomyakova[1, 2], A.A. Tulupov[1, 2]

[1] *International Tomography Center of SB of RAS*
630090, Novosibirsk, Institutskaya st., 3a
[2] *Novosibirsk State University*
630090, Novosibirsk, Pirogova st., 2

Abstract

Arterial spin labeling (ASL) allows the assessment of tissue perfusion and has advantages such as non-invasiveness and the ability to repeat examinations multiple times. This enables dynamic monitoring without contrast administration. This technique requires additional pre- and post-processing, complicating result acquisition. A promising trend is the assessment of brain perfusion changes for diagnosing ischemic stroke. Aim of the study was to evaluate a comprehensive dynamic perfusion change in the brain in patients in the early post-stroke recovery period and conditionally healthy volunteers by the ASL. **Material and Methods.** A prospective observation of two groups was performed. The control group included 20 conditionally healthy volunteers aged from 18 to 25 years (21.8 ± 2.65 years) (mean ± standard error of the mean), the study group – 20 patients with verified ischemic stroke aged from 40 to 70 years (59.4 ± 9.2 years) on days 1–3, 7–10, and three months after disease onset. Perfusion indicators of gray and white matter of the lobes of the cerebral hemispheres (parietal, occipital, frontal, temporal) in visually intact areas of the brain were integrally evaluated. Perfusion values were also calculated in ipsilateral and contralateral regions of interest relative to the stroke focus. **Results and discussion.** The stroke focus shows a nonlinear dynamic of changes, starting from 19.86 ± 5.69 ml/100 g/min on days 1–3, increasing to 27.57 ± 4.86 ml/100 g/min on days 7–10, and decreasing to 14.48 ± 3.66 ml/100 g/min by the 3–4 month, remaining low compared to visually intact areas and the control group. Perfusion in the visually intact area of the ipsilateral hemisphere in relation to the stroke focus is significantly ($p < 0.05$) reduced by 4–5 % on days 1–3 and 7–10 compared to other regions of interest. Meanwhile, there is a gradual increase in perfusion values in all analyzed regions from the first to the third examination. **Conclusions.** The ASL method allows for the quantitative assessment of the dynamics of cerebral perfusion in the early recovery period, with a significant ($p < 0.001$) reduction in tissue blood flow in the ischemic focus relative to the analyzed regions of interest and the control group. The intact area in the ipsilateral hemisphere in relation to the stroke focus shows dynamic growth from hypoperfusion to normoperfusion, which is related to the involvement of the brain as a whole organ.

Key words: ischemic stroke, contrast-free perfusion, ASL, pCASL, CBF.

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

Financing. The study was supported by Ministry of Education and Science of Russia (1023110800234-5-3.2.25;3.1.4;3.2.12, “Studying the processes of post-stroke structural and functional reorganization of the brain using modern neuroimaging methods”).

Correspondence author: Popov V.V., e-mail: popov.v@tomo.nsc.ru

Citation: Popov V.V., Stankevich Yu.A., Bogomyakova O.B., Tulupov A.A. The possibilities of the non-contrast MRI perfusion in the quantitative assessment of changes in cerebral blood flow. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):210–217. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240622

Введение

Бесконтрастная МР-перфузия (arterial spin labeling, ASL) является развивающейся методикой, которая позволяет оценивать и анализировать перфузионные свойства тканей, а также исследовать изменения церебральной перфузии на фоне проводимого лечения [1]. В настоящее время разработано несколько вариантов импульсных последовательностей ASL: импульсная, непрерывная, псевдонепрерывная (pseudocontinuous ASL, pCASL) и скорость-селективная. Последовательность pCASL показала себя наиболее оптимальной в качественной и количественной оценке перфузии головного мозга при различных структурно-функциональных поражениях [2, 3]. Одной из самых перспективных тенденций современных исследований является оценка перфузионных изменений головного мозга в диагностике ишемического инсульта (ИИ) [4, 5], объемных образований [2], а также рассеянного склероза [6, 7]. Неоспоримыми преимуществами ASL являются отсутствие лучевой нагрузки и неивазивность, как следствие, отсутствие необходимости в контрастном препарате и осложнений. Это особенно актуально для пациентов с тяжелыми острыми или хроническими заболеваниями [3], поскольку позволяет выполнять неоднократные динамические наблюдения при необходимости. Среди недостатков данной методики – большая чувствительность к артефактам (стоматологические металлоконструкции, движение, неоднородности магнитного поля), относительно маленькое соотношение сигнал/шум, невысокое пространственное разрешение, отсутствие стандартизированных алгоритмов постобработки и получения количественных значений. Последнее обусловли-

вает необходимость создания клинически применимого алгоритма получения и обработки количественных результатов перфузии.

Применение метода ASL при ИИ позволяет не только количественно оценить изменение перфузии головного мозга в динамике, но и сформировать прогноз, скорректировать лечение и реабилитацию. Величина мозгового кровотока (cerebral blood flow, CBF) больше у пациентов с конечным благоприятным исходом, что отмечается в публикациях, демонстрирующих высокую ценность метода в диагностике ИИ [8–10]; эффективность методики подтверждена у пациентов с РС [11]. ASL может обеспечить потенциально новые показатели исхода, особенно при прогрессирующем РС, характеризующемся более выраженным снижением показателей перфузии при динамическом наблюдении [12]. ASL также позволяет оценивать нарушение микроциркуляции у пациентов с клиникой рецидивирующего РС и может выявлять изменения в перфузионной характеристике их головного мозга даже при отсутствии структурных изменений [13].

Цель исследования – провести комплексную динамическую оценку перфузионных изменений головного мозга у пациентов в раннем постинсультном восстановительном периоде и условно здоровых добровольцев методом ASL.

Материал и методы

Выполнено проспективное наблюдение двух групп исследуемых. В группу контроля вошли 20 условно здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 25 лет (21,8 ± 2,6 года), без признаков объемно-очаговых патологий головного мозга. В группу патологии включены 20 человек в возрасте от 40 до 70 лет (59,4 ± 9,2 года) с подтвержденным диагнозом ИИ на 1–3-и сутки (первое исследование), 7–10-е сутки (второе исследование) и спустя 3 месяца (третье исследование) после манифестации заболевания. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Международного томографического центра СО РАН, участники подписали добровольное информированное согласие. Исследование проводилось на МР-томографе с напряженностью магнитного поля 3,0 Тл, использован рутинный протокол сканирования (включающий Т1-ВИ, Т2-ВИ, FLAIR, DWI), дополненный последовательностью pCASL (табл. 1). Данные тщательно сортировали и интерпретировали: исключены лица с выраженными/некорректируемыми артефактами от движений и стоматологических металлоконструкций.

В связи с существующими сложностями постобработки данных для анализа выбрано программное обеспечение BASIL с дополнением пакета сегментации Т1-ВИ на основе плагина FSLanat. Данное приложение не поддерживает встроенную конвертацию DICOM-файлов в необходимый для анализа Niifti-формат, что требует дополнительных этапов постобработки. На первом этапе для отбора изображений использовали Radiant, в дальнейшем применяли MRICroGL для конвертации данных. Вторым этапом осуществлена загрузка данных в приложение BASIL: нативных source-ASL изображений (1600 ед.), а также Т1-ВИ (181 ед.) и изображений протонной плотности (20 ед.) с учетом выбранных параметров и значений (см. табл. 1). Следующим этапом являлись реслайсинг, калибровка с протонной плотностью и корегистрация получаемых нативных CBF-карт с Т1-ВИ в пакете FSLanat с получением значений согласно анатомическим атласам (286 размеченных зон) [14].

Таблица 1. *Параметры pCASL*

Table 1. *Pseudo continuous Arterial Spin Labeling (pCASL) parameters*

Параметр	Значение
FOV	240×240×99
Matrix	88×88
Slices	20
TR	4550
TE	16
Gap	1
Dynamics	40
Fast Imaging mode	EPI
Voxel	2.73×2.73×5.00
Label duration (LD)	1800
Post labeling delay (PLD)	1800 (контроль); 2000 (ИИ)

У обследованных обеих групп выполняли интегральную оценку серого и белого вещества визуально интактных областей головного мозга в полуавтоматическом режиме с выделением лобной, теменной, затылочной и височной долей по данным корегистрированного анатомического атласа. При разметке исключали область инсульта и ликворные пространства с целью нивелирования их вклада в значения перфузии. У пациентов с ИИ оценивали CBF в четырех областях интереса (рис. 1): очаг ишемии (CBF stroke, CBFs), интактная область в ипсилатеральном полушарии (CBF ipsilateral, CBFi), интактная область в контралатеральном полушарии (CBF contralateral, CBFc), интактная область в диагонально отдаленном контралатеральном полушарии (CBF farthest, CBFf).

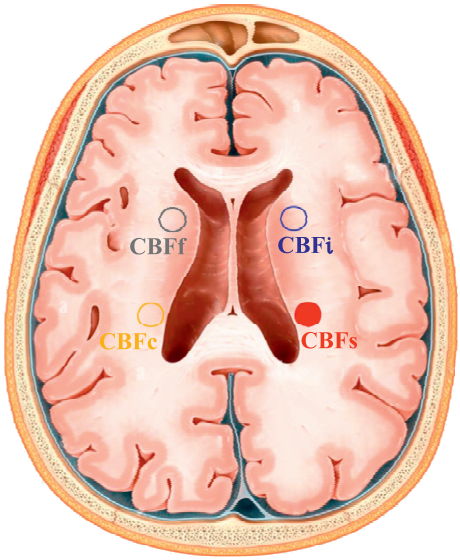


Рис. 1. *Схема расположения анализируемых областей интереса (ROI)*

Fig. 1. *The scheme of the analyzed region of interest (ROI)*

Объемный участок на интересующих срезах выделяли с необходимой корректировкой границ интактной и пораженной мозговой ткани. В область интереса включали пораженное белое и серое вещество подкорковых структур головного мозга, без учета ликворосодержащих пространств, что дополнительно требовало использование коррекции частичного объема (partial volume correction, PVC), при котором CBF серого вещества оценивается в каждом вокселе путем регрессии объемов серого и белого вещества из изображений перфузии [15, 20].

Статистическую обработку проводили в программах: STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США) и Microsoft Excel в пакете Microsoft Office (Microsoft, США). Проверку нормальности распределения изучаемых количественных показателей оценивали с помощью критерия Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка, а также построением нормальных вероятностных графиков, оценки асимметрии, эксцесса и стандартной ошибки асимметрии, эксцесса. После определения нормальности распределения, а также с учетом выборки применяли параметрическую статистику для независимых выборок. Переменные представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратического отклонения (M ± SD), для оценки различий использовали t-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты

Выполнен проспективный анализ 20 условно здоровых добровольцев с построением индивидуальных карт перфузии головного мозга, корегистрированных по данным Т1-ВИ со значениями pCASL, что позволяло произвести качественную и количественную оценку характеристики мозгового кровотока, а также определить наличие патологических областей снижения показателей перфузии (рис. 2, табл. 2).

Выполнено трехкратное динамическое наблюдение пациентов с ИИ и построены карты церебральной перфузии для каждого из наблюдений (рис. 3). В группе патологии получены значения церебральной перфузии областей по аналогии с группой контроля, а также отдельно изучено индивидуальное изменение церебральной перфузии в зонах интереса – в очаге инсульта (CBFs), ипсилатерально (CBFi) и контралатерально (CBFc и CBFf). Выявлено статистически значимое ($p < 0{,}001$) диффузное снижение показателей перфузии во всех анализируемых долях головного

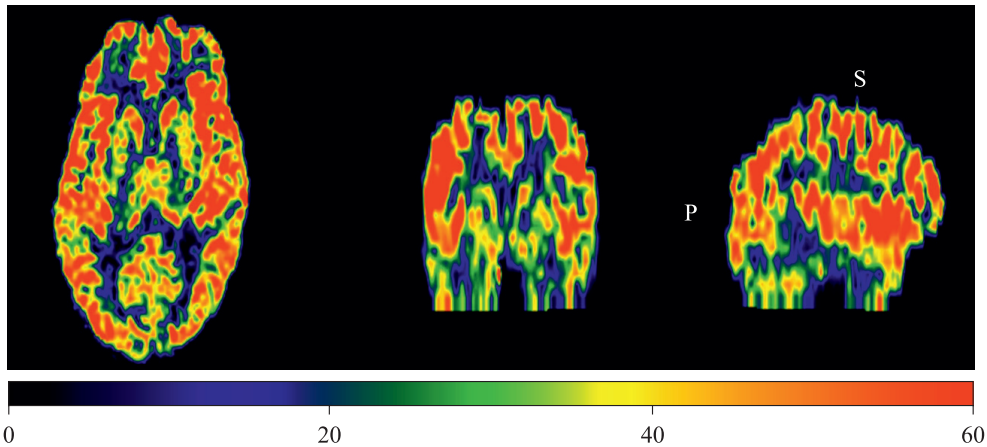


Рис. 2. *Карта бесконтрастной перфузии здорового добровольца по данным pCASL*

Fig. 2. *Non-contrast MR perfusion map of a healthy volunteer by pCASL data*

Таблица 2. *Показатели перфузии областей головного мозга контрольной группы и группы патологии по данным pCASL (CBF, мл/100г/мин)*

Table 2. *Perfusion values of the brain regions of control group and of the study group by pCASL*

Группа	Область интереса	Теменные доли	Затылочные доли	Лобные доли	Височные доли
Группа контроля	Серое вещество	46,7 ± 3,17	46,4 ± 2,44	47,9 ± 3,90	45,8 ± 2,79
	Белое вещество	18,54±3,22 ($p > 0,05$)			
Пациенты с ИИ (1–3-и сутки)	Серое вещество	35,72 ± 3,64*	36,90 ± 2,60*	37,2 ± 3,4*	36,86 ± 3,4*
	Белое вещество	18,02±3,86 ($p > 0,05$)			

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя группы контроля статистически значимо при $p < 0,001$.

мозга (лобные, теменные, височные, затылочные) в пределах 15 % у больных ИИ относительно контрольной группы (см. табл. 2). При этом белое вещество головного мозга было оценено суммарно во всех долях головного мозга, без значимых различий между группами ($p > 0,05$).

При анализе зон интереса в группе патологии выявлено, что в очаге ишемии происходит повышение значений перфузии от первого (1–3-и сутки) ко второму (7–10 дней) наблюдению, оставаясь статистически значимо меньше контроля, к третьему наблюдению (3-й месяц) величина CBFs становится меньше исходной. При этом в очаге ишемии CBFs значимо меньше ($p < 0,001$), чем в других анализируемых областях интереса и в контрольной группе, на протяжении трех исследований (рис. 4). Выявлено, что CBFi на 1–3-и и 7–10-е сутки после манифестации заболевания достоверно ($p < 0,05$) снижено по сравнению с другими областями интереса в пределах 4–5 %. При этом наблюдается плавное нарастание значений перфузии во всех анализируемых объемных областях от первого исследования к третьему.

Обсуждение

В литературе представлен ряд исследований, где отмечается, что значения перфузии у условно здоровых добровольцев может варьировать в зависимости как от технических и параметрических характеристик оборудования и исследования, так и от индивидуальных особенностей обследуемого: пол, возраст, наличие стрессового состояния, церебро- и кардиоваскулярные заболевания, что подтверждает необходимость проведения дальнейших крупных когортных исследований [16, 17]. Отмечается разброс определяемых нормальных значений перфузии серого и белого вещества от 65,38 ± 4,0 и 20,78 ± 2,2 [18], до 48,02 ± 7 и 21,50 ± 4,61 мл/100 г/мин [19] соответственно, с большей вариабельностью для серого вещества. В нашем исследовании у лиц контрольной группы значения перфузии серого и белого вещества составили 46,70 ± 3,12 и 18,54 ± 3,22 мл/100 г/мин соответственно, что согласуется с полученными другими исследователями [20, 21] и подтверждает эффективность и надежность применяемого алго-

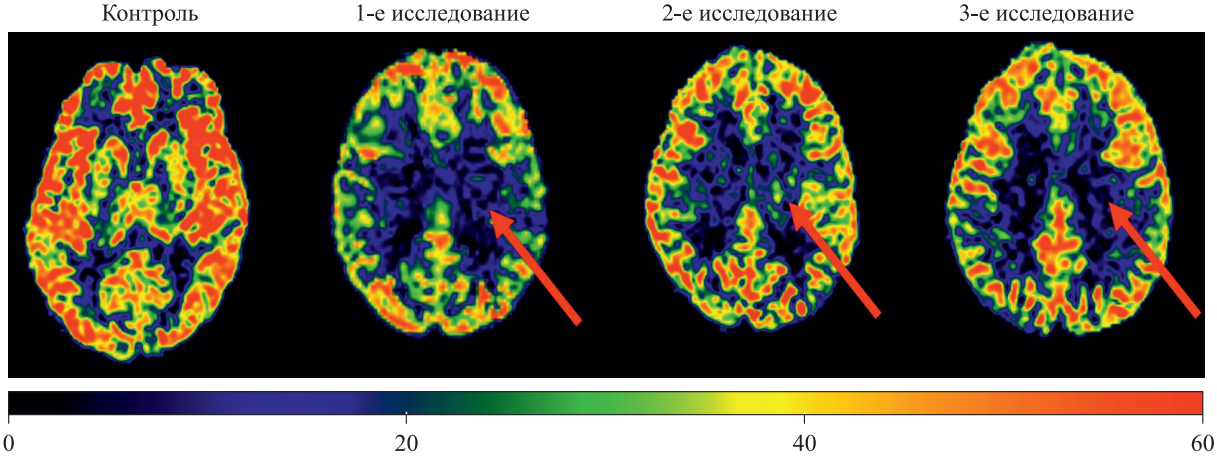


Рис. 3. *Карта бесконтрастной перфузии здорового добровольца и пациента с ИИ (1–3 исследование). Красная стрелка – очаг ишемии в динамическом наблюдении*

Fig. 3. *Non-contrast MR perfusion map of a healthy volunteer and a patient with ischemic stroke (for 1–3 studies). The red arrow indicates the focus of ischemia in dynamic observation*

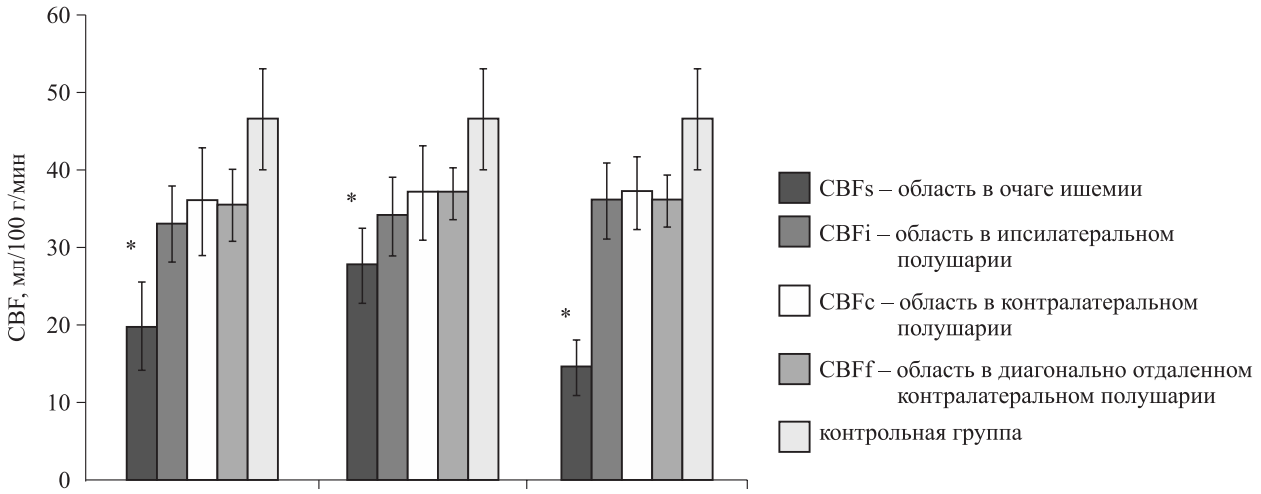


Рис. 4. *Динамическое изменение показателей перфузии у лиц контрольной группы и пациентов с ИИ по данным pCASL при 1-м (а), 2-м (б) и 3-м исследовании (в); * – отличие от величины соответствующего показателя визуально интактных областей и группы контроля статистически значимо при p < 0,001*

Fig. 4. *Dynamic changes in perfusion characteristics in control group subjects and patients with ischemic stroke according to pCASL data in the 1st (a), 2nd (б) and 3rd study (в); * – the difference from the value of the corresponding indicator of visually intact areas and the control group is statistically significant at p < 0.001*

ритма [22] для получения количественных значений перфузии [23, 24].

При анализе перфузии серого и белого вещества головного мозга у исследуемой группы пациентов с ИИ выявлено диффузное снижение показателей во всех анализируемых долях головного мозга (лобные, теменные, височные, затылочные) в пределах 15 % относительно контрольной группы. Показан значимый вклад фактора возраста в изменение церебральной перфузии [25], необходимы дальнейшие исследования для определения корреляции выявленных изменений между возрастными особенностями и патологическим состоянием. Тем не менее множество научных публикаций подтверждает выявленную плавную однонаправленную динамику роста показателей перфузии визуально-интактного серого и белого вещества головного мозга в процессе восстановления пациента [26, 27].

Анализ динамики перфузии в очаге ишемии относительно других объемных областей позволил установить, что значения CBFs достоверно снижаются до 45, 24 и 60 % для первого, второго и третьего наблюдения соответственно. При этом наблюдаемое повышение значений в очаге ишемии от первого ко второму исследованиям, очевидно, связано с результатом терапевтических мероприятий и этиопатогенетическими механизмами течения ИИ и выражается в компенсаторном усилении микроциркуляции на фоне реперфузионной терапии, а также местными воспалительными реакциями в области ишемии, повышением проницаемости сосудов, диапедезным пропитыванием кровью и экстравазацией жидкостного компонента, что в конечном итоге приводит к повышению показателей перфузии во втором наблюдении [28, 29]. К третьему исследованию показатели перфузии в очаге ишемии уменьшаются, что связано с глиозно-атрофической трансформацией области поражения [30].

Достоверное снижение величины CBFi в первом и втором наблюдениях относительно других анализируемых областей интереса в пределах 4–5 %, вероятно, связано с вовлечением в патологическое состояние не только визуализируемых пораженных участков, но и головного мозга как органа в целом. При анализе показателей контралатерального полушария CBFc и CBFf также наблюдается плавное линейное нарастание значений перфузии от первого исследования к третьему [31]. При этом значения CBFi, CBFc, CBFf меньше величин контрольной группы в анатомически схожих ориентирах, что, вероятно, связано с возрастными изменениями показателей перфузии или патологическим состоянием и требует дальнейшего изучения [32].

Заключение

Методика ASL позволяет количественно оценивать динамику церебральной перфузии раннего восстановительного периода с регистрацией снижения ($p < 0{,}001$) тканевого кровотока (на 45 % для первого, 24 % для второго, 60 % для третьего исследований) в очаге ишемии от-

носительно анализируемых объемных областей головного мозга и контрольной группы. Интактная область в ипсилатеральном очагу инсульта полушарии имеет плавную динамику роста от гипоперфузии к нормоперфузии, что связано с вовлечением мозга как органа в целом и постепенным восстановлением его перфузионной характеристики. Существующие преимущества и недостатки метода ASL обязывают относиться к полученным результатам с должной осторожностью, однако описанные в литературе данные по его достоверности и эффективности позволяют сказать о несомненной значимости метода при проведении диагностических мероприятий, верификации патологических ишемических состояний, а также в комплексной оценке эффективности лечения и формирования прогноза пациента. Рекомендуется проводить калибровку и получать надежные референсные значения ASL-перфузии на конкретном МР-оборудовании. Несмотря на существующие преимущества и недостатки данного метода, ASL обладает высокой потенциальной ценностью для применения в различных клинических ситуациях.

Список литературы / References

1. Alsop D., Detre J., Golay X., Günther M., Hendrikse J., Hernandez-Garcia L., Lu H., MacIntosh B., Parkes L., Smits M., … Zaharchuk G. Recommended implementation of arterial spin-labeled perfusion MRI for clinical applications: A consensus of the ISMRM perfusion study group and the European consortium for ASL in dementia. *Magn. Reson. Med.* 2015;73(1):102–116. doi: 10.1002/mrm.25197

2. Telischak N., Detre J., Zaharchuk G. Arterial spin labeling MRI: clinical applications in the brain. *J. Magn. Reson. Imaging.* 2015;41(5):1165–1180. doi: 10.1002/jmri.24751

3. Taso M., Alsop D. Arterial spin labeling perfusion imaging. *Magn. Reson. Imaging. Clin. N. Am.* 2024;32(1):63–72. doi: 10.1016/j.mric.2023.08.005

4. Wang D. Editorial for "Arterial Spin Labeling Estimation of Penumbral Tissue in Acute Ischemic Stroke". *J. Magn. Reson. Imaging.* 2023;57(4):1248–1249. doi: 10.1002/jmri.28389

5. Daftari Besheli L., Ahmed A., Hamam O., Luna L., Sun L., Urrutia V., Hillis A., Tekes-Brady A., Yedavalli V. Arterial Spin Labeling technique and clinical applications of the intracranial compartment in stroke and stroke mimics. *Neuroradiol. J.* 2022;35(4):437–453. doi: 10.1177/19714009221098806

6. Ota M., Sato N., Nakata Y., Ito K., Kamiya K., Maikusa N., Ogawa M., Okamoto T., Obu S., Noda T., … Kunugi H. Abnormalities of cerebral blood flow in multiple sclerosis: a pseudocontinuous arterial spin labeling MRI study. *Magn. Reson. Imaging.* 2013;31(6):990–995. doi: 10.1016/j.mri.2013.03.016

7. Lapointe E., Li D., Traboulsee A., Rauscher A. What have we learned from perfusion MRI in multiple sclerosis? *AJNR Am J Neuroradiol*. 2018;39(6):994–1000. doi: 10.3174/ajnr.A5504

8. Zaharchuk G. Arterial spin-labeled perfusion imaging in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2014;45(4):1202–1207. doi: 10.1161/strokeaha.113.003612

9. Reinoud B., Daymara H., José M., Raymond M., Matthias O., Jeroen H., Steven W., Lawrence L.; National Institutes of Health Stroke Natural History Investigators. Whole-brain arterial spin labeling perfusion MRI in patients with acute stroke. *Stroke.* 2012;43(5):1290–1294. doi: 10.1161/strokeaha.110.589234

10. Huang Y., Liu H., Lee J., Yang J., Weng H., Lee M., Yeh M.Y., Tsai Y.H. Comparison of arterial spin labeling and dynamic susceptibility contrast perfusion MRI in patients with acute stroke. *PLoS One.* 2013;8(7):e69085. doi: 10.1371/journal.pone.0069085

11. Narayana P., Zhou Y., Hasan K., Datta S., Sun X., Wolinsky J. Hypoperfusion and T1-hypointense lesions in white matter in multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 2014;20(3):365–373. doi: 10.1177/1352458513495936

12. Hojjat S., Cantrell C., Vitorino R., Feinstein A., Shirzadi Z., MacIntosh B., Crane D., Zhang L., Morrow S., Lee L., … Aviv R. Regional reduction in cortical blood flow among cognitively impaired adults with relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Mult. Scler.* 2016;22(11):1421–1428. doi: 10.1177/1352458515622696

13. Mascali D., Villani A., Chiarelli A., Biondetti E., Lipp I., Digiovanni A., Pozzilli V., Caporale A., Rispoli M., Ajdinaj P., … Wise R.G. Pathophysiology of multiple sclerosis damage and repair: Linking cerebral hypoperfusion to the development of irreversible tissue loss in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Eur. J. Neurol.* 2023;30(8):2348–2356. doi: 10.1111/ene.15827

14. Wu D., Ma T., Ceritoglu C., Li Y., Chotiyanonta J., Hou Z., Hsu J., Xu X., Brown T., Miller MI., Mori S. Resource atlases for multi-atlas brain segmentations with multiple ontology levels based on T1-weighted MRI. *Neuroimage.* 2016;125:120–130. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.10.042

15. Clement P., Petr J., Dijsselhof M., Padrela B., Pasternak M., Dolui S., Jarutyte L., Pinter N., Hernandez-Garcia L., Jahn A., … Keil V. A Beginner's guide to arterial spin labeling (ASL) image processing. *Front. Radiol.* 2022;2:929533. doi: 10.3389/fradi.2022.929533

16. Neumann K., Schidlowski M., Günther M., Stöcker T., Düzel E. Reliability and reproducibility of hadamard encoded pseudo-continuous arterial spin labeling in healthy elderly. *Front. Neurosci.* 2021;15:711898. doi: 10.3389/fnins.2021.711898

17. Lin T., Qu J., Zuo Z., Fan X., You H., Feng F. Test-retest reliability and reproducibility of long-label pseudo-continuous arterial spin labeling. *Magn. Reson. Imaging.* 2020;73:111–117. doi: 10.1016/j.mri.2020.07.010

18. Soni N., Jain A., Kumar S., Pandey C., Awasthi A. Arterial spin labeling magnetic resonance perfusion study to evaluate the effects of age and gender on

normal cerebral blood flow. *Neurol. India.* 2016;64(Suppl):32–38. doi: 10.4103/0028-3886.178037

19. Xu G., Rowley H., Wu G., Alsop D., Shankaranarayanan A., Dowling M., Christian B., Oakes T., Johnson S. Reliability and precision of pseudo-continuous arterial spin labeling perfusion MRI on 3.0 T and comparison with 15O-water PET in elderly subjects at risk for Alzheimer's disease. *NMR Biomed.* 2010;23(3):286–293. doi: 10.1002/nbm.1462

20. Hales P., Kawadler J., Aylett S., Kirkham F., Clark C. Arterial spin labeling characterization of cerebral perfusion during normal maturation from late childhood into adulthood: normal 'reference range' values and their use in clinical studies. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2014;34(5):776–784. doi: 10.1038/jcbfm.2014.17

21. Weber M., Günther M., Lichy M., Delorme S., Bongers A., Thilmann C., Essig M., Zuna I., Schad L., Debus J., Schlemmer H. Comparison of arterial spin-labeling techniques and dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced MRI in perfusion imaging of normal brain tissue. *Invest. Radiol.* 2003;38(11):712–718. doi: 10.1097/01.rli.0000084890.57197.54

22. Станкевич Ю.А., Попов В.В., Васильків Л.М., Тулупов А.А. Динамическая оценка микроциркуляторных изменений головного мозга в раннем постинсультном периоде по данным бесконтрастной перфузионной МРТ. *Комплекс. пробл. серд.-сосуд. заболев.* 2024;13(1):28–35. doi: 10.17802/2306-1278-2024-13-1-28-35

Stankevich Yu.A., Popov V.V., Vasil'kiv L.M., Tulupov A.A. Dynamic assessment of cerebral perfusion blood flow in the early post-stroke period according to non-contrast MRI data. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy = Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2024;13(1):28–35. [In Russian]. doi: 10.17802/2306-1278-2024-13-1-28-35

23. Huang J., Hao P., Chen Z., Deng K., Liu B., Xu Y. Quantitative assessment of hyperperfusion using arterial spin labeling to predict hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke patients with mechanical endovascular therapy. *Eur. Radiol.* 2024;34(1):579–587. doi: 10.1007/s00330-023-10007-5

24. Clement P., Petr J., Dijsselhof M., Padrela B., Pasternak M., Dolui S., Jarutyte L., Pinter N., Hernandez-Garcia L., Jahn A., … Keil V. A beginner's guide to arterial spin labeling (ASL) image processing. *Front. Radiol.* 2022;2:929533. doi: 10.3389/fradi.2022.929533

25. Aracki-Trenkic A., Law-Ye B., Radovanovic Z., Stojanov D., Dormont D., Pyatigorskaya N. ASL perfusion in acute ischemic stroke: The value of CBF in outcome prediction. *Clin. Neurol. Neurosurg*. 2020;194:105908. doi: 10.1016/j.clineuro.2020.105908

26. Crisi G., Filice S., Scoditti U. Arterial spin labeling MRI to measure cerebral blood flow in untreated ischemic stroke. *J. Neuroimaging*. 2019;29(2):193–197. doi: 10.1111/jon.12569

27. van Gelderen P., de Zwart J., Duyn J. Pittfalls of MRI measurement of white matter perfusion based on arterial spin labeling. *Magn. Reson. Med.* 2008;59(4):788–795. doi: 10.1002/mrm.21515

28. Tanaka Y., Nagaoka T., Nair G., Ohno K., Duong T. Arterial spin labeling and dynamic susceptibility contrast CBF MRI in postischemic hyperperfusion, hypercapnia, and after mannitol injection. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 2011;31(6):1403–1411. doi: 10.1038/jcbfm.2010.228

29. Huang H., Li X., Wang X., Liang B., Li H., Liang J. Diffusion-weighted imaging and arterial spin labeling for prediction of cerebral infarct volume in acute atherothrombotic stroke. *Curr. Med. Imaging.* 2023;19(3):271–277. doi: 10.2174/1573405618666220509205920

30. Nam K., Kim C., Yoon B., Hwang I., Sohn C. Multiphase arterial spin labeling imaging to predict early recurrent ischemic lesion in acute ischemic stroke. *Sci. Rep.* 2022;12(1):1456. doi: 10.1038/s41598-022-05465-8

31. Mouchtouris N., Ailes I., Gooch R., Raimondo C., Oghli Y., Tjoumakaris S., Jabbour P., Rosenwasser R., Alizadeh M. Quantifying blood-brain barrier permeability in patients with ischemic stroke using non-contrast MRI. *Magn. Reson. Imaging.* 2024;109:165–172. doi: 10.1016/j.mri.2024.03.027

32. de Vis J., Hendrikse J., Bhogal A., Adams A., Kappelle L., Petersen E. Age-related changes in brain hemodynamics; A calibrated MRI study. *Hum. Brain Mapp.* 2015;36(10):3973–3987. doi: 10.1002/hbm.22891

Сведения об авторах:

Попов Владимир Владимирович, ORCID: 0000-0003-3082-2315, e-mail: vladimirpopov_2303@mail.ru
Станкевич Юлия Александровна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-7959-5160
Богомякова Ольга Борисовна, ORCID: 0000-0002-8880-100X
Тулупов Андрей Александрович, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-1277-4113

Information about the authors:

Vladimir V. Popov, ORCID**:** 0000-0003-3082-2315, e-mail: vladimirpopov_2303@mail.ru
Yuliya A. Stankevich, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-7959-5160
Olga B. Bogomyakova, ORCID: 0000-0002-8880-100X
Andrey A. Tulupov, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAS, ORCID: 0000-0002-1277-4113

Поступила в редакцию 15.07.2024
После доработки 20.08.2024
Принята к публикации 19.11.2024

Received 15.07.2024
Revision received 20.08.2024
Accepted 19.11.2024

УДК 616-036/12/36-003/826-008/9-06 DOI: 10.18699/SSMJ20240623
Оригинальное исследование / Research article

Кластеры факторов риска коморбидности у пациентов с соматической патологией

Е.В. Севостьянова, Ю.А. Николаев, И.М. Митрофанов, В.Я. Поляков, В.Г. Селятицкая

ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Резюме

Высокая распространенность и значимые медико-социальные последствия коморбидности определяют актуальность исследования этиопатогенетических факторов, способствующих ее формированию. Цель исследования – изучить ассоциации метаболических факторов (артериальной гипертензии, ожирения, гипергликемии, дислипидемии, гиперурикемии, повышенной сывороточной концентрации С-реактивного белка (СРБ) с высокой степенью коморбидности у пациентов с соматической патологией. **Материал и методы.** Проведено аналитическое ретроспективное исследование с включением данных историй болезни 5296 мужчин и женщин в возрасте от 18 до 92 лет (56,4 ± 0,2 года). Коморбидность учитывали при наличии двух или более нозологий у одного пациента, степень коморбидности оценивали по количеству нозологий у одного больного. Оценивали величины следующих факторов риска: артериальную гипертензию, ожирение, гипергликемию, дислипидемию, гиперурикемию, повышенную концентрацию СРБ. Также брали во внимание наличие неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Оценку ассоциации рассмотренных факторов с высокой степенью коморбидности осуществляли с использованием логистического регрессионного анализа. **Результаты и их обсуждение.** Установлена связь НАЖБП, возраста старше 52 лет, принадлежности к женскому полу, а также рассмотренных метаболических факторов с высокой степенью коморбидности. Наибольшую ассоциацию с коморбидностью имели НАЖБП, возраст, ожирение и гипергликемия. Наличие НАЖБП повышало риск развития высокой степени коморбидности в 5,6 раза (отношение шансов (ОШ) 5,59, 95%-й доверительный интервал (ДИ) 4,40–7,11), возраст более 52 лет – в 2,6 раза (ОШ 2,60, 95 % ДИ 2,30–2,95), ожирение – в 2,4 раза (ОШ 2,37, 95 % ДИ 2,08–2,70), гипергликемия – в 2,1 раза (ОШ 2,05, 95 % ДИ 1,69–2,49). **Заключение.** Полученные данные указывают на значимость НАЖБП, а также метаболических факторов в повышении вероятности наличия высокой степени коморбидности, что следует учитывать при разработке программ профилактики и лечения.

Ключевые слова: метаболические факторы риска, коморбидность, неалкогольная жировая болезнь печени.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Севостьянова Е.В., e-mail: luck.nsk@rambler.ru
Для цитирования: Севостьянова Е.В., Николаев Ю.А., Митрофанов И.М., Поляков В.Я., Селятицкая В.Г. Кластеры факторов риска коморбидности у пациентов с соматической патологией. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):218–224. doi: 10.18699/SSMJ20240623

Clusters of risk factors for the development of comorbidity in patients with somatic pathology

E.V. Sevostyanova, Yu.A. Nikolaev, I.M. Mitrofanov, V.Ya. Polyakov, V.G. Selyatitskaya

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
630117, Novosibirsk, Timakova st., 2

Резюме

The significant prevalence and severe medical and social consequences of comorbidity dictate the need to determine the etiopathogenetic risk factors that contribute to its formation. Purpose of the study: to study the associations of metabolic factors (arterial hypertension, obesity, hyperglycemia, dyslipidemia, hyperuricemia, increased serum concentration of C-reactive protein (CRP) with a high degree of comorbidity in patients with somatic pathology. **Material and methods.** An analytical retrospective study was carried out including data from the medical records of 5296 patients

at a therapeutic clinic, men and women, aged from 18 to 92 years (56.4 ± 0.2 years). Comorbidity was taken into account in the presence of two or more nosologies in one patient, its degree was assessed by the number of nosologies in one patient. The following risk factors were assessed: arterial hypertension, obesity, hyperglycemia, dyslipidemia, hyperuricemia, increased concentration of CRP. The presence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) was also taken into account. The association of the considered factors with a high degree of comorbidity was assessed using logistic regression analysis. **Results and discussion.** The relations have been established between NAFLD, age over 52 years, female gender, as well as the considered metabolic factors with a high degree of comorbidity. NAFLD, age, obesity and hyperglycemia had the strongest associations with comorbidity. NAFLD increased the risk of developing a high degree of comorbidity by 5.6 times (odds ratio (OR) 5.59, 95 % confidence interval (CI) 4.40–7.11), age over 52 years – by 2.6 times (OR 2.60, 95 % CI 2.30–2.95); obesity – by 2.4 times (OR 2.37, 95 % CI 2.08–2.70), hyperglycemia – by 2.1 times (OR 2.05, 95 % CI 1.69–2. 49). **Conclusions.** The data obtained indicate the importance of NAFLD, as well as metabolic risk factors for CND, in increasing the likelihood of developing a high degree of comorbidity, which must be taken into account when developing programs for the prevention and treatment.

Key words: metabolic risk factors, comorbidity, non-alcoholic fatty liver disease.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author: Sevostyanova E.V., e-mail: luck.nsk@rambler.ru
Citation: Sevostyanova E.V., Nikolaev Yu.A., Mitrofanov I.M., Polyakov V.Ya., Selyatitskaya V.G. Clusters of risk factors for the development of comorbidity in patients with somatic pathology. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):218–224. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240623

Введение

Наличие сочетанной патологии является значимой медицинской и социальной проблемой, которая рассматривается в рамках понятия коморбидности [1–3]. Коморбидность ассоциируется с увеличением показателей госпитализации, инвалидизации, снижением качества жизни, функциональных возможностей организма, полипрагмазией, повышенными затратами на здравоохранение [1, 3, 4]. Также она сочетается с риском летальности [4]. Таким образом, необходимо изучение формирования данного состояния, определение значимых факторов и предикторов коморбидности. Существует связь между развитием отдельных хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ) и преждевременной смертностью от них и факторами риска, однако данных о величине их влияния на коморбидность известно мало, так как чаще всего пациенты с наличием коморбидной патологии исключаются из клинических исследований, а обсервационные исследования преимущественно проводятся на основе анализа отдельных нозологий.

Однако, несмотря на имеющиеся исследования по определению значимых социально-экономических, поведенческих, некоторых биологических (пола, возраста) факторов, способствующих формированию коморбидности [3], недостаточно изучена роль метаболических факторов, которые формируют предрасположенность к развитию сочетанной патологии и могут иметь существенное значение в патогенезе данного состояния.

Цель исследования – изучить ассоциации артериальной гипертензии (АГ), ожирения, гипергликемии, дислипидемии, гиперурикемии с наличием высокой степени коморбидности у пациентов общетерапевтического профиля.

Материал и методы

Проведено ретроспективное исследование «случай–контроль». В анализ включены данные обследования 5296 пациентов, находившихся на госпитализации в клинике ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (ФИЦ ФТМ, Новосибирск) в период с 2003 по 2022 г. Среди включенных в исследование было 2270 мужчин, 3026 женщин – жителей Новосибирской области и Республики Саха (Якутия) в возрасте от 18 до 92 лет (56,4 ± 0,2 года).

В анализ брали все верифицированные диагнозы, основной и сопутствующие. Верификация диагнозов осуществлялась с использованием современных методов клинико-лабораторной, функциональной и инструментальной диагностики. Наличие коморбидности определяли при наличии двух или более заболеваний у одного и того же пациента [1], ее величину – по числу нозологических единиц согласно МКБ-10 у одного больного; за высокую степень коморбидности принимали наличие пяти и более нозологий. Верификация НАЖБП (код K76.0 по МКБ 10) проведена в соответствии с Клиническими рекомендациями [6]. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике при ФИЦ ФТМ по результатам рассмотрения вопроса обеспечения прав, безопасности и охраны здоровья пациентов при

его выполнении (протокол № 31 от 17.06.2024). Все пациенты предоставили письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Изучали следующие факторы риска ХНИЗ: АГ, неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП), ожирение, гипергликемию, гиперхолестеринемию (ГХС), гиперхолестеринемию липопротеинов низкой плотности (гиперЛПНП), гипертриглицеридемию (ГТГ), гипохолестеринемию липопротеинов высокой плотности (гипоЛПВП), гиперурикемию, повышенную концентрацию С-реактивного белка (СРБ). Наличие этих факторов риска верифицировали в соответствии с Клиническими рекомендациями [5]. АГ устанавливали при систолическом и диастолическом артериальном давлении ≥ 140 и ≥ 90 мм рт. ст. соответственно и/или приеме препаратов, снижающих артериальное давление. Наличие ожирения верифицировали величине индекса массы тела (ИМТ) ≥ 30 кг/м^2, гипергликемии – при содержании глюкозы плазмы крови натощак > 5,5 ммоль/л, ГХС – при концентрации в сыворотке крови общего холестерина > 4,9 ммоль/л, гиперЛПНП – при содержании ХС ЛПНП в сыворотке крови > 3 ммоль/л, ГТГ – при уровне ТГ в сыворотке крови ≥ 1,7 ммоль/л, гипоЛПВП – при концентрации ХС ЛПВП < 1,0 ммоль/л у мужчин, <1,2 ммоль/л у женщин, гиперурикемию – при содержании мочевой кислоты в сыворотке крови ≥ 420 мкмоль/л у мужчин и ≥ 360 мкмоль/л у женщин. Повышение уровня СРБ регистрировали при концентрации высокочувствительного СРБ в сыворотке крови > 5 мг/л. Биохимические исследования проводили на анализаторе AU 480 (Beckman Coulter, США). Уровень ХС ЛПНП рассчитывали по формуле:

ХС ЛПНП = ОХС – ХС ЛПВП – триглицериды / 2,2.

В исследование включали данные о росте и массе тела с расчетом ИМТ по формуле Кетле.

Статистический анализ проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA v. 10.0. Результаты представлены в виде средних арифметических величин и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$), относительных частот объектов исследования, коэффициентов вероятности и доверительных интервалов. Для определения ассоциации между переменными использовали корреляционный анализ с применением критерия Спирмена. Для оценки влияния независимых переменных использовали логистический регрессионный анализ. Независимые переменные, подлежащие тестированию в регрессионной модели, были кодифицированы как 0 = отсутствие или 1 = наличие, и включали: возраст старше 52 лет, женский пол, НАЖБП, АГ, ожирение, гипергликемию, ГХС, гиперЛПНП, гипоЛПВП, гиперурикемию, повышенную сывороточную концентрацию СРБ. В качестве неблагоприятного события принимали наличие высокой степени коморбидности. Анализ отношения шансов осуществляли с использованием критерия χ^2 Вальда и 95%-го доверительного интервала (95 % ДИ). Критический уровень значимости для всех расчетов принимали равным 0,05.

Результаты

Клинико-демографическая характеристика пациентов приведена в табл. 1. Все обследованные пациенты имели коморбидность. Проведен корреляционный анализ взаимосвязи между выраженностью коморбидности и встречаемостью АГ, ожирения, гипергликемии, ГТГ, ГХС, гипоХС ЛПВП, гиперурикемии. Установлены значимые (p = 0,000000001) прямые корреляционные связи между степенью коморбидности и частотой встречаемости ожирения, гипергликемии, АГ, ГХС, гиперЛПНП, гипоЛПВП, ГТГ, гиперурикемии.

Таблица 1. *Клинико-демографическая характеристика пациентов*

Table 1. *Clinical and demographic characteristics of patients*

Показатель	Значение
Возраст, лет	56,4 ± 0,2
Пол:	
мужчины, %,	42,0
женщины, %	57,1
Регион:	
Новосибирская область, %	14,0
Республика Саха (Якутия), %	86,0
Ожирение, %	44,9
ИМТ, кг/м^2	31,6 ± 1,9
АГ, %	59,3
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст	139,4 ± 0,3
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст	87,8 ± 0,2
Содержание ОХС, ммоль/л	5,78 ± 0,02
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	4,39 ± 0,19
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	1,32 ± 0,02
Содержание ТГ, ммоль/л	1,73 ± 0,02
Содержание мочевой кислоты, мкмоль/л	323,7 ± 1,4
Содержание СРБ, мг/л	6,01 ± 0,16

В табл. 2 приведены результаты логистического регрессионного анализа. Статистически значимые значения ОШ > 1 указывали на увеличение шанса наступления события (высокой степени транснозологической коморбидности), а < 1 – на снижение этого шанса под влиянием данного фактора.

Установлено, что НАЖБП имела существенную значимость как предиктор наличия высокой степени коморбидности, увеличивая ее риск в 5,6 раза. Возраст >52 лет повышал риск в 2,6 раза, женский пол – в 1,5 раза, наличие ожирения – в 2,4 раза, гипергликемия – в 2,1 раза, АГ – в 1,6 раза. Увеличение концентрации в сыворотке крови СРБ повышало соответствующий риск в 1,5 раза, ГТГ – в 1,5 раза, гиперурикемия – в 1,4 раза. Риск наличия высокой степени коморбидности у больных с ГХС и гиперЛПНП был больше в 1,2 раза, чем у лиц с нормальной концентрацией в сыворотке крови ОХС и ХС ЛПНП.

Таким образом, обосновано полагать, что НАЖБП в случае ее наличия может выступать в качестве основного заболевания в формировании коморбидности у пациентов общетерапевтического профиля. Возраст (старше 52 лет), женский пол, АГ, ожирение, дислипидемия, гипергликемия, гиперурикемия, повышенное содержание в сыворотке крови СРБ – это факторы, которые увеличивают степень риска высокой степени коморбидности.

Обсуждение

Полученные результаты позволили нам выделить три основных кластера факторов, оказывающих значимое (по данным регрессионного анализа) влияние на высокую степень коморбидности, и которые, возможно, оказывают системное воздействие. К основному кластеру, по нашему мнению, следует отнести факторы, которые оказывают наибольшее влияние на коморбидность, а именно: наличие НАЖБП, возраст, ожирение и гипергликемию. Несомненно, возраст влияет на формирование сочетанной патологии, что соответствуют и результатам других исследователей [3], так же как и наличие ожирения ассоциировано с формированием кардиометаболической коморбидности [7]. В нашей работе установлена взаимосвязь наличия ожирения не только с кардиометаболической, но и с общесоматической коморбидностью. Ранее показано, что для НАЖБП характерна высокая частота сочетанных патологий [8], однако ее участие в формировании коморбидности исследовано недостаточно.

Установлена важнейшая роль факторов первого кластера (НАЖБП, возраст, ожирение, гипергликемия) в повышении риска высокой степени коморбидности, тесная ассоциация которых с процессами старения позволяет отнести их к возраст-ассоциированным. Риск формирования НАЖБП повышается с возрастом, что, вероятно, связано с изменениями функции и распределения белой жировой ткани [9]. Полагают, что возраст-

Таблица 2. *Результаты анализа ОШ*

Table 2. *Results of odds ratio analysis*

Вероятностный признак	Высокая степень коморбидности при наличии признака, *n* (%)	Высокая степень коморбидности при отсутствии признака, *n* (%)	ОШ [95 % ДИ]	*p*
Возраст > 52 лет	2791 (80)	1114 (61)	2,60 [2,30–2,95]	<0,0001
Женский пол	2330 (77)	1575 (69)	1,48 [1,31–1,67]	<0,0001
НАЖБП	974 (93)	2931 (69)	5,59 [4,40–7,11]	<0,0001
Ожирение	1963 (83)	1942 (67)	2,37 [2,08–2,70]	<0,0001
Гипергликемия	734 (84)	3171 (72)	2,05 [1,69–2,49]	<0,0001
АГ	2431 (77)	1474 (68)	1,58 [1,40–1,79]	<0,0001
ГТГ	1558 (78)	2347 (71)	1,50 [1,32–1,71]	<0,0001
ГХС	2826 (75)	1079 (71)	1,18 [1,03–1,36]	0,0161
гиперЛПНП	2905 (75)	1000 (72)	1,16 [1,01–1,33]	0,0350
гипоЛПВП	459 (76)	3446 (73)	1,17 [0,97–1,42]	0,1079
Гиперурикемия	1006 (79)	2899 (72)	1,43 [1,23–1,67]	<0,0001
Повышенная сывороточная концентрация СРБ	638 (80)	3267 (73)	1,47 [1,23–1,77]	<0,0001

ные изменения в распределении и метаболизме жира в организме могут быть триггерами, способными ускорить процесс старения и формирование возраст-ассоциированных заболеваний [10]. Известно, что со старением связана также гипергликемия [11]. Установлено, что стареющие клетки высвобождают секреторные факторы, которые нарушают функцию β-клеток поджелудочной железы, жировой ткани и способствуют увеличению инсулинорезистентности и гипергликемии. С другой стороны, данные метаболические нарушения и гипергликемия сами по себе способствуют клеточному старению [11].

Связь данных факторов с формированием коморбидности подтверждает ее возраст-ассоциированный характер и может свидетельствовать о наличии общих механизмов в развитии множественной сочетанной патологии и старения (таких как укорочение теломер, нарушение митохондриальной функции, окислительный стресс, хроническое вялотекущее воспаление, нестабильность генома, эпигенетические и другие механизмы) [12].

Ко второму кластеру нами отнесены факторы, которые оказывают среднее влияние на формирование коморбидности: АГ, ГТГ, высокий уровень в сыворотке крови СРБ, гиперурикемия. Данные литературных источников свидетельствуют о том, что все эти факторы ассоциированы с хроническим воспалением. Так, известно, что в развитии АГ значимую роль играет хроническое воспаление [13]. С другой стороны, АГ может способствовать образованию паттернов, связанных с повреждением, и образованию антигенов, которые могут выступать в качестве триггеров вялотекущего воспаления [14]. Известна связь гиперурикемии с воспалением, опосредованным окислительным стрессом, развивающимся при данном нарушении. Мочевая кислота может выступать также в качестве активатора внутриклеточных сигнальных путей, что приводит к синтезу провоспалительных цитокинов [15]. Показана взаимосвязь между ГТГ и внутрисосудистым воспалением [16]. Известно, что СРБ является маркером воспаления, активирующим комплемент, усиливающим фагоцитоз и апоптоза, высвобождение оксида азота и продукцию цитокинов [17]. Полученные нами данные о связи рассмотренных факторов с наличием высокой степени коморбидности позволяют выдвинуть предположение о возможном участии процессов внутрисосудистого и системного воспаления в формировании коморбидности.

К третьему кластеру мы отнесли факторы, оказывающие значимое, но наименьшее из рассмотренных влияние на развитие высокой степени коморбидности: ГХС и гиперЛПНП. Данные метаболические нарушения относятся к факторам, ассоциированным с атеросклерозом. Атерогенный липидный профиль крови в виде повышения концентрации в сыворотке крови ХС ЛПНП и снижения содержания ХС ЛПВП является важным патогенетическим звеном в развитии атеросклероза [18]. Наши результаты, свидетельствующие об их связи с сочетанной патологией, позволяют предполагать, что в формировании коморбидности существенную роль может играть атеросклеротическое поражение сосудов.

Значимую ассоциацию с наличием высокой степени коморбидности имеют факторы, объединенные в группы, связанные со старением, воспалением и атеросклерозом. Данные позволяют предположить возможное участие этих процессов в формировании коморбидности. Выделение НАЖБП, АГ, ожирения, гипергликемии, гиперЛПНП, гипоЛПВП, гиперурикемии, повышенной сывороточной концентрации СРБ в качестве модифицируемых факторов риска развития коморбидности может послужить основой для скрининговых программ с целью выявления групп высокого риска наличия сочетанных заболеваний, для разработки новых медицинских технологий лечения и профилактики, больных с сочетанной патологией.

Заключение

Высокая степень коморбидности связана с возрастом, женским полом, АГ, ожирением, гипергликемией, дислипидемией, гиперурикемией, повышенной сывороточной концентрацией СРБ. Эти факторы формируют кластеры, которые связаны с процессами старения, воспаления и развитием атеросклероза. Наличие НАЖБП связано с 5,6-кратным увеличением риска развития высокой степени коморбидности, что, учитывая тесную взаимосвязь данной нозологии с метаболическими факторами риска, может служить патогенетической основой ее формирования.

Список литературы / References

1. Оганов Р.Г., Симаненков В.И., Бакулин И.Г., Бакулина Н.В., Барбараш О.Л., Бойцов С.А., Болдуева С.А., Гарганеева Н.П., Дощицин В.Л., Каратеев А.Е., … Шальнова С.А. Коморбидная патология в клинической практике. Алгоритмы диагностики и лечения. *Кардиоваскуляр. терапия и профилакт.* 2019;18(1):5–66. doi: 10.15829/1728-8800-2019-1-5-66

Oganov R.G., Simanenkov V.I., Bakulin I.G., Bakulina N.V., Barbarash O.L., Boytsov S.A., Boldueva S.A., Garganeeva N.P., Doshchitsin V.L., Kara-

teev A.E., … Shal'nova S.A. Comorbidities in clinical practice. Algorithms for diagnosis and treatment. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2019;18(1):5–66. [In Russian]. doi: 10.15829/1728-8800-2019-1-5-66

2. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet.* 2020;396(10258):1204–1222. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30925-9

3. Skou S.T., Mair F.S., Fortin M., Guthrie B., Nunes B.P., Miranda J.J., Boyd C.M., Pati S., Mtenga S., Smith S.M. Multimorbidity. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2022;8(1):48. doi: 10.1038/s41572-022-00376-4

4. Willadsen T.G., Siersma V., Nicolaisdóttir D.R., Køster-Rasmussen R., Jarbøl D.E., Reventlow S., Mercer S.W., Olivarius N.F. Multimorbidity and mortality: A 15-year longitudinal registry-based nationwide Danish population study. *J. Comorb.* 2018;8(1):2235042X18804063. doi: 10.1177/2235042X18804063

5. Кобалава Ж.Д., Конради А.О., Недогода С.В., Шляхто Е.В., Арутюнов Г.П., Баранова Е.И., Барбараш О.Л., Бойцов С.А., Вавилова Т.В., Виллевальде С.В., … Янишевский С.Н. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2020. *Рос. кардиол. ж.* 2020;25(3):149–218. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3-3786

Kobalava Zh.D., Konradi A.O., Nedogoda S.V., Shlyakhto E.V., Arutyunov G.P., Baranova E.I., Barbarash O.L., Boitsov S.A., Vavilova T.V., Villevalde S.V., … Yanishevsky S.N. Arterial hypertension in adults. Clinical guidelines 2020. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Cardiology.* 2020;25(3):149–218. [In Russian]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3-3786

6. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Тихонов И.Н., Широкова Е.Н., Буеверов А.О., Драпкина О.М., Шульпекова Ю.О., Цуканов В.В., Маммаев С.Н., Маев И.В., Пальгова Л.К. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации. *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2016;26(2):24–42. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42

Ivashkin V.T., Maevskaya M.V., Pavlov Ch.S., Tikhonov I.N., Shirokova E.N., Bueverov A.O., Drapkina O.M., Shul'pekova Ju.O., Tsukanov V.V., Mammaev S.N., Maev I.V., Pal'gova L.K. Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical guidelines of the russian scientific liver society and the russian gastroenterological association. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii = Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2016;26(2):24–42. [In Russian]. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42

7. Kivimäki M., Kuosma E., Ferrie J.E., Luukkonen R., Nyberg S.T., Alfredsson L., Batty G.D., Brunner E.J., Fransson E., Goldberg M., … Jokela M. Overweight, obesity, and risk of cardiometabolic multimorbidity: pooled analysis of individual-level data for 120 813 adults from 16 cohort studies from the USA and Europe. *Lancet Public Health*. 2017;2(6):e277–e285. doi: 10.1016/S2468-2667(17)30074-9

8. Ливзан М.А., Гаус О.В., Николаев Н.А., Кролевец Т.С. НАЖБП: коморбидность и ассоциированные заболевания. *Эксперим. и клин. гастроэнтерол.* 2019;170(10):57–65. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-170-10-57-65

Livzan M.A., Gaus O.V., Nikolaev N.A., Krolevets T.S. NAFLD: comorbidity and associated diseases. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya = Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2019;170(10):57–65. [In Russian]. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-170-10-57-65

9. Bilson J., Sethi J.K., Byrne C.D. Non-alcoholic fatty liver disease: a multi-system disease influenced by ageing and sex, and affected by adipose tissue and intestinal function. *Proc. Nutr. Soc.* 2022;81(2):146–161. doi: 10.1017/S0029665121003815

10. Ponti F., Santoro A., Mercatelli D., Gasperini C., Conte M., Martucci M., Sangiorgi L., Franceschi C., Bazzocchi A. Aging and imaging assessment of body composition: from fat to facts. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2020;10:861. doi: 10.3389/fendo.2019.00861

11. Narasimhan A., Flores R.R., Robbins P.D., Niedernhofer L.J. Role of cellular senescence in type ii diabetes. *Endocrinology.* 2021;162(10):bqab136. doi: 10.1210/endocr/bqab136

12. Wetterling T. Pathogenesis of multimorbidity-what is known? *Z. Gerontol. Geriatr.* 2021;54(6):590–596. doi: 10.1007/s00391-020-01752-z

13. Zhang Z., Zhao L., Zhou X., Meng X., Zhou X. Role of inflammation, immunity, and oxidative stress in hypertension: New insights and potential therapeutic targets. *Front. Immunol.* 2023;13:1098725. doi: 10.3389/fimmu.2022.1098725

14. Rizzoni D., de Ciuceis C., Szczepaniak P., Paradis P., Schiffrin E.L., Guzik T.J. Immune system and microvascular remodeling in humans. *Hypertension.* 2022;79(4):691–705. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.121.17955

15. Kimura Y., Yanagida T., Onda A., Tsukui D., Hosoyamada M., Kono H. Soluble uric acid promotes atherosclerosis via ampk (amp-activated protein kinase)-mediated inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2020;40(3):570–582. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313224

16. Raposeiras-Roubin S., Rosselló X., Oliva B., Fernández-Friera L., Mendiguren J.M., Andrés V., Bueno H., Sanz J., Martínez de Vega V., Abu-Assi E., … Fuster V. Triglycerides and residual atherosclerotic

risk. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2021;77(24):3031–3041. doi: 10.1016/j.jacc.2021.04.059

17. Sproston N.R., Ashworth J.J. Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front. Immunol.* 2018;9:754. doi: 10.3389/fimmu.2018.00754

18. Сергиенко И.В., Аншелес А.А., Кухарчук В.В. Дислипидемии, атеросклероз и ишемическая болезнь сердца генетика, патогенез, фенотипы, диагностика, терапия, коморбидность. М.: ПатиСС, 2020. 298 с.

Sergienko I.V., Ansheles A.A., Kukharchuk V.V. Dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease, genetics, pathogenesis, phenotypes, diagnosis, therapy, comorbidity. Moscow: PatiSS, 2020. 298 p. [In Russian].

Информация об авторах:

Севостьянова Евгения Викторовна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-1132-3801, e-mail: luck.nsk@rambler.ru
Николаев Юрий Алексеевич, д.м.н., ORCID: 0000-0002-1690-6080, e-mail: nicol@centercem.ru
Митрофанов Игорь Михайлович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0003-2032-9738, e-mail: mim07@mail.ru
Поляков Владимир Яковлевич, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9606-2331, e-mail: vpolyakov15@mail.ru
Селятицкая Вера Георгиевна, д.б.н., проф., e-mail: vgselyatitskaya@frcftm.ru

Information about the authors:

Evgeniya V. Sevostyanova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-1132-3801, e-mail: luck.nsk@rambler.ru
Yuriy A. Nikolaev, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-1690-6080, e-mail: nicol@centercem.ru
Igor M. Mitrofanov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2032-9738, e-mail: mim07@mail.ru
Vladimir Ya. Polyakov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9606-2331, e-mail: vpolyakov15@mail.ru
Vera G. Selyatitskaya, doctor of biological sciences, professor, e-mail: vgselyatitskaya@frcftm.ru

Поступила в редакцию 21.06.2024
После доработки 18.09.2024
Принята к публикации 15.11.2024

Received 21.06.2024
Revision received 18.09.2024
Accepted 15.11.2024

УДК 616.126.52-77-07-06:[616.12-008.313:616.12-089.843] DOI: 10.18699/SSMJ20240624
Оригинальное исследование / Research article

Частота развития нарушений атриовентрикулярной проводимости и потребности в имплантации электрокардиостимулятора у пациентов после эндоваскулярного протезирования аортального клапана

Ю.Ю. Столбиков[1], Г.В. Матюшин[1, 2], А.В. Протопопов[2], Е.В. Самохвалов[1], О.П. Ищенко[1, 2], В.О. Кобаненко[2]

[1] Красноярская краевая клиническая больница
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3а
[2] Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

Резюме

Цель исследования – оценка предикторов развития нарушения проводящей системы сердца, связанных с повышенным риском имплантации временного и постоянного кардиостимулятора после эндоваскулярного протезирования аортального клапана (TAVR). **Материал и методы.** Проведен анализ пациентов, которым выполнено оперативное лечение по замене аортального клапана эндоваскулярным методом лечения в КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Красноярск) с января 2018 г. по май 2023 г. Всего в исследование включено 157 человек. **Результаты и их обсуждение.** Выявлена связь между возникновением атриовентрикулярной блокады (АВБ) II–III степени, потребовавшей установки временного электрокардиостимулятора (вЭКС) и имплантации постоянного электрокардиостимулятора (пЭКС), с блокадой левой ножки пучка Гиса (БЛНПГ) и фибрилляцией предсердий (ФП) после имплантации TAVR. У 11 (13,3 %) пациентов после TAVR впервые выявлена АВБ II–III степени, у 22 (26,5 %) – БЛНПГ и у 11 (13,3 %) – ФП. Потребность во вЭКС при TAVR необходима была 35 (23,6 %) пациентам, 34 (23,0 %) больным он установлен в течение первых двух суток после оперативного вмешательства и одному (0,7 %) – по прошествии трех суток. По данным регрессионного анализа, выявлено шесть значимых факторов риска для вЭКС: БЛНПГ ($p = 0,002$), ФП ($p = 0,030$), АВБ I степени ($p = 0,032$), возраст ($p = 0,012$), женский пол ($p = 0,033$) и острый инфаркт миокарда в анамнезе ($p = 0,024$). Имплантация пЭКС выполнена семи (4,5 %) пациентам в период от 4-х по 20-е сутки, из них шести (85,7 %) – по причине полной АВБ и одному (14,3 %) – вследствие дисфункции синусового узла; пяти (3,2 %) больным пЭКС установили в период от 6 месяцев до 3,6 года (трем (1,9 %) – по причине полной АВБ и двум (1,3 %) – вследствие дисфункции синусового узла). По данным регрессионного анализа, выявлены два значимых фактора риска для имплантации пЭКС: наличие до оперативного вмешательства ФП ($p = 0,002$; $r = 0,160$) и наличие до TAVR БЛНПГ ($p = 0,037$; $r = 0,108$). **Заключение.** Выявление предикторов возникновения АВБ II–III степени после TAVR будет способствовать своевременному проведению вЭКС и имплантации пЭКС для профилактики осложнений, обусловленных брадиаритмиями.

Ключевые слова: аортальный клапан, аортальный стеноз, транскатетерная имплантация аортального клапана, полная атриовентрикулярная блокада, нарушения ритма сердца.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Столбиков Ю.Ю. e-mail: Stolbikov1989@mail.ru
Для цитирования: Столбиков Ю.Ю., Матюшин Г.В., Протопопов А.В., Самохвалов Е.В., Ищенко О.П., Кобаненко В.О. Частота развития нарушений атриовентрикулярной проводимости и потребности в имплантации электрокардиостимулятора у пациентов после эндоваскулярного протезирования аортального клапана. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):225–230. doi: 10.18699/SSMJ20240624

Incidence of atrioventricular conduction disturbances and need for pacemaker implantation in patients after endovascular aortic valve replacement

Yu.Yu. Stolbikov[1], G.V. Matyushin[1, 2], A.V. Protopopov[2], E.V. Samokhvalov[1], O.P. Ishchenko[1, 2], V. O. Kobanenko[2]

[1] *Krasnoyarsk Clinical Regional Hospital*
660022, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka st.,3a
[2] *Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University of Minzdrav of Russia*
660022, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka st., 1

Abstract

The aim of the study was to evaluate predictors of cardiac conduction disturbance associated with increased risk of temporary and permanent pacemaker implantation after endovascular aortic valve replacement (TAVR). **Material and methods.** We analyzed patients who underwent surgical treatment for aortic valve replacement by endovascular treatment in Krasnoyarsk Regional Clinical Hospital from January 2018 to May 2023. The total number of people included in the study is 157. **Results and discussion.** The association between the occurrence of atrioventricular block of II–III degree, left bundle branch block and atrial fibrillation after TAVR implantation, which required temporary pacemaker implantation and permanent pacemaker implantation, was revealed. Atrioventricular block of grade II-III was first detected in 11 (13.3 %) patients after TAVR, left bundle branch block – in 22 (26.5 %) and atrial fibrillation – in 11 (13.3 %). The need for temporary pacing during TAVR was necessary in 35 (23.6 %) patients. 34 (23.0 %) patients had a temporary pacemaker placed within the first 2 days after surgical intervention and 1 patient (0.7 %) after 3 days. Regression analysis revealed 6 significant risk factors for temporary pacemaker implantation: left bundle branch block ($p = 0.002$), atrial fibrillation ($p = 0.030$), 1st degree atrioventricular block ($p = 0.032$), age ($p = 0.012$), female gender ($p = 0.033$) and history of acute myocardial infarction ($p = 0.024$). Permanent pacemaker implantation was performed in 7 (4.5 %) patients in the period from 4 to 20 days, including 6 (85.7 %) patients due to complete atrioventricular block and 1 (14.3 %) patient due to sinus node dysfunction. Permanent pacemaker was implanted to five (3.2 %) patients in the period from 6 months to 3.6 years, including 3 (1.9 %) patients due to complete atrioventricular block and 2 (1.3 %) patients due to sinus node dysfunction. Regression analysis revealed 2 significant risk factors for permanent pacemaker implantation: presence of atrial fibrillation before surgical intervention ($p = 0.002$; $r = 0.160$) and presence of left bundle branch block before TAVR ($p = 0.037$; $r = 0.108$). **Conclusions.** Identification of predictors of atrioventricular block of II–III degrees after TAVR will facilitate timely temporary pacing and permanent pacemaker implantation to prevent complications due to bradyarrhythmias.

Key words: aortic valve, aortic stenosis, transcatheter aortic valve implantation, complete atrioventricular block, heart rhythm disorders.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.
Correspondence author: Stolbikov Yu.Yu., e-mail: Stolbikov1989@mail.ru
Citation: Stolbikov Yu.Yu., Matyushin G.V., Protopopov A.V., Samokhvalov E.V., Ishchenko O.P., Kobanenko V.O. Incidence of atrioventricular conduction disturbances and need for pacemaker implantation in patients after endovascular aortic valve replacement. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):225–230. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240624

Введение

В настоящее время согласно данным ВОЗ поражение клапанного аппарата сердца является одной из основных проблем причины смертности [1, 2], до 45 % от их общего числа занимают пороки аортального клапана. Распространенность аортального стеноза увеличивается с возрастом и может достигать 4,6 % у людей старше 75 лет. Например, в странах Европы и Америки аортальный стеноз – наиболее часто встречающееся заболевание клапанного аппарата сердца; к 2025 г. только в Великобритании им будут страдать 3,5 млн человек [3, 4]. При отсутствии должного лечения симптоматический аортальный стеноз имеет неблагоприятный исход. Результаты многочисленных исследований сообщают не более чем о трехлетней выживаемости таких пациентов, а при наличии декомпенсации сердечной недостаточности (СН) она снижается до 1,5–2 лет [1, 5].

В настоящее время для лечения аортального стеноза используют хирургическую и транскатетерную замену аортального клапана (TAVR), которая проводится пациентам с высоким и промежуточным хирургическим риском, но на сегодняшний день может быть выполнена и лицам с низким хирургическим риском [1, 6–8]. При наличии у больного высокого хирургического риска (показатель STS-PROM или EuroSCORE II 4 %) ему безусловно показано выполнение TAVR. По результатам нескольких крупных рандомизированных исследований выявлено, что TAVR не уступает хирургическому лечению в отношении смертности, инсульта и дополнительных конечных точек у пациентов с низким периоперацион-

ным риском (средний балл STS составлял 1,9 %) [4, 9].

Наиболее частым осложнением после замены аортального клапана являются нарушения в проводящей системе сердца. Около 50 % из них разрешаются самостоятельно в течение нескольких суток после оперативного лечения, и имплантация постоянного электрокардиостимулятора (пЭКС) не требуется [10]. Показаниями к имплантации пЭКС при TAVR являются прежде всего атриовентрикулярная блокада (АВБ) высокой степени, впервые возникшая блокада левой ножки пучка Гиса (БЛНПГ), прогрессирующая АВБ первой степени с БЛНПГ, дисфункция синусового узла и симптоматическая брадикардия [11]. Частота возникновения новых случаев развития БЛНПГ после TAVR, по данным разных авторов, находится в пределах от 4 до 65 %. АВБ высокой степени, требующая имплантации пЭКС, обычно возникает в течение первых 24 ч после TAVR. У 30 % пациентов наблюдается отсроченное начало АВБ высокой степени через 48 ч от момента вмешательства [12, 13].

Целью данного исследования послужило выявление частоты развития нарушения атриовентрикулярной проводимости у пациентов после протезирования аортального клапана эндоваскулярным методом и потребности проведения временной электрокардиостимуляции (вЭКС) и имплантации пЭКС у данных больных.

Материал и методы

Для выявления частоты развития нарушений проводимости после протезирования аортального клапана, а также потребности в имплантации пЭКС выполнен ретроспективный анализ историй болезни пациентов, которым было проведено протезирование аортального клапана эндоваскулярным методом в КГБУЗ «Краевая клиническая больница» г. Красноярска с января 2018 г. по май 2023 г. Отбор пациентов осуществлялся мультидисциплинарной командой, состоящей из кардиолога, врача по рентгенэндоваскулярной диагностике и лечению, кардиохирурга, анестезиолога-реаниматолога, сосудистого хирурга, врача функциональной диагностики. Все пациенты были комплексно обследованы, медикаментозная терапия проводилась согласно действующим клиническим рекомендациям.

Номинальные данные представлены в виде относительных частот объектов исследования (*n,* %), для оценки различий использовали точный критерий Фишера. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (*p*) принимали равным 0,05. По результатам регрессионного анализа методом логистической регрессии с использованием критерия Вальда рассчитаны отношение шансов (ОШ) и 95%-й доверительный интервал (95% ДИ).

Результаты

Всего за указанный период времени в Краевой клинической больнице TAVR выполнено 157 пациентам, из них женщин было 98 (62,4 %, возраст от 58 до 92 лет), мужчин 59 (37,6 %, возраст от 59 до 88 лет). Большая часть TAVR имплантирована лицам старше 71 года (табл. 1). Сахарный диабет был у 34 (21,7 %) пациентов, гипертоническая болезнь – у 154 (98,1 %), инфаркт миокарда, тромбоэмболия легочной артерии, чрескожное коронарное вмешательство и острое нарушение мозгового кровоснабжения в анамнезе – соответственно у 29 (18,5 %), 2 (1,3 %), 35 (22,3 %) и 20 (17,8 %), хроническая обструктивная болезнь легких – у 9 (5,7 %), бронхиальная астма – у 11 (7,0 %), онкологические заболевания – у 17 (10,8 %). У всех больных был диагностирован аортальный стеноз, средний градиент систолического давления на аортальный клапан до операции составлял 54,0 [44,3; 65,0] % (медиана [нижняя квартиль; верхняя квартиль]), площадь отверстия на нем – 0,7 [0,5; 0,8] см^2.

Исходно всего случаев нарушения ритма и проводимости у пациентов перед TAVR было 241 (табл. 2). Наиболее часто встречались предсердные нарушения ритма (76 (31,5 %) случаев), среди которых больше всего было фибрилляций предсердий (ФП), а также АВБ, желудочковая и наджелудочковая экстрасистолия, дисфункция синусового узла, а также БЛНПГ (см. табл. 2). Всем 9 больным с АВБ II и III степени был имплантирован пЭКС до проведения процедуры TAVR, у 4 (44,4 %) из них имелась ФП, у одно-

Таблица 1. *Показатели возрастного периода пациентов с TAVR*

Table 1. *Age-period indicators of patients with TAVR*

Возраст	Пол	*n* (%)	*p*
До 60 лет	Мужской	2 (3,4)	0,477
	Женский	5 (5,1)	
61–70 лет	Мужской	12 (20,3)	0,458
	Женский	18 (18,4)	
71–80 лет	Мужской	31 (52,5	0,065
	Женский	38 (38,8)	
Старше 81 года	Мужской	14 (23,7)	0,049
	Женский	37 (37,8)	
Всего	Мужской	59 (100,0)	
	Женский	98 (100,0)	

Таблица 2. *Нарушения ритма и проводимости у пациентов перед TAVR*

Table 2. *Rhythm and conduction disturbances in patients before TAVR*

Нарушение ритма и проводимости	*n* (%)
АВБ	
I степени	8 (3,3)
II степени	2 (0,8)
III степени	7 (2,9)
Всего	17 (7,1)
Желудочковая экстрасистолия	41 (17,0)
Наджелудочковая экстрасистолия	36 (14,9)
Блокада правой ножки пучка Гиса	8 (3,3)
БЛНПГ	11 (4,6)
Желудочковая тахикардия	5 (2,1)
Предсердная тахикардия	12 (5,0)
ФП	58 (24,1)
Трепетание предсердий	6 (2,5)
Дисфункция синусового узла	16 (6,6)
Неполная блокада правой ножки пучка Гиса	11 (4,6)
Неполная блокада левой ножки пучка Гиса	3 (1,2)
Блокада передневерхних разветвлений левой ножки пучка Гиса	15 (6,2)
Пароксизмальная АВ-узловая реципрокная тахикардия	1 (0,4)
Фибрилляция желудочков	1 (0,4)
Итого	241 (100,0)

Таблица 3. *Нарушения ритма и проводимости у пациентов после TAVR*

Table 3. *Rhythm and conduction disturbance in patients after TAVR*

Нарушение ритма и проводимости	*n* (%)
Брадиаритмия (синоаурикулярные блокады и/или синусовая брадикардия)	5 (6,0)
АВБ II–III степени	11 (13,3)
ФП	11 (13,3)
Желудочковая тахикардия	6 (7,2)
Блокада правой ножки пучка Гиса	8 (9,6)
БЛНПГ	22 (26,5)
АВ-блокады I степени и транзиторные АВ-блокады I степени	5 (6,0)
Желудочковая и наджелудочковая экстрасистолия	15 (18,1)
Всего	83 (100,0)

го (11,1 %) – БЛНПГ. Далее анализ проводился 148 (94,3 %) пациентам, без участия лиц с ранее имплантированным пЭКС. Всего случаев нарушения ритма и проводимости после TAVR зафиксировано 83 (табл. 3). 35 (23,6 %) пациентам после TAVR применялась вЭКС, 34 (23,0 %) – в течение первых двух суток после оперативного вмешательства и одному (0,7 %) – по прошествии трех суток. При определении причин установки вЭКС после TAVR было выявлено, что брадикардия возникала вследствие нарушения АВ проведения (25 (16,9 %) человек) и дисфункции синусового узла (10 (6,8 %) случаев). У двух (2,4 %) пациентов во время проведения вЭКС возникла ФП и у трех (3,6 %) – БЛНПГ. По результатам регрессионного анализа выявлено шесть значимых факторов риска для вЭКС: БЛНПГ (p = 0,002), ФП (p = 0,030), АВБ I степени (p = 0,032), возраст (p = 0,012), женский пол (p = 0,033) и инфаркт миокарда в анамнезе (p = 0,024).

Имплантация пЭКС после установки TAVR выполнена 12 (8,1 %) пациентам, из них 9 (6,1 %) – вследствие развития полной АВБ и трем (2,0 %) – по причине дисфункции синусового узла. Среди больных, которым имплантировали пЭКС, у одного (8,3 %) вновь возникла ФП и еще у одного (8,3 %) – БЛНПГ. После выполнения корреляционно-регрессионного анализа получены следующие наиболее значимые факторы риска для имплантации пЭКС: наличие до оперативного вмешательства ФП (r = 0,160, p = 0,002) и наличие до TAVR БЛНПГ (r = 0,108, p = 0,037). Определение отношения шансов (ОШ) позволило установить три значимых фактора риска для имплантации как временных, так и постоянных ЭКС – наличие БЛНПГ (ОШ 3,275, 95%-й доверительный интервал (95 % ДИ) 1,225–9,920, p < 0,05), ФП (ОШ 1,749, 95 % ДИ 1,342–2,921, p < 0,05) и АВБ I степени (ОШ 2,595, 95 % ДИ 1,614–16,930, p < 0,05). То есть шанс имплантации вЭКС и пЭКС в 3,3 раза выше, если у пациента присутствует БЛНПГ, в 1,7 раза больше, если у пациента ФП, и в 2,6 раза выше при наличии АВБ I степени.

Обсуждение

Несмотря на имеющиеся в настоящее время методы лечения по замене аортального клапана, к сожалению, инвалидизация и смертность пациентов с пороками сердца остаются на высоком уровне. В связи с увеличением продолжительности жизни повышается и средний возраст пациентов с аортальным стенозом, а значит, увеличивается и коморбидная патология. Практически единственным методом лечения пациентов с высоким хирургическим риском является TAVR. Одним из наиболее частых осложнений, возникающих

у пациентов после оперативного вмешательства на аортальном клапане, могут быть нарушения в проводящей системе сердца. При выполнении TAVR близкое расположение атриовентрикулярной проводящей системы к субаортальной области во время введения проводника, предварительной дилатации баллоном и развертывания клапана при TAVR способствуют механическому повреждению данной области, что способствует появлению АВБ и БЛНПГ [14, 15]. Анализ данных литературы показал, что новая БЛНПГ после TAVR развивается в 4–65 % случаев, по нашим данным – в 26,5 %; согласно данным литературы, наиболее важными прогностическими факторами проведения вЭКС являются БЛНПГ, в том числе впервые возникшая, и синусовая брадикардия [16, 17], а постоянной ЭКС – БЛНПГ, АВБ I степени и ФП [18, 19]. АВБ, требующие имплантации вЭКС и/или пЭКС при TAVR, у большинства пациентов возникают в течение 24 ч после оперативного лечения, у 30 % – через 48 ч. Наличие ранее существовавших блокад, в частности БЛНПГ, имеет четкую связь с более высоким риском имплантации пЭКС через 30 дней [1, 12, 19].

Согласно полученным нами данным, вЭКС для лечения брадиаритмий потребовались в 23,6 % случаев, в основном в течение первых двух суток. У 12 (34,2 %) из 35 пациентов с вЭКС брадиаритмии сохранялись, и этим больным был имплантирован пЭКС: в 7 (20,0 %) случаях в период от 4 до 20 суток, в 5 (14,3 %) – в период от полугода до 3,6 года. Факторами риска проведения вЭКС являлись ПБЛНПГ, ФП, АВБ I степени, возраст, женский пол и инфаркт миокарда в анамнезе, а для имплантации пЭКС – наличие до оперативного вмешательства ФП и наличие до TAVR БЛНПГ.

Заключение

Полученные нами данные о значении ряда факторов (наличие ФП, БЛНПГ, возраст, женский пол, АВБ I степени, инфаркт миокарда в анамнезе), увеличивающих риск возникновения тяжелых брадиаритмий, целесообразно использовать в клинической практике после проведения TAVR для своевременного применения вЭКС и имплантации пЭКС.

Список литературы / References

1. Chetrit M., Khan M.A., Kapadia S. State of the art management of aortic valve disease in ankylosing spondylitis. *Curr. Rheumatol. Rep*. 2020;22(6):23. doi: 10.1007/s11926-020-00898-4

2. Lindman B.R., Sukul D., Dweck M.R., Madhavan M.V., Arsenault B.J., Coylewright M., Merryman W.D., Newby D.E., Lewis J., Harrell F.E. Jr., Mack M.J., Leon M.B., Otto C.M., Pibarot P. Evaluating medical therapy for calcific aortic stenosis: JACC State-of-the-Art Review. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2021;78(23):2354–2376. doi: 10.1016/j.jacc.2021.09.1367

3. Rajput F.A., Zeltser R. Aortic valve replacement. In: StatPearls [Internet]. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537136/

4. Протопопов А.В., Ганюков В.И., Тарасов Р.С. Транскатетерные вмешательства при патологии клапанов сердца. Красноярск: Версо, 2021. 528 с.

Protopopov A.V., Ganjukov V.I., Tarasov R.S. Transcatheter interventions in pathology of heart valves. Krasnoyarsk: Verso, 2021. 528 p. [In Russian].

5. Lee H.J., Kim H.K. Natural history data in symptomatic severe aortic stenosis alerts cardiologists to the dangers of No action. *Korean Circ. J.* 2019;49(2):170–172. doi: 10.4070/kcj.2018.0344

6. Michalski B., Dweck M.R., Marsan N.A., Cameli M., d'Andrea A., Carvalho R.F., Holte E., Podlesnikar T., Manka R., Haugaa K.H. The evaluation of aortic stenosis, how the new guidelines are implemented across Europe: a survey by EACVI. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging*. 2020;21(4):357–362. doi: 10.1093/ehjci/jeaa009

7. Swift S.L., Puehler T., Misso K., Lang S.H., Forbes C., Kleijnen J., Danner M., Kuhn C., Haneya A., Seoudy H., Cremer J., Frey N., Lutter G., Wolff R., Scheibler F., Wehkamp K., Frank D. Transcatheter aortic valve implantation versus surgical aortic valve replacement in patients with severe aortic stenosis: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2021;11(12):e054222. doi: 10.1136/bmjopen-2021-054222

8. Протопопов А.В., Кочкина К.В., Маштакова О.Б., Дружинина С.М., Пустовойтов А.В., Федченко Я.О., Бигашев Р.Б., Линев К.А., Усик Г.А., Устюгов С.А., Мызников А.В., Малышкин Д.А. Эндоваскулярное протезирование аортального клапана у больных молодого возраста. *Диагност. и интервенц. радиол.* 2014;8(1):47–53.

Protopopov A.V., Kochkina K.V., Mashtakova O.B., Druzhinina S.M., Pustovojtov A.V., Fedchenko Ya.O., Bigashev R.B., Linev K.A., Usik G.A., Ustjugov S.A., Myznikov A.V., Malyshkin D.A. Transcatheter aortic valve replacement in young patients. *Diagnosticheskaya i interventsionnaya radiologiya = Diagnostic and Interventional Radiology*. 2014; 8(1):47–53. [In Russian].

9. Malik A.H., Zaid S., Ahmad H., Goldberg J., Dutta T., Undemir C., Cohen M., Aronow W.S., Lansman S.L. A meta-analysis of 1-year outcomes of transcatheter versus surgical aortic valve replacement in low-risk patients with severe aortic stenosis. *J. Geriatr. Cardiol*. 2020;17(1):43–50. doi: 10.11909/j.issn.1671-5411.2020.01.005

10. Judson G.L., Agrawal H., Mahadevan V.S. Conduction system abnormalities after transcatheter aortic valve replacement: mechanism, prediction, and man-

agement. *Interv. Cardiol. Clin.* 2019;8(4):403–409. doi: 10.1016/j.iccl.2019.06.003

11. MacCarthy P., Zaman A., Uren N., Cockburn J., Dorman S., Malik I., Muir D., Ozkor M.M., Smith D., Shield S. Minimising permanent pacemaker implantation (PPI) after TAVI. *Br. J. Cardiol.* 2021;28(2):20. doi: 10.5837/bjc.2021.020

12. Hayashidani S., Shiose A., Tsutsui H. New-onset left bundle branch block after transcatheter aortic valve implantation – not a harmless bystander. *Circ. J.* 2020;84(6):888–890. doi: 10.1253/circj.CJ-20-0292

13. Knecht S., Schaer B., Reichlin T., Spies F., Madaffari A., Vischer A., Fahrni G., Jeger R., Kaiser C., Osswald S., Sticherling C., Kühne M. Electrophysiology testing to stratify patients with left bundle branch block after transcatheter aortic valve implantation. *J. Am. Heart Assoc*. 2020;9(5):e014446. doi: 10.1161/JAHA.119.014446

14. Wang T., Ou A., Xia P., Tian J., Wang H., Cheng Z. Predictors for the risk of permanent pacemaker implantation after transcatheter aortic valve replacement: A systematic review and meta-analysis. *J. Card. Surg*. 2022;37(2):377–405. doi: 10.1111/jocs.16129

15. Tsoi M., Tandon K., Zimetbaum P.J., Frishman W.H. Conduction disturbances and permanent pacemaker implantation after transcatheter aortic valve replacement: predictors and prevention. *Cardiol. Rev.* 2022;30(4):179–187. doi: 10.1097/CRD.0000000000000398

16. Leong D., Sovari A.A., Ehdaie A., Chakravarty T., Liu Q., Jilaihawi H., Makkar R., Wang X., Cingolani E., Shehata M. Permanent-temporary pacemakers in the management of patients with conduction abnormalities after transcatheter aortic valve replacement. *J. Interv. Card. Electrophysiol*. 2018;52(1):111–116. doi: 10.1007/s10840-018-0345-z

17. Chang S.S., Liu X.M., Lu Z.N., Yao J., Yin C.Q., Wu W.H., Yuan F., Luo T.Y., Jiang Z.M., Song G.Y. Feasibility study of using bridging temporary permanent pacemaker in patients with high-degree atrioventricular block after TAVR. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2023;51(6):648–655. doi: 10.3760/cma.j.cn112148-20221116-00898

18. Sammour Y., Krishnaswamy A., Kumar A., Puri R., Tarakji K.G., Bazarbashi N., Harb S., Griffin B., Svensson L., Wazni O., Kapadia S.R. Incidence, predictors, and implications of permanent pacemaker requirement after transcatheter aortic valve replacement. *JACC Cardiovasc. Interv.* 2021;14(2):115–134. doi: 10.1016/j.jcin.2020.09.063

19. Mahajan S., Gupta R., Malik A.H., Mahajan P., Aedma S.K., Aronow W.S., Mehta S.S., Lakkireddy D.R. Predictors of permanent pacemaker insertion after TAVR: A systematic review and updated meta-analysis. *J. Cardiovasc. Electrophysiol*. 2021;32(5):1411–1420. doi: 10.1111/jce.14986

Сведения об авторах:

Столбиков Юрий Юрьевич, ORCID: 0000-0002-7145-7767, e-mail: stolbikov1989@mail.ru
Матюшин Геннадий Васильевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-0150-6092, e-mail: matyushin1@yandex.ru
Протопопов Алексей Владимирович, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-5387-6944, e-mail: rector@krasgmu.ru
Самохвалов Евгений Владимирович, ORCID: 0000-0003-1541-011X, e-mail: samokhvalov@medgorod.ru
Ищенко Ольга Петровна, ORCID: 0000-0002-1784-9356, e-mail: fridag@yandex.ru
Кобаненко Владислав Олегович, ORCID: 0000-0003-3889-1956, e-mail: kobanenko1999@bk.ru

Information about the authors:

Yuri Yu. Stolbikov, ORCID: 0000-0002-7145-7767, e-mail: stolbikov1989@mail.ru
Gennady V. Matyushin, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-0150-6092, e-mail: matyushin1@yandex.ru
Alexey V. Protopopov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-5387-6944, e-mail: rector@krasgmu.ru
Evgeny V. Samokhvalov, ORCID: 0000-0003-1541-011X, e-mail: samokhvalov@medgorod.ru
Olga P. Ishchenko, ORCID: 0000-0002-1784-9356, e-mail: fridag@yandex.ru
Vladislav O. Kobanenko, ORCID: 0000-0003-3889-1956, e-mail: kobanenko1999@bk.ru

Поступила в редакцию 27.05.2024
Принята к публикации 25.10.2024

Received 27.05.2024
Accepted 25.10.2024

УДК 616.89-008:613.96:616.248 DOI: 10.18699/SSMJ20240625
Оригинальное исследование / Research article

Социально-психологические проблемы у подростков с неконтролируемым течением бронхиальной астмы

Л.С. Эверт[1, 2], С.Ю. Терещенко[1], М.В. Шубина[1], Н.Н. Горбачева[1], Ю.Р. Костюченко[1]

[1] НИИ медицинских проблем Севера ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г
[2] Хакасский государственный университет имени Н.Ф. Катанова
655017, г. Абакан, ул. Ленина, 90

Резюме

Цель исследования – изучить наличие социально-психологических проблем и их особенности у подростков с неконтролируемым течением бронхиальной астмы (БА). **Материал и методы.** Обследовано 212 подростков с БА – пациентов легочно-аллергологического центра: 90 человек с неконтролируемой БА (основная группа), 22 – с частично контролируемой и 100 – с контролируемой БА (группы сравнения); 136 (64,2 %) мальчиков и 76 (35,8 %) девочек; возраст 14 [13; 15] лет (медиана [нижняя квартиль; верхняя квартиль]). Исследовали особенности просоциального поведения, наличие и выраженность эмоциональных расстройств. Определяли значения суммарного балла шкал применяемого психометрического опросника (тест Strengths and Difficulties Questionnaire, SDQ). Оценивали показатели в основной группе и группах сравнения, в том числе с учетом возрастно-половой принадлежности. **Результаты.** У подавляющего большинства обследованных характеристики обеих шкал опросника, независимо от контролируемости БА, пола и возраста подростков, не отклонялись от нормы. Второе и третье ранговые места занимали соответственно пограничные и отклоняющиеся от нормы показатели. Средние значения суммарного балла шкал опросника были выше у подростков с неконтролируемой БА, как мальчиков, так и девочек. **Заключение**. Необходимо проведение дальнейших исследований, направленных на диагностику ассоциированных с неконтролируемой БА социально-психологических проблем для их своевременной коррекции с целью достижения контроля за течением астмы, повышения эффективности лечения и улучшения прогноза у подростков с данной патологией.

Ключевые слова: подростки, бронхиальная астма, контролируемая астма, частично контролируемая астма, неконтролируемая астма, просоциальное поведение, эмоциональные симптомы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке поискового научного исследования НИИ медицинских проблем Севера «Разработка технологий оценки факторов риска и маркеров неконтролируемого течения бронхиальной астмы у детей» 2024–2026 гг.

Автор для переписки: Эверт Л.С., e-mail: lidiya_evert@mail.ru

Для цитирования: Эверт Л.С., Терещенко С.Ю., Шубина М.В., Горбачева Н.Н., Костюченко Ю.Р. Социально-психологические проблемы у подростков с неконтролируемым течением бронхиальной астмы. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2024;44(6):231–241. doi: 10.18699/SSMJ20240625

Socio-psychological problems in adolescents with uncontrolled bronchial asthma

L.S. Evert[1, 2], S.Yu. Tereshchenko[1], M.V. Shubina[1], N.N. Gorbacheva[1], Yu.R. Kostyuchenko[1]

[1] Research Institute of Medical Problems of the North of Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
660022, Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka st., 3g
[2] Khakass State University named after N.F. Katanova
655017, Abakan, Lenina st., 90

Abstract

The purpose of the study is to study the presence and characteristics of socio-psychological problems in adolescents with uncontrolled bronchial asthma (BA). **Material and methods.** We examined 212 adolescents with BA – patients of the pulmonary allergy center: 90 people with uncontrolled BA (the main group), 22 – with partially controlled asthma and 100 – with controlled asthma (the comparison groups); 136 (64.2 %) boys and 76 (35.8 %) girls; age 14 [13; 15] years (median [lower quartile; upper quartile]). The characteristics of prosocial behavior, the presence and severity of emotional disorders were studied. The values of the total score of the scales of the psychometric questionnaire used (Strengths and Difficulties Questionnaire, SDQ test) were determined. The indicators were assessed in the main and comparison groups, including taking into account age and gender. **Results.** In the vast majority of those examined, the characteristics of both scales of the questionnaire, regardless of the controllability of asthma, gender and age of adolescents, did not deviate from the norm. The second and third ranking places were occupied by borderline and deviating indicators, respectively. The average values of the total scores of the questionnaire scales were higher in adolescents with uncontrolled BA, both boys and girls. **Conclusions.** It is necessary to conduct further research aimed at diagnosing socio-psychological problems associated with uncontrolled BA for their timely correction in order to achieve control over the course of asthma, increase the effectiveness of treatment and improve the prognosis in adolescents with this pathology.

Key words: adolescents, bronchial asthma, controlled asthma, partially controlled asthma, uncontrolled asthma, prosocial behavior, emotional symptoms.

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

Financing. The study was carried out with the financial support of an exploratory scientific study of the Research Institute of Medical Problems of the North “Development of technologies for assessing risk factors and markers of uncontrolled bronchial asthma in children” 2024–2026.

Correspondence author: Evert L.S., e-mail: lidiya_evert@mail.ru

Citation: Evert L.S., Tereshchenko S.Yu., Shubina M.V., Gorbacheva N.N., Kostyuchenko Yu.R. Socio-psychological problems in adolescents with uncontrolled bronchial asthma. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):231–241. doi: 10.18699/SSMJ20240625

Введение

Бронхиальная астма (БА) является одним из наиболее распространенных хронических заболеваний среди детей и подростков, существенно влияющих на качество жизни пациентов и их семей [1, 2]. В XXI в. данная патология продолжает оставаться чрезвычайно актуальной проблемой современной педиатрии. На сегодняшний день распространенность БА у детей варьирует от 5 до 10 % и почти в 2 раза превышает уровень заболеваемости взрослых [3, 4]. БА ухудшает психическое здоровье пациентов, существенно снижает качество их жизни, в половине случаев приводит к инвалидности. Тяжелые формы сопряжены с риском летальности [5].

В последние годы значительно возросла роль психоэмоциональных и психосоциальных факторов в этиологии и патогенезе БА [6–8]. Эмоциональные переживания, стрессы являются благоприятной почвой для обострения заболевания, эмоции являются самым мощным предшественником астматического приступа [9, 10]. К обострению БА могут привести различные триггеры, индуцирующие воспаление дыхательных путей или провоцирующие острый бронхоспазм. Значимыми триггерами могут быть эмоциональные реакции и психосоциальные факторы [11]. Особенности психоэмоционального статуса, нежелание постоянно применять препараты, недооценка тяжести болезни, курение (активное и пассивное, в том числе электронных сигарет) являются факторами, предрасполагающими к низкому уровню контроля БА [11, 12].

Несмотря на достигнутые успехи в диагностике и лечении, контроль над заболеванием остается недостаточным у значительной части пациентов. Это обусловлено как сложностью патофизиологических механизмов БА, так и влиянием психосоциальных факторов на течение болезни. Актуальной и нерешенной является проблема психосоциальной коморбидности у подростков с отсутствием контроля БА [13]. БА у подростков часто ассоциирована с наличием симптомов тревоги [14] и депрессии [15]. В этой связи актуальной является оценка коморбидных психосоциальных проблем у подростков с неконтролируемым течением заболевания с использованием высоко информативных, международно принятых опросников.

Таким образом, изучение психоэмоционального состояния и социально-психологических проблем у подростков, страдающих БА, особенно при отсутствии контроля за ее течением, является

актуальной проблемой, требующей незамедлительного решения, что и обусловило необходимость проведения нашей работы, целью которой было изучение наличия и особенностей социально-психологических проблем у подростков с неконтролируемым течением БА.

Материал и методы

Проведение исследования одобрено комитетом по биомедицинской этике ФИЦ Красноярский научный центр СО РАН. Информированное согласие получено от родителей или опекунов подростков 12–14 лет и самих подростков в возрасте 15 лет и старше.

Объектом исследования была клиническая выборка 212 подростков с БА – пациентов легочно-аллергологического центра, в том числе 90 (42,4 %) – с неконтролируемой БА (НКБА), 22 (10,4 %) – с частично контролируемой БА (ЧКБА) и 100 (47,2 %) – с контролируемой БА (КБА). Распределение пациентов по полу было следующим: 136 (64,2 %) мальчиков и 76 (35,8 %) девочек. Возраст обследованных составил 14 [13; 15] лет (медиана [нижняя квартиль; верхняя квартиль], Me [Q1; Q3]). Основная группа включала подростков с НКБА, в группы сравнения включены лица с ЧКБА и КБА. Число мальчиков с НКБА составило 60 (28,3 %), их возраст – 14 [13; 16] лет; девочек с НКБА – 30 (14,2 %), их возраст – 15 [13; 16] лет; мальчиков с ЧКБА – 18 (8,5 %), их возраст – 14 [13; 16] лет; девочек с ЧКБА – 4 (1,9 %), их возраст – 17 [14; 17] лет; мальчиков с КБА – 58 (27,3 %), их возраст – 14 [13; 15] лет; девочек с КБА – 42 (19,8 %), их возраст – 14 [13; 15] лет.

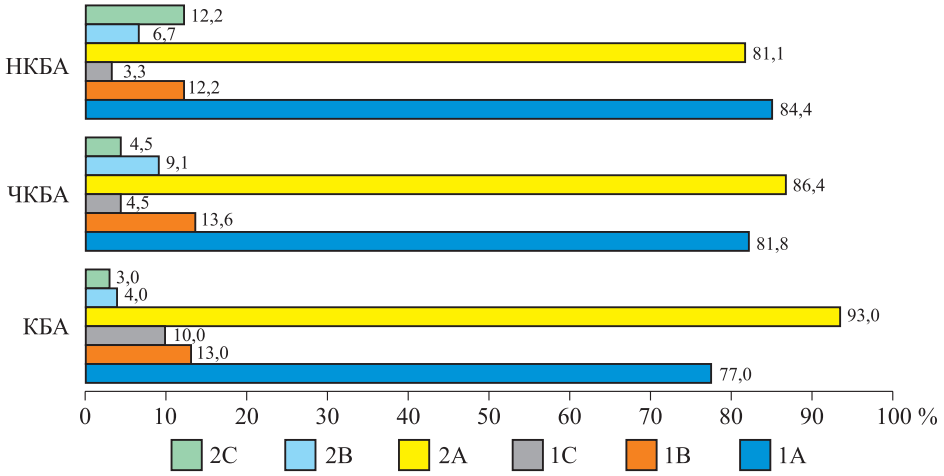
Сбор информации осуществляли с использованием стандартизованного скринингового опросника «Сильные стороны и трудности» (Strengths and Difficulties Questionnaire, SDQ) [16], русскоязычная версия которого ранее валидизирована Е.Р. Слободской и соавт. [17]. Опросник состоит из 25 утверждений, касающихся нарушений эмоционального состояния, проблемного и социально одобряемого поведения у подростка за последние 6 месяцев. Ответы оцениваются по 3-балльной шкале Лайкерта как «неверно», «отчасти верно» или «верно» и группируются по шести шкалам. Каждая шкала состоит из пяти пунктов, общая оценка определяется суммированием соответствующих значений.

Дизайн исследования включал изучение у подростков основной группы (с НКБА) и двух групп сравнения (с ЧКБА и КБА) характеристик показателей (нормальные, пограничные, отклоняющиеся) двух шкал опросника SDQ: «Просоциальное поведение» и «Эмоциональные симптомы». Оценивали показатели в основной группе обследованных и группах сравнения, в том числе – с учетом пола (мальчики, девочки) и принадлежности к младшей (12–14 лет) и старшей (15–18 лет) возрастным группам. Контролируемость течения БА оценивалась с использованием шкалы «Тест по контролю над астмой (АСТ), Asthma Control test (ACT)» для подростков с 12 лет и старше [18, 19]. Шкала АСТ включает в себя 5 пунктов для самостоятельного заполнения пациентом с 12 лет и старше, каждому пункту присваивается значение от 1 до 5 баллов, которые затем суммируются (общее значение шкалы – 5–25 баллов). Сумма 25 баллов означает полный контроль; сумма 20–24 балла означает, что БА контролируется частично; сумма 19 баллов и меньше свидетельствует о НКБА.

Формой представления количественных показателей были Me [Q1; Q3], Mo (мода). Бинарные признаки представлены в виде абсолютных величин и относительных частот объектов исследования (*n,* %), границ 95%-го доверительного интервала (95 % ДИ), оцененного по методу Уилсона и рассчитанного с использованием онлайн-калькулятора. Уровень значимости различий (p) для количественных показателей при сравнении двух несвязанных выборок оценивался по критерию Манна – Уитни, для бинарных признаков – по критерию χ^2 Пирсона. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0{,}05$.

Результаты

Характерные особенности показателей по шкалам «Просоциальное поведение» и «Эмоциональные симптомы» у подростков с различным течением БА представлены на рисунке. Из общего числа обследованных у 171 (80,7 %) подростка просоциальное (социальное одобряемое) поведение было нормальным, у 27 (12,7 %) выявлены пограничные отклонения показателя и у 14 (6,6 %) верифицировано отклоняющееся от нормы просоциальное поведение. Статистически значимых различий между группами с КБА, ЧКБА и НКБА по всем рассматриваемым градациям не установлено (см. рисунок). По шкале «Эмоциональные симптомы» статистически значимые различия установлены среди подростков без отклонений эмоционального статуса от нормы: в группе с КБА таких лиц было больше, чем в группе с НКБП ($p = 0{,}0138$). Межгрупповые различия выявлены также среди подростков со значительно выраженными отклонениями от нормы эмоционального статуса: в группе с НКБА таких



Нормальные (1А), пограничные (1В) и отклоняющиеся (1С) показатели по шкале «Просоциальное поведение»; нормальные (2А), пограничные (2В) и отклоняющиеся (2С) показатели по шкале «Эмоциональные симптомы» у подростков с КБА, ЧКБА и НКБА, %

Normal (1A), borderline (1B) and deviant (1C) scores on the Prosocial Behavior scale; normal (2A), borderline (2B) and abnormal (2C) scores on the "Emotional Symptoms" scale in adolescents with controlled, partially controlled and uncontrolled BA, %

лиц было значительно больше, чем в группе с КБА ($p = 0{,}0151$) (см. рисунок).

Нами проведено также сравнение изучаемых показателей в зависимости от принадлежности подростка к возрастной группе – младшей (12–14 лет) или старшей (15–18 лет). Анализ межгрупповых различий показателей шкалы «Просоциальное поведение» в двух возрастных группах подростков с КБА, ЧКБА и НКБА статистически значимых различий не выявил. По шкале «Эмоциональные симптомы» установлена большая численность подростков 12–14 лет с отсутствием нарушений эмоционального статуса в группе с КБА в сравнении с лицами аналогичного возраста в группе с НКБА – соответственно 93,7 и 76,5 % ($p = 0{,}0078$). Пограничные (умеренно выраженные) отклонения в эмоциональном статусе чаще регистрировались у подростков 12–14 лет с НКБА, тогда как среди обследованных старшей возрастной группы (15–18 лет) с НКБА таких лиц не выявлено (соответственно 11,8 и 0,0 %, $p = 0{,}0266$), подростков 15–18 лет с умеренно выраженными отклонениями эмоционального статуса было больше в группе с ЧКБА, чем в группе с НКБА (соответственно 12,5 и 0,0 %, $p = 0{,}0256$).

Кроме анализа межгрупповых различий показателей и их градаций по шкалам, мы проанализировали внутригрупповые различия по каждой из двух шкал опросника. Второе ранговое место занимали пограничные градации признака, третье – отклоняющиеся. В табл. 1 представлены результаты сравнительного анализа особенностей просоциального (социально одобряемого) поведения подростков с различной контролируемостью БА.

Во всех сравниваемых группах независимо от степени контролируемости БА у подростков преобладало нормальное (без отклонений) просоциальное поведение, частота его встречаемости практически в 100 % случаев имела статистически значимые внутригрупповые различия с умеренно- и выраженными отклонениями поведения. Второе ранговое место в структуре просоциального поведения занимали пограничные (умеренно выраженные) его отклонения, но статистически значимые внутригрупповые различия с выраженными отклонениями данного показателя имели место только у подростков с неконтролируемой БА в общей выборке обследованных (без разделения по полу), а также у мальчиков с НКБА (см. табл. 1). В табл. 2 представлены результаты сравнительного анализа наличия и степени выраженности эмоциональных симптомов у подростков в зависимости от контролируемости у них БА. Выраженность симптомов эмоционального статуса, не отклоняющихся от нормы, преобладала у всех обследованных подростков. Относительно встречаемости отклонений от нормы эмоционального статуса, мы констатировали тенденцию к большей частоте значительно выраженных эмоциональных симптомов среди подростков с НКБА, а умеренно выраженных – среди подростков с ЧКБА, хотя отмеченные внутригрупповые различия не достигали уровня статистической значимости. Более высокой была частота встречаемости значительно выраженных отклонений от

Таблица 1. *Характеристика просоциального поведения у подростков с БА*

Table 1. *Characteristics of prosocial behavior in adolescents with bronchial asthma*

Группа	Без отклонений (a)		Отклонения умеренно выражены (b)		Отклонения значительно выражены (c)		*p*
	n (%)	95 % ДИ	*n* (%)	95 % ДИ	*n* (%)	95 % ДИ	
В общей группе обследованных							
КБА, *n* = 100	77 (77,0)	67,8–84,2	13 (13,0)	7,8–21,0	10 (10,0)	5,5–17,4	$p_{a–b}$ < 0,0001 $p_{a–c}$ < 0,0001 $p_{b–c}$ = 0,5061
ЧКБА, *n* = 22	18 (81,8)	61,5–92,7	3 (13,6)	4,7–33,3	1 (4,6)	0,8–21,8	$p_{a–b}$ < 0,0001 $p_{a–c}$ < 0,0001 $p_{b–c}$ = 0,2943
НКБА, *n* = 90	76 (84,4)	75,6–90,5	11 (12,2)	7,0–20,6	3 (3,3)	1,1–9,3	$p_{a–b}$ < 0,0001 $p_{a–c}$ < 0,0001 $p_{b–c}$ = 0,0260
В группах мальчиков и девочек							
КБА, мальчики, *n* = 58	41 (70,7)	58,0–80,8	9 (15,5)	8,4–26,9	8 (13,8)	7,2–24,9	$p_{a–b}$ < 0,0001 $p_{a–c}$ < 0,0001 $p_{b–c}$ = 0,7929
КБА, девочки, *n* = 42	36 (85,7)	72,2–93,3	4 (9,5)	3,8–22,1	2 (4,8)	1,3–15,8	$p_{a–b}$ < 0,0001 $p_{a–c}$ < 0,0001 $p_{b–c}$ = 0,2270
ЧКБА, мальчики, *n* = 18	14 (100,0)	54,8–91,0	0 (0,0)	0,0–17,6	0 (0,0)	0,0–17,6	$p_{a–b}$ = 0,0002 $p_{a–c}$ < 0,0001 $p_{b–c}$ = 0,2889
ЧКБА, девочки, *n* = 4	4 (81,8)	51,0–100,0	3 (13,6)	30,1–95,4	1 (4,6)	4,6–69,9	$p_{a–b}$ = 0,0047 $p_{a–c}$= 0,0047 $p_{b–c}$ –
НКБА, мальчики, *n* = 60	49 (81,7)	70,1–89,4	9 (15,0)	8,1–26,1	2 (3,3)	0,9–11,4	$p_{a–b}$ < 0,0001 $p_{a–c}$ < 0,0001 $p_{b–c}$ = 0,0268
НКБА, девочки, *n* = 30	27 (90,0)	74,4–96,5	2 (6,7)	1,8–21,3	1 (3,3)	0,6–16,7	$p_{a–b}$ < 0,0001 $p_{a–c}$ < 0,0001 $p_{b–c}$ = 0,5536
Всего, *n* = 212	171 (80,7)	74,8–85,4	27 (12,7)	8,9–17,9	14 (6,6)	4,0–10,8	

нормы эмоциональных симптомов у подростков общей выборки с НКБА и у девочек с НКБА (см. табл. 2).

Результаты сравнительного анализа количественных значений суммарного балла по каждой из двух шкал опросника с учетом контролируемости течения БА и половой принадлежности подростков отражены в табл. 3.

Мальчики с НКБА отличались более высокими значениями суммарного балла шкалы «Просоциальное поведение» в сравнении с мальчиками из группы с КБА. Аналогичными были различия величин суммарного балла по шкале «Эмоциональные симптомы» между указанными выше группами девочек. Кроме того, более высокими средними значениями суммарного балла по шкале «Эмоциональные симптомы» характеризовались девочки с НКБА в отличие от мальчиков такой же группы (см. табл. 3).

Обсуждение

БА является распространенным хроническим заболеванием и серьезной проблемой общественного здравоохранения для детей, подростков и взрослых, и ее рост продолжается [4, 14, 20, 21]. БА в подростковом возрасте может вызывать социальные, психологические [22] и поведенческие проблемы [23–26]. Подростковый возраст, переломный в становлении физического и психологического статуса человека, накладывает отпечаток на течение ряда заболеваний. Кроме этого, подростки, страдающие БА, сталкиваются с необходимостью лечения БА и риском ее последствий, включая летальный исход [5].

Таблица 2. *Эмоциональные симптомы у подростков с БА*

Table 2. *Emotional symptoms in adolescents with bronchial asthma*

Группа	В пределах нормы (a)		Отклонения умеренно выражены (b)		Отклонения значительно выражены (c)		*p*
	n (%)	95 % ДИ	*n* (%)	95 % ДИ	*n* (%)	95 % ДИ	
В общей группе обследованных							
КБА, *n* = 100	93 (93,0)	86,3–96,6	4 (4,0)	1,6–9,8	3 (0,0)	1,0–8,5	$p_{a–b} < 0,0001$ $p_{a–c} < 0,0001$ $p_{b–c} = 0,7004$
ЧКБА, *n* = 22	19 (86,4)	66,7–95,3	2 (9,1)	2,5–27,8	1 (4,5)	0,8–21,8	$p_{a–b} < 0,0001$ $p_{a–c} < 0,0001$ $p_{b–c} = 0,5498$
НКБА, *n* = 90	73 (81,1)	71,8–87,9	6 (6,7)	3,1–13,8	11 (12,2)	7,0–20,6	$p_{a–b} < 0,0001$ $p_{a–c} < 0,0001$ $p_{b–c} = 0,2025$
В группах мальчиков и девочек							
КБА, мальчики, *n* = 58	56 (96,5)	88,3–99,0	1 (1,7)	0,3–9,1	1 (1,7)	0,3–9,1	$p_{a–b} < 0,0001$ $p_{a–c} < 0,0001$ $p_{b–c} = 1,0000$
КБА, девочки, *n* = 42	37 (88,1)	75,0–94,8	3 (7,1)	2,5–19,0	2 (4,8)	1,3–15,8	$p_{a–b} < 0,0001$ $p_{a–c} < 0,0001$ $p_{b–c} = 0,6447$
ЧКБА, мальчики, *n* = 18	16 (88,9)	67,2–96,9	1 (5,6)	1,0–25,8	1 (5,6)	1,0–25,8	$p_{a–b} < 0,0001$ $p_{a–c} < 0,0001$ $p_{b–c} = 1,0000$
ЧКБА, девочки, *n* = 4	3 (75,0)	30,1–95,4	1 (25,0)	4,6–69,9	0 (0,0)	0,0–49,0	$p_{a–b} = 0,1573$ $p_{a–c} = 0,0285$ $p_{b–c} = 0,2851$
НКБА, мальчики, *n* = 60	56 (93,3)	84,1–97,4	1 (1,7)	0,3–8,9	3 (5,0)	1,7–13,7	$p_{a–b} < 0,0001$ $p_{a–c} < 0,0001$ $p_{b–c} = 0,3091$
НКБА, девочки, *n* = 30	17 (56,7)	39,2–72,6	5 (16,7)	7,3–33,6	8 (26,7)	14,2–44,4	$p_{a–b} = 0,0013$ $p_{a–c} = 0,0184$ $p_{b–c} = 0,3472$
Всего, *n* = 212	185 (87,3)	82,1–91,1	12 (5,7)	3,3–9,6	15 (7,1)	4,3–11,3	

В настоящее время признано, что биологические и психосоциальные факторы способствуют распространению БА во всем мире. Психосоциальные факторы связаны с тяжестью БА, но остаются малоизученными [8]. Важность верификации и коррекции психосоциальных факторов в лечении БА давно признана, нарушения эмоционального статуса и психосоциальные переменные могут влиять на приверженность лечению [7]. Проблема психоэмоционального состояния больных БА имеет большое значение с социальной точки зрения [27, 28]. Часто БА ассоциирована с наличием тревожного состояния [29, 30] и депрессии [31]. Нередко манифестация БА у подростков происходит вследствие психосоциальных стрессовых воздействий: смерти близкого человека, развода родителей, разрыва романтических взаимоотношений, проблем межличностных коммуникаций в семье [32]. В то же время у детей и подростков с БА до настоящего времени немногочисленны исследования, направленные на изучение социально-психологических проблем [33], особенностей эмоционального статуса [9, 34], не разработаны оптимальные методы психотерапевтического воздействия с учетом индивидуальных факторов, что значительно снижает эффективность терапии и вторичной профилактики данных проявлений при БА у пациентов детского возраста.

В настоящее время в мировой практике широко применяются скрининговые опросники, предложенные английским психиатром Р. Гудманом, которые подтвердили свою высокую диагностическую значимость при клинических испытаниях. Использованный нами опросник Р. Гудмана SDQ также применялся рядом исследователей, но

Таблица 3. *Характеристики суммарного балла шкал опросника у мальчиков и девочек с БА*

Table 3. *Features of the total score of the questionnaire scales for boys and girls with bronchial asthma*

Группа	M	*n*	Me	Mo	Q_1	Q_3	*p*
По шкале «Просоциальное поведение»							
1. Мальчики с КБА	7,21	133	7,00	Множ.	6,00	9,00	$p_{1–2} = 0,1287$ $p_{3–4} = 0,1524$ $p_{5–6} = 0,9895$ $p_{1–3} = 0,9360$ $p_{1–5} = 0,0148$ $p_{3–5} = 0,1042$ $p_{2–4} = 0,3211$ $p_{2–6} = 0,5036$ $p_{4–6} = 0,5292$
2. Девочки с КБА	7,39	117	8,00	Множ.	6,00	9,00	
3. Мальчики с ЧКБА	7,16	94	7,00	8,00	6,00	9,00	
4. Девочки с ЧКБА	7,29	83	7,00	Множ.	6,00	9,00	
5. Мальчики с НКБА	7,53	132	8,00	10,00	6,00	9,00	
6. Девочки с НКБА	7,43	107	8,00	8,00	6,00	9,00	
По шкале «Эмоциональные симптомы»							
1. Мальчики с КБА	2,32	133	2,00	0,00	1,00	3,00	$p_{1–2} = 0,0817$ $p_{3–4} = 0,0557$ $p_{5–6} = 0,0001$ $p_{1–3} = 0,7259$ $p_{1–5} = 0,8573$ $p_{3–5} = 0,9122$ $p_{2–4} = 0,1796$ $p_{2–6} = 0,0074$ $p_{4–6} = 0,7464$
2. Девочки с КБА	2,73	117	2,00	0,00	1,00	5,00	
3. Мальчики с ЧКБА	2,65	94	2,00	Множ.	1,00	4,00	
4. Девочки с ЧКБА	2,82	83	2,00	0,00	1,00	5,00	
5. Мальчики с НКБА	2,40	132	2,00	0,00	0,00	4,00	
6. Девочки с НКБА	3,15	107	2,00	0,00	1,00	5,00	

Примечание. M – среднее арифметическое, Mo – мода.

при других патологических состояниях и заболеваниях, в том числе – для оценки этногеографических [35] и возрастно-половых [36] различий показателей психического здоровья. Так, в работе Е.В. Резун и соавт. он был включен в программу исследований для определения половозрастных различий в уровне психического здоровья, оцениваемого по шкалам SDQ, у 1752 подростков двух крупных городов Сибири (Новосибирск и Красноярск) [36]. В исследовании Н.Б. Семеновой и соавт. с применением опросника SDQ изучалась распространенность и психическая коморбидность интернет-зависимого поведения у 2950 подростков 11–18 лет г. Красноярска [37]. Для анализа психического статуса 175 подростков с различными видами онлайн-поведения (адаптивным, неадаптивным и патологическим) авторами использована верифицирующая компьютерная программа DAWBA, разработанная на основе опросника SDQ [38]. Психоэмоциональные расстройства в популяционной выборке 5195 подростков Сибирского региона оценивались при компьютеризированном тестировании в программе «The Development and Well-Being Assessment» (DAWBA) [39]. В работе Н.Б. Семеновой и соавт. рассмотрены возможности использования теста Р. Гудмана для оценки психического здоровья детей и подростков Республики Саха (Якутия) [40]. О.И. Зайцевой и соавт. по опроснику SDQ изучены особенности психологических проблем у подростков Республики Тыва с разными видами онлайн-поведения [41].

Однако работы по использованию данного скринингового инструмента у подростков с БА немногочисленны [2, 42, 43], крайне мало таких исследований в России. Недостаточно внимания уделяется изучению особенностей реагирования детей и подростков, больных БА, на стрессовые ситуации, исследованию неосознанных и осознанных защитных механизмов, субъективного восприятия ими качества жизни. Среди обширного спектра эмоциональных расстройств наиболее частыми и клинически значимыми являются тревога и депрессия. Подростки с БА испытывают тревогу и страх перед возможным приступом затрудненного дыхания (удушья). Для больных БА общим признаком в структуре их эмоционально-личностного фона является доминирование агрессивности и тревожности. Исходом указанных нарушений нередко является развитие депрессии. Наличие неоднократно испытываемого чувства страха, растерянности и подавленности при возникновении угрожающей ситуации (в данном случае – эпизода затрудненного дыхания, удушья) является причиной формирования эмоциональной неустойчивости и социальной дезадаптации у пациентов с БА.

Ассоциированные с БА нарушения психического статуса требуют своевременной коррекции, поскольку эмоциональные расстройства приводят к снижению адаптивных возможностей под-

ростков с БА, ведут к возникновению проблем во взаимоотношениях в школьном коллективе и семье, у таких лиц выше риск неконтролируемого течения БА. У подростков с низким уровнем контроля БА или полным его отсутствием больше частота и тяжесть эпизодов обострений заболевания, сопровождающихся расстройствами психоэмоционального спектра (тревогой, депрессией), нарушениями межличностных взаимоотношений и просоциального поведения. Вышесказанным, вероятно, можно объяснить и полученные в нашем исследовании результаты, иллюстрирующие более частую встречаемость психосоциальных проблем и большую степень их выраженности у подростков с неконтролируемой БА.

В процессе реализованного исследования проведен структурированный анализ социально-психологических проблем у подростков с НКБА: особенностей эмоционального статуса и просоциального поведения. Полученные показатели сопоставлены с аналогичными характеристиками подростков с ЧКБА и КБА. Проведен сравнительный анализ количественных значений суммарного балла по анализируемым шкалам опросника в исследуемых группах подростков. Определены межгрупповые и внутригрупповые различия изученных показателей с учетом контролируемости БА и возрастно-половой принадлежности подростков. Полученные нами результаты подтверждаются выполненными в последние годы исследованиями, указывающими на актуальность рассматриваемой проблемы и важность ее решения [6–8, 44, 45]. Все это свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения ассоциированных с БА социально-психологических проблем для их своевременной диагностики и коррекции с целью повышения эффективности лечения и улучшения прогноза данного заболевания.

Заключение

В данном исследовании изучены особенности социально-психологических проблем у подростков с неконтролируемым течением БА. Представлена характеристика эмоционального статуса и просоциального поведения, ассоциированного с НКБА, в сравнении с аналогичными показателями подростков с КБА и ЧКБА. Установлены значимые различия величин суммарного балла по шкалам опросника в исследуемых группах: более высокими значениями отличались подростки с НКБА (как мальчики, так и девочки), у девочек анализируемый показатель был выше, чем у мальчиков. Выявлены межгрупповые и внутригрупповые различия изученных параметров в зависимости от уровня контроля заболевания и возрастно-половой принадлежности обследованных. На основании полученных нами данных можно резюмировать, что безусловно важным и необходимым является дальнейшее изучение не только рассмотренных в работе социально-психологических факторов неконтролируемости БА, но и расширение их спектра, детализация с учетом возрастно-половых различий. По нашему мнению, такой подход к рассматриваемой проблеме будет способствовать оптимизации коррекционных и профилактических мероприятий у подростков с данным видом патологии.

Список литературы / References

1. Global strategy for asthma management and prevention Updated 2020. (2020). Available at: https://www.academia.edu/42972248/GLOBAL_STRATEGY_FOR_ASTHMA_MANAGEMENT_AND_PREVENTION_Updated_2020

2. Garcia-Sanchez D., Darssan D., Lawler S.P., Warren C.M., de Klerk-Braasch A., Osborne N.J. Asthma and anxiety development in Australian children and adolescents. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2023;34(3):e13941. doi: 10.1111/pai.13941

3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 5-е изд. М.: Оригинал-макет, 2017. 160 с.

National program “Bronchial asthma in children. Treatment strategy and prevention”. 5th ed. Moscow: Original maket, 2017. 160 p. [In Russian]

4. Futamura M., Hiramitsu Y., Kamioka N., Yamaguchi C., Umemura H., Nakanishi R., Sugiura S., Kondo Y., Ito K. Prevalence of infantile wheezing and eczema in a metropolitan city in Japan: A complete census survey. *PLoS One.* 2022;17(5):e0268092. doi: 10.1371/journal.pone.0268092

5. de Benedictis D., Bush A. Asthma in adolescence: Is there any news? *Pediatr. Pulmonol*. 2017;52(1):129–138. doi: 10.1002/ppul.23498

6. Protsiuk T.L., Yablon O.S., Protsiuk L.O., Bykovska O.A., Herasymova O.V., Kapitan T.V. Features of clinical manifestations of disease and psychological status of adolescents with bronchial asthma of various levels of control and the influence of risk factors. *Wiad. Lek.* 2019;72(5 cz 1):795–801.

7. Sweenie R., Cushing C.C., Fleming K.K., Prabhakaran S., Fedele D.A. Daily adherence variability and psychosocial differences in adolescents with asthma: a pilot study. *J. Behav. Med.* 2022;45(1):148–158. doi: 10.1007/s10865-021-00247-5

8. Agu K.M., Eze J.N., Muoneke U.V., Uwaezuoke S.N. Prevalence and determinants of psychosocial disorders in children and adolescents with asthma in Enugu, Nigeria: a comparative cross-sectional study. *J. Asthma*. 2023;60(5):920–930. doi: 10.1080/02770903.2022.2109164

9. Valero-Moreno S., Montoya-Castilla I., Pérez-Marín M. Is bronchial asthma a risk factor for emotional well-being in adolescence? A comparative study. *Psychol. Health.* 2024:1–18. doi: 10.1080/08870446.2024.2349644

10. Ritz T., Kroll J.L., Patel S.V., Chen J.R., Yezhuvath U.S., Aslan S., Khan D.A., Pinkham A.E., Rosenfield D., Brown E.S. Central nervous system signatures of affect in asthma: associations with emotion-induced bronchoconstriction, airway inflammation, and asthma control. *J. Appl. Physiol. (1985).* 2019;126(6):1725–1736. doi: 10.1152/japplphysiol.01018.2018

11. Потапова Н.Л., Гаймоленко И.Н., Смоляков Ю.Н. Анализ значимых факторов при тяжелой бронхиальной астме у детей. *Вопр. практ. педиатрии*. 2020;15(1):35–41. doi: 10.20953/1817-7646-2020-1-35-41

Potapova N.L., Gaymolenko I.N., Smolyakov Yu.N. Analysis of significant risk factors in children with severe bronchial asthma. *Voprosy prakticheskoy pediatrii = Clinical Practice in Pediatrics*. 2020;15(1): 35–41. [In Russian]. doi: 10.20953/1817-7646-2020-1-35-41

12. Adkins S.H., Anderson K.N., Goodman A.B., Twentyman E., Danielson M.L., Kimball A., Click E.S., Ko J.Y., Evans M.E., Weissman D.N., … Lung Injury Clinical Task Force and the Lung Injury Epidemiology/Surveillance Task Force. Demographics, substance use behaviors, and clinical characteristics of adolescents with e-cigarette, or vaping, product use-associated lung injury (EVALI) in the United States in 2019. *JAMA Pediatr*. 2020;174(7):e200756. doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.0756

13. Halamba A.A., Kohutych A.I., Koval G.M., Vysochanska V.V., Dankanych E.E. Peculiarities of obesity effects on the quality of life and psychoemotional state of patients with bronchial asthma. *Wiad. Lek*. 2022;75(10):2430–2433. doi: 10.36740/WLek202210121

14. Liccardi G., Calzetta L., Milanese M., Bilò M.B., Liccardi M.V., Matera M.G., Baiardini I., Rogliani P. Anxiety/depression and impaired asthma control in adolescents. Is an increased basal cholinergic tone a possible link? *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol*. 2020;52(4):190–192. doi: 10.23822/EurAnnACI.1764-1489.130

15. Licari A., Castagnoli R., Ciprandi R., Brambilla I., Guasti E., Marseglia G.L., Ciprandi G. Anxiety and depression in adolescents with asthma: a study in clinical practice. *Acta Biomed*. 2022;93(1):e2022021. doi: 10.23750/abm.v93i1.10731

16. Goodman R., Ford T., Simmons H., Gatward R., Meltzer H. Using the strengths and difficulties questionnaire (SDQ) to screen for child psychiatric disorders in a community sample. *Int. Rev. Psychiatry*. 2003; 15(1-2):166–172. doi: 10.1080/0954026021000046128

17. Goodman R., Slobodskaya H.R., Knyazev G.G. Russian child mental health: a cross-sectional study of prevalence and risk factors. *Eur. Child Adolesc. Psychiatry*. 2005;14(1):28–33. doi: 10.1007/s00787-005-0420-8

18. Schatz M., Mosen D.M., Kosinski M., Vollmer W.M., Magid D.J., O'Connor E., Zeiger R.S. Validity of the Asthma Control Test completed at home. *Am. J. Manag. Care*. 2007;13(12):661–667.

19. Schatz M., Sorkness C.A., Li J.T., Marcus P., Murray J.J., Nathan R.A., Kosinski M., Pendergraft T.B., Jhingran P. Asthma Control Test: reliability, validity, and responsiveness in patients not previously followed by asthma specialists. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2006;117(3):549–556. doi: 10.1016/j.jaci.2006.01.011

20. Valero-Moreno S., Montoya-Castilla I., Pérez-Marín M. Quality of life in patients with asthma: Medical indicators and psychological variables. *J. Pediatr. Nurs*. 2023;69:e136–e144. doi: 10.1016/j.pedn.2022.12.030

21. Fayyaz F., Khashayar K., Rasmi M., Shahrestanaki E., Asayesh H., Tavakol M., Qorbani M. Prevalence of asthma symptoms in children and adolescents in Karaj, Iran: A report from the Global Asthma Network Phase I Study. *Iran J. Allergy Asthma Immunol*. 2022;21(4):388–398. doi: 10.18502/ijaai.v21i4.10286

22. Schwartz A.E., Beemer L.R., Ajibewa T.A., Scott-Andrews K.Q., Lewis T.C., Robinson L.E., Hasson R.E. Psychological responses to intermittent activities in children with and without asthma. *Pediatr. Exerc. Sci.* 2022;34(4):175–184. doi: 10.1123/pes.2021-0184

23. Leonard S.I., Turi E.R., Powell J.S., Usseglio J., MacDonell K.K., Bruzzese J.M. Associations of asthma self-management and mental health in adolescents: A scoping review. *Respir. Med.* 2022;200:106897. doi: 10.1016/j.rmed.2022.106897

24. Alvim C.G., Ricas J., Camargos P.A., Lasmar L.M., Andrade C.R., Ibiapina Cda C. Prevalence of emotional and behavioral disorders in adolescents with asthma. *J. Bras. Pneumol.* 2008;34(4):196–204. doi: 10.1590/s1806-37132008000400003

25. Borschuk A.P., Rodweller C., Salorio C.F. The influence of comorbid asthma on the severity of symptoms in children with attention-deficit hyperactivity disorder. *J. Asthma*. 2018;55(1):66–72. doi: 10.1080/02770903.2017.1306549

26. Keller W., Vogel M., Prenzel F., Genuneit J., Jurkutat A., Hilbert C., Hiemisch A., Kiess W., Poulain T. Atopic diseases in children and adolescents are associated with behavioural difficulties. *BMC Pediatr*. 2021;21(1):197. doi: 10.1186/s12887-021-02663-7

27. Khosravani V., Samimi Ardestani S.M., Alvani A., Amirinezhad A. Alexithymia, empathy, negative affect and physical symptoms in patients with asthma. *Clin. Psychol. Psychother.* 2020;27(5):736–748. doi: 10.1002/cpp.2458

28. Dut R., Soyer O., Sahiner U.M., Esenboga S., Gur Cetinkaya P., Akgul S., Derman O., Sekerel B.E., Kanbur N. Psychological burden of asthma in adoles-

cents and their parents. *J. Asthma*. 2022;59(6):1116–1121. doi: 10.1080/02770903.2021.1903916

29. Gupta M., Jain S., Chandani P., Patel J.D., Asha K., Kumar B. Anxiety syndromes in adolescents with operational respiratory conditions: a prospective study. *Georgian Med. News*. 2023;(345):166–171.

30. Turi E.R., Reigada L.C., Liu J., Leonard S.I., Bruzzese J.M. Associations among anxiety, self-efficacy, and self-care in rural adolescents with poorly controlled asthma. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2021;127(6):661–666.e1. doi: 10.1016/j.anai.2021.09.010

31. Simões Cunha M., Amaral R., Pereira A.M., Almeida R., Alves-Correia M., Loureiro C.C., Lopes C., Carvalho J., Ribeiro C., Vidal C., … Jácome C. Symptoms of anxiety and depression in patients with persistent asthma: a cross-sectional analysis of the INSPIR-ERS studies. *BMJ Open*. 2023;13(5):e068725. doi: 10.1136/bmjopen-2022-068725

32. Weinstein S.M., Pugach O., Rosales G., Mosnaim G.S., Walton S.M., Martin M.A. Family chaos and asthma control. *Pediatrics.* 2019;144(2):e20182758. doi: 10.1542/peds.2018-2758

33. Sharrad K.J., Kopsaftis Z.A., Carson-Chahhoud K.V., Stallman H.M. The modifiable biopsychosocial drivers of psychological distress for adolescents with asthma: Implications for Clinical Care. *Paediatr. Respir. Rev*. 2022;41:68–72. doi: 10.1016/j.prrv.2021.07.005

34. Fleischer N.J., Gosch E., Roberts M.B., Albano A.M., Ginsburg G., Piacentini J., Birmaher B., Compton S.N., Walkup J., Kendall P.C., Carper M.M. Asthma and anxiety in children and adolescents: characteristics and treatment outcomes. *J. Asthma*. 2024;61(5):396–404. doi: 10.1080/02770903.2023.2280906

35. Мартынова Т.Ф., Семенова Н.Б. Применение опросника Гудмана для оценки психического здоровья детей, проживающих на крайнем Севере. *Тюмен. мед. ж.* 2011;(2):40–41.

Martynova T.F., Semenova N.B. Application of the Goodman questionnaire to assess the mental health of children living in the Far North. *Tyumenskiy meditsinskiy zhurnal = Tyumen Medical Journal.* 2011;(2):40–41. [In Russian].

36. Резун Е.В., Слободская Е.Р., Семенова Н.Б., Риппинен Т.О. Проблемы психического здоровья и обращение за помощью среди подростков. *Сиб. психол. ж.* 2021;(79):189–202. doi: 10.17223/17267080/79/11

Rezun E.V., Slobodskaya E.R., Semenova N.B., Rippinen T.O. Mental health problems and help-seeking among adolescents. *Sibirskiy psikhologicheskiy zhurnal = Siberian Journal of Psychology*. 2021;(79):189–202. [In Russian]. doi: 10.17223/17267080/79/11

37. Семенова Н.Б., Терещенко С.Ю., Эверт Л.С., Шубина М.В. Распространенность и психическая коморбидность интернет-зависимого поведения у подростков Центральной Сибири. *Ж. неврол. и психиатрии.* 2021;121(5):105–110. doi: 10.17116/jnevro2021121051105

Semenova N.B., Tereshchenko S.Yu., Evert L.S., Shubina M.V. The prevalence and mental comorbidity of internet-dependent behavior in adolescents of Central Siberia. *Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni Sergeya Sergeevicha Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2021;121(5):105–110. [In Russian]. doi: 10.17116/jnevro2021121051105

38. Семенова Н.Б., Терещенко С.Ю., Эверт Л.С., Шубина М.В. Характеристика психического статуса интернет-зависимых подростков: гендерные и возрастные особенности. *Профилакт. мед.* 2022;25(8):83–89. doi: 10.17116/profmed20222508183

Semenova N.B., Tereshchenko S.Yu., Evert L.S., Shubina M.V. Characteristics of the mental status of internet-addicted adolescents: aspects of gender and age. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive medicine.* 2022;25(8):83–89. [In Russian]. doi: 10.17116/profmed20222508183

39. Шубина М.В., Терещенко С.Ю., Москаленко О.Л., Каспаров Э.В. Взаимосвязь интернет-зависимости с головными болями у подростков: коморбидная патология и общие факторы риска. *Сибирский журнал естественных наук и сельского хозяйства*. 2023;15(4):351–369. doi: 10.12731/2658-6649-2023-15-4-351-369

Shubina M.V., Tereshchenko S.Yu., Moskalenko O.L., Kasparov E.V. Relationship of internet addiction with headaches in adolescents: comorbid pathology and common risk factors. *Sibirskiy zhurnal yestestvennykh nauk i sel'skogo khozyaystva = Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2023;15(4):351–369. [In Russian]. doi: 10.12731/2658-6649-2023-15-4-351-369

40. Семенова Н.Б., Мартынова Т.Ф. Возможности использования теста Р. Гудмана для оценки психического здоровья детей и подростков Республики Саха (Якутия). *Якут. мед. ж.* 2012;(2):67–69.

Semenova N.B., Martynova T.F. Possibilities of using the R. Goodman test to assess the mental health of children and adolescents in the Republic of Sakha (Yakutia). *Yakutskiy meditsinskiy zhurnal = Yakut Medical Journal.* 2012;(2):67–69. [In Russian].

41. Зайцева О.И., Терещенко С.Ю., Колодяжная Т.А., Зайцева Ж.Г. Психологические проблемы у подростков Республики Тыва с разными видами онлайн-поведения. *Нов. исслед. Тувы.* 2024;(3):119–135. doi: 10.25178/nit.2024.3.7

Zaitseva O.I., Tereshchenko S.Yu., Kolodyazhnaya T.A., Zaitseva Zh.G. Psychological problems in adolescents of the Republic of Tuva with different types of online behavior. *Novye issledovaniya Tuvy = New Research of Tuva*. 2024;(3):119–135. [In Russian]. doi: 10.25178/nit.2024.3.7

42. Hammer-Helmich L., Linneberg A., Obel C., Thomsen S.F., Tang Møllehave L., Glümer C. Mental health associations with eczema, asthma and

hay fever in children: a cross-sectional survey. *BMJ Open*. 2016;6(10):e012637. doi: 10.1136/bmjopen-2016-012637

43. Edvinsson Sollander S., Fabian H., Sarkadi A., Salari R., Fält E., Dahlberg A., Feldman I., Durbeej N. Asthma and allergies correlate with mental health problems in preschool children. *Acta Paediatr*. 2021;110(5):1601–1609. doi: 10.1111/apa.15709

44. Ballardini N., Kramer M.S., Oken E., Henderson A.J., Bogdanovich N., Dahhou M., Patel R., Thompson J., Vilchuck K., Yang S., Martin R.M., Flohr C. Associations of atopic dermatitis and asthma with child behaviour: Results from the PROBIT cohort. *Clin. Exp. Allergy*. 2019;49(9):1235–1244. doi: 10.1111/cea.13417

45. Boeschoten S.A., Dulfer K., Boehmer A.L.M., Merkus P.J.F.M., van Rosmalen J., de Jongste J.C., de Hoog M., Buysse C.M.P.; Dutch collaborative PICU research network (SKIC) * A complete list of research network participants is provided in the acknowledgments. Quality of life and psychosocial outcomes in children with severe acute asthma and their parents. *Pediatr. Pulmonol.* 2020;55(11):2883–2892. doi: 10.1002/ppul.25034

Сведения об авторах:

Эверт Лидия Семёновна, д.м.н., ORCID: 0000-0003-0665-7428, e-mail: lidiya_evert@mail.ru
Терещенко Сергей Юрьевич, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-1605-7859, e-mail: legise@mail.ru
Шубина Маргарита Валерьевна, ORCID: 0000-0002-6724-1058, e-mail: marg-shubina@mail.ru
Горбачева Нина Николаевна, ORCID: 0000-0003-3920-0694, e-mail: n-n-gorbacheva@yandex.ru
Костюченко Юлия Ринатовна, ORCID: 0000-0001-6233-6472, e-mail: axmeldinova@mail.ru

Information about the authors:

Lidia S. Evert, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0665-7428, e-mail: lidiya_evert@mail.ru
Sergey Yu. Tereshchenko, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-1605-7859, e-mail: legise@mail.ru
Margarita V. Shubina, ORCID: 0000-0002-6724-1058, e-mail: marg-shubina@mail.ru
Nina N. Gorbacheva, ORCID: 0000-0003-3920-0694, e-mail: n-n-gorbacheva@yandex.ru
Yulia R. Kostyuchenko, ORCID: 0000-0001-6233-6472, e-mail: axmeldinova@mail.ru

Поступила в редакцию 06.08.2024
После доработки 26.09.2024
Принята к публикации 19.11.2024

Received 06.08.2024
Revision received 26.09.2024
Accepted 19.11.2024

УДК 613.6.01:616-1 DOI: 10.18699/SSMJ20240626
Оригинальное исследование / Research article

Распространенность поведенческих факторов риска болезней системы кровообращения у работников производства подшипников

Ю.А. Алешина[1], Т.А. Новикова[1], Н.А. Кочетова[1], Н.Е. Комлева[1, 2], И.В. Заикина[1]

[1] Саратовский медицинский научный центр гигиены Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения Роспотребнадзора
410022, г. Саратов, ул. Заречная, 1а, стр. 1
[2] Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского Минздрава России
410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112

Резюме

Коррекция поведенческих факторов риска (ФР) как базовой основы систем профилактики хронических неинфекционных заболеваний для различных групп населения является одной из актуальных задач в сфере охраны общественного здоровья. Цель исследования – изучить распространенность поведенческих ФР болезней системы кровообращения (БСК) у работников производства подшипников для последующей разработки мер профилактики. **Материал и методы.** Выполнено социологическое исследование поведенческих факторов образа жизни, способствующих развитию БСК (курение, потребление алкоголя, нездоровое питание, низкая физическая активность, безответственное медицинское поведение) в группе работников (n = 382) производства подшипников с учетом половых и возрастных различий. **Результаты и их обсуждение.** Распространенность курения составила 39,7 %, доля курящих мужчин выше, чем женщин (42,8 и 22,9 % соответственно, $p < 0{,}001$). Алкоголь (в умеренных количествах) употребляют 71,5 % опрошенных, статистически значимо чаще ($p < 0{,}001$) мужчины (75,8 %), чем женщины (58,7 %). Распространенность гиподинамии составила 10,64 % и была более выражена ($p = 0{,}011$) среди женщин по сравнению с мужчинами (15,0 и 7,4 % соответственно) и среди молодых (18–39 лет) по сравнению с лицами среднего возраста (40–65 лет) ($p = 0{,}005$). Большая часть участников исследования (82,2 %) не придерживаются правил здорового питания (52,4 % мужчин, 35,8 % женщин). Установлено недостаточное потребление овощей и фруктов (у 30,0 и 34,0 % соответственно), рыбы (у 80,0 %), оливкового масла (у 100 % обследованных). Избыточное количество соли потребляют 90 %. Выявлена низкая превентивная медицинская активность работников, проявившаяся в необоснованно высокой оценке состояния собственного здоровья, отказе от обращения к врачу с лечебной целью, самолечении, пренебрежении профилактическими медицинскими осмотрами. **Заключение.** Результаты исследования свидетельствуют о приоритетности популяционного направления профилактических мероприятий, направленных на коррекцию поведенческих ФР БСК у трудоспособного населения и повышению мотивации к ведению здорового образа жизни и здоровьесбережению.

Ключевые слова: работники производства подшипников, поведенческие факторы риска, болезни системы кровообращения, меры профилактики.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Новикова Т.А., e-mail: novikovata-saratov@yandex.ru
Для цитирования: Алешина Ю.А., Новикова Т.А., Кочетова Н.А., Комлева Н.Е., Заикина И.В. Распространенность поведенческих факторов риска болезней системы кровообращения у работников производства подшипников. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2024;44(6):242–248. doi: 10.18699/SSMJ20240626

Prevalence of behavioral risk factors for circulatory system diseases among bearing production workers

Yu.A. Aleshina[1], T.A. Novikova[1], N.A. Kochetova[1], N.E. Komleva[1, 2], I.V. Zaikina[1]

[1] *Saratov Hygiene Medical Research Center of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies of Rospotrebnadzor 410022, Saratov, Zarechnaya st., 1a, bld. 1*
[2] *Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky of Minzdrav of Russia 410012, Saratov, Bol'shaya Kazach'ya st., 112*

Abstract

Correction of behavioral risk factors (BRFs) as the basic basis of systems for the prevention of chronic non-communicable diseases for various population groups is one of the urgent tasks in the field of public health. Aim of the study was to investigate the prevalence of BRFs for cardiovascular diseases (CVD) among bearing production workers for the subsequent development of preventive measures. **Material and methods.** A sociological study of behavioral lifestyle factors contributing to the development of CVD (smoking, alcohol consumption, unhealthy diet, low physical activity, irresponsible medical behavior) was carried out in a group of bearing production workers (n = 382), taking into account gender and age differences. **Results and discussion.** The prevalence of smoking was 39.7 %, with a higher proportion of men smoking than women (42.8 and 22.9 %, respectively, $p < 0.001$). Alcohol (in moderate quantities) is consumed by 71.5 % of respondents, statistically significantly more often ($p < 0.001$) by men (75.8 %) than women (58.7 %). The prevalence of physical inactivity was 10.64 % and was more pronounced ($p = 0.011$) among women compared to men (15.0 and 7.4 %, respectively) and among young people (18–39 years old) compared to middle-aged people (40–65 years old) ($p = 0.005$). The majority of study participants (82.2 %) do not adhere to healthy eating rules (52.4 % men, 35.8 % women). Insufficient consumption of vegetables and fruits was found (in 30.0 and 34.0 %, respectively), fish (in 80 %), olive oil (in 100 % of those surveyed). 90 % consume excess salt. Low preventive medical activity of workers was revealed, manifested in an unreasonably high assessment of their own health, refusal to see a doctor for therapeutic purposes, self-medication, and neglect of preventive medical examinations. **Conclusions.** The results of the study indicate the priority of the population direction of preventive measures aimed at correcting the behavioral risk factors of CSD in the working population and increasing motivation for a healthy lifestyle and health-saving behavior.

Key words: bearing production workers, behavioral risk factors, circulatory system diseases, preventive measures.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author: Novikova T.A., e-mail: novikovata-saratov@yandex.ru
Citation: Aleshina Yu.A., Novikova T.A., Kochetova N.A., Komleva N.E., Zaikina I.V. Prevalence of behavioral risk factors for circulatory system diseases among bearing production workers. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):242–248. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240626

Введение

Важнейшей медико-социальной проблемой здравоохранения большинства стран мира, в том числе Российской Федерации, является значительная распространенность болезней системы кровообращения (БСК), являющихся лидером среди причин смертности и инвалидизации трудоспособного населения [1]. Доля БСК в структуре причин общей смертности населения России в 2022 г. составила 43,8 % (в 2021 г. – 38 %) от общего числа умерших [2]. В настоящее время многочисленными исследованиями показано, что БСК в существенной мере предотвратимы и поддаются контролю посредством коррекции общих факторов риска (ФР) развития хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ) – употребления табака и алкоголя, нездорового питания, недостаточной физической активности (ФА), приводящих при длительном воздействии к формированию артериальной гипертензии, дислипидемии, избыточной массы тела, ожирению, сахарному диабету 2 типа, которые являются значимыми ФР для развития болезней системы кровообращения [3, 4]. ВОЗ отмечает, что коррекция поведенческих ФР является исходной позицией профилактики ХНИЗ у населения [5].

Важную организационную модель для реализации программ по формированию здорового образа жизни и коррекции ФР нарушений здоровья представляют собой профилактические программы, внедряемые на отраслевых и корпоративных уровнях и позволяющие охватить значительные группы трудоспособного населения [6]. При реализации демографической политики Российской Федерации рабочее место рассматривается как идеальная среда для ранней профилактики ХНИЗ, укрепления общественного и индивидуального здоровья, повышения мотивации работников в отношении здорового образа жизни [7].

При разработке эффективных профилактических программ требуются данные, характеризующие ФР здоровью работников различ-

ных отраслей экономки, и научно обоснованная приоритетность планируемых мер. Ранее нами установлено, что среди работников основных профессий производства подшипников, подвергающихся в процессе трудовой деятельности воздействию комплекса вредных факторов условий труда, БСК занимают одно из ведущих ранговых мест в структуре впервые выявленных ХНИЗ [8]. Исследования особенностей и распространенности поведенческих ФР БСК позволит определить приоритетные меры по сохранению здоровья и трудового долголетия работников этой стратегически значимой для экономики России отрасли. Цель исследования – изучение распространенности поведенческих ФР болезней системы кровообращения у работников производства подшипников для последующей разработки мер профилактики.

Материал и методы

На базе Саратовского МНЦ гигиены выполнены социологические исследования в рамках расширенного медицинского осмотра, проведенного среди работников крупного предприятия машиностроения, специализирующегося на производстве подшипников. В группу исследования вошли 382 работника, из них 59,8 % мужчин и 40,2 % женщин. Средний возраст респондентов составил 49,4 ± 0,5 года, средний стаж работы 17,1 ± 0,6 года. Для изучения связей возраста и стажа работы в профессии с распространенностью ФР все участники исследования были разделены на возрастные (≤ 39; 40–49; 50–59; ≥ 60 лет) и стажевые подгруппы (≤ 9; 10–19; 20–29; ≥ 30 лет). От всех респондентов было получено информированное согласие на участие в исследовании.

Ограничение исследования: исследование имеет региональные (Саратовская область) ограничения.

Проведено сплошное раздаточное анкетирование с помощью опросника, включившего основные структурные группы факторов, рекомендованных для оценки риска здоровью, связанного с воздействием образа жизни [9]: аддиктивное поведение (курение, употребление алкоголя); нарушение двигательной активности (гиподинамия, недостаточная ФА); нездоровое питание (нарушение режима питания, несбалансированное, энергетически неадекватное питание); безответственное медицинское поведение (необращение за медицинской помощью, самолечение, уклонение от прохождения профилактических медицинских осмотров). Субъективное мнение респондентов оценивали путем подсчета доли одинаковых ответов, выраженной в процентах. При оценке наличия признаков гиподинамии использована русскоязычная версия короткого международного опросника (International Questionnaire on Physical Activity, IPAQ). Оценивали время и характер интенсивной и неинтенсивной физической нагрузки; количество дней в неделю ходьбы пешком; продолжительность ходьбы в день; количество часов в день, проведенных сидя в течение предшествующей опросу недели. На основе подсчета суммы баллов определялось наличие признаков гиподинамии с учетом возраста респондента: для 18–39 лет <21, для 40–65 лет <14, старше 65 лет <7 баллов [10]. Изучение фактического питания (ФП) выполнено анкетно-опросным методом 24-часового воспроизведения питания, рекомендуемого нормами физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения [11], его оценка – с помощью сертифицированного программного комплекса «Оптимальное питание, версия MyD 5.0» [12]. Исследование проведено в соответствии с этическими нормами, изложенными в Хельсинкской декларации (1975 г. с дополнениями 2008 г.) и одобрено локальным этическим комитетом Саратовского МНЦ гигиены ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (протокол № 7 от 01.03.2024).

При статистической обработке материалов исследования использовано программное обеспечение Microsoft Office-2007 и Statistica 10. Проверка нормальности распределения количественных данных проведена с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Непрерывные переменные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки ($M \pm m$), номинальные данные – в виде относительных частот объектов исследования (n, %). Для оценки различий количественных данных использовали критерий Стьюдента, номинальных данных – точный критерий Фишера. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты

Анализ результатов социологического опроса позволил выявить среди работников высокую распространенность поведенческих факторов риска БСК: курили и употребляли иную никотинсодержащую продукцию 39,7 %, употребляли алкогольные напитки 71,5 %, признаки гиподинамии установлены у 27,3 %, на нездоровое питание указали 88,2 % участников исследования.

Стаж курения у работников составил 9,9 ± 0,7 года, количество выкуриваемых в день

сигарет достигало 6,1 ± 0,5 штуки. При этом 3 % опрошенных бросили курить, а 17,4 % планируют бросить с целью начать здоровый образ жизни. Электронные сигареты и вейпинговую продукцию статистически значимо чаще использовали работники первой возрастной подгруппы ($p_{1\text{-}3}$ = 0,0069; $p_{1\text{-}4}$ = 0,0217). Алкоголь участники исследования употребляли в умеренных количествах реже двух раз в неделю. Алкогольные напитки крепостью 30° и выше предпочитали 36,8 %, менее 5° – 28,2 % работников, остальные употребляли алкогольные напитки различной крепости. С периодичностью 1–2 раза в месяц употребляли 48,2 %, 3–5 раз – 16,8 %, более 6 раз – 5,4 % респондентов. При оценке ФА наличие признаков гиподинамии установлено у 10,64 % опрошенных, при этом среди женщин они выражены в 2 раза чаще, чем у мужчин (15 % против 7,41 %). При исследовании приверженности работников к здоровому питанию установлено, что 82,2 % участников исследования не придерживаются правильного питания, из них 52,4 % мужчин и 35,8 % женщин. Для 74 % опрошенных характерен трехкратный режим питания, 10 % устраивают перекусы, в качестве которых потребляются преимущественно кондитерские изделия, богатые быстрыми углеводами. Ежедневное присутствие в своем рационе мяса и промышленных мясных изделий отметили 92 %, зерновых и хлебобулочных изделий – 81 и 90 %, овощей и фруктов – 30 и 34 % участников исследования соответственно. Частота употребления морской рыбы и других морепродуктов у 90 % респондентов составила не более двух раз в месяц, бобовых – у 95 %, орехов – у 90 %, молочных продуктов – у 75 %. Об употреблении оливкового масла не заявил ни один из респондентов. При самооценке структуры фактического питания показано, что средний суточный уровень белка, поступающего в организм работников с пищей, составлял 66,85 ± 2,55 г (норма 102–114 г), жиров 78,05 ± 3,59 г (норма 113–127 г), углеводов (круп, овощей) 210,72 ± 7,74 г (норма 493–551 г). Выявлен недостаток потребления макро- и микроэлементов – кальция, калия, магния, цинка, селена, йода. Установлено повышенное потребление респондентами рекомендуемой суточной нормы соли (258,4–266,9 %) и сахара (152,0–171,5 %). Суммарный энергетический баланс суточного рациона составил 1899,37 ± 56,68 ккал/сутки при рекомендуемой МР 2.3.1.0253-21 норме физиологической потребности в энергии 3250–2900 ккал/сутки для мужчин и 2600–2300 ккал/сутки для женщин в возрасте от 18–64 года для работников средней тяжести труда (III группа ФА).

В выраженности поведенческих ФР установлены гендерные и возрастные различия. Низкая физическая активность превалировала среди женщин (p = 0,0110) и среди участников исследования в возрасте от 18 до 39 лет (n = 55, 82,1 %) по сравнению с лицами от 40 до 65 лет (n = 271, 90,6 %) (p = 0,0516). Доля курящих на момент исследования, бросивших и планируемых бросить курить, употребляющих алкоголь 3–5 раз в месяц, предпочитающих алкогольные напитки крепостью 30° и более статистически значимо больше среди мужчин (таблица).

Работники первой возрастной и первой стажевой групп статистически значимо чаще придерживались здорового питания ($p_{1\text{в-}2\text{в}}$ = 0,0032, $p_{1\text{в-}3\text{в}}$ = 0,0001, $p_{1\text{в-}4\text{в}}$ = 0,0003 и $p_{1\text{с-}2\text{с}}$ = 0,0484, $p_{1\text{с-}3\text{с}}$ = 0,0076, $p_{1\text{с-}4\text{с}}$ = 0,0057). Прекратили курить в основном лица в возрасте 50–59 лет ($p_{1\text{-}3}$ = 0,0125). Не употреблявших алкоголь среди лиц возрастом 50–59 лет и старше 60 лет было в 1,2 и 1,4 раза больше, чем в младшей возрастной подгруппе, которые предпочитали алкогольные напитки крепостью до 5° ($p_{1\text{-}2}$ = 0,003, $p_{1\text{-}4}$ = 0,0357). Не употребляли алкоголь от 25 до 35,5 % в разных возрастных подгруппах.

Установлено, что для работников производства подшипников характерен низкий уровень

Распространенность курения и употребление алкоголя у обследованных, n (%)

Prevalence of smoking and alcohol consumption among surveyed, n (%)

ФР	Вся группа	Мужчины	Женщины	*p*
Курение на момент анкетирования	152 (39,7)	121 (52,8)	35 (22,9)	<0,0001
Бросили курить	11 (3)	38 (16,8)	3 (2,0)	<0,0001
Планируют бросить курить	66 (17,4)	52 (22,9)	16 (10,4)	0,0017
Употребление алкоголя	273 (71,5)	173 (75,8)	90 (58,7)	0,0005
Употребление алкоголя более 2 раз в неделю	4 (1,0)	4 (1,7)	0 (0,0)	0,1514
Употребление алкоголя 1–2 раза в месяц	184 (48,2)	108 (47,2)	76 (49,7)	0,7544
Употребление алкоголя 3–5 раз в месяц	64 (16,8)	51 (22,5)	14 (9,0)	0,0008
Предпочитают алкогольные напитки крепостью 30° и более	141 (36,8)	116 (50,7)	25 (16,1)	<0,0001

медицинской активности. За медицинской помощью статистически значимо чаще (1 раз в полгода или 1 раз в год) обращались работники четвертой возрастной группы (соответственно $p_{1\text{-}4}$ = 0,0106, $p_{2\text{-}4}$ = 0,0011, $p_{3\text{-}4}$ = 0,0001 или $p_{1\text{-}4}$ < 0,0001, $p_{2\text{-}4}$ < 0,0001, $p_{3\text{-}4}$ < 0,0001), чем первой, второй, третьей групп, которые предпочитали лечиться самостоятельно или обращались лишь при необходимости. Профилактические медицинские осмотры по собственной инициативе готовы проходить лишь 3,92 % из числа опрошенных.

Обсуждение

Результаты проведенного исследования показали высокую распространенность среди работников производства подшипников традиционных поведенческих ФР развития БСК – курения, нездорового питания, употребления алкогольных напитков, недостаточной физической активности и безответственного медицинского поведения, проявляющегося в низкой медицинской активности.

Распространенность курения в исследуемой группе работников в 1,69 раза превысила среднепопуляционное значение данного показателя, полученного при мониторинге экономического положения и здоровья населения в среднем по России [13]. Однако с учетом верхней границы вариабельности в разных регионах (34,6 %), установленной по результатам многоцентрового популяционного исследования эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в РФ (ЭССЕ-РФ), превышение составило в 1,14 раза [14]. Доля мужчин среди участников исследования, употребляющих алкогольные напитки, соответствовала популяционному значению по России (71,5 и 73,2 % соответственно), доля женщин была существенно меньше, чем полученная в ЭССЕ-РФ (58,7 и 74,1 % соответственно) [16]. Также установлена меньшая доля лиц, характеризующихся недостаточной ФА (10,6 %), в сравнении популяционными показателями (38,8 %), что может быть обусловлено самооценкой респондентами перемещений в пространстве, обусловленных производственной деятельностью [8]. Повышенная распространенность недостаточной ФА среди женщин по сравнению с мужчинами и наибольшая ее частота в группе лиц молодого возраста соответствуют общероссийским [13, 14] и мировым тенденциям [15]. Недостаточное по сравнению с физиологическими нормами потребление овощей, фруктов, рыбы и морепродуктов, оливкового масла, макро- и микронутриентов, минеральных веществ и превышение физиологических норм потребления сахара, соли, мяса аналогично пищевому поведению россиян в большинстве регионах РФ [16].

Результаты самооценки медицинского поведения участников исследования – низкий уровень обращаемости за медицинской помощью в лечебно-профилактические учреждения, приверженность к самолечению, пренебрежение к прохождению периодических медицинских осмотров могут свидетельствовать об отсутствии мотивации к сохранению своего здоровья у опрошенных, что может объясняться неосведомленностью о ФР для здоровья и недостаточной информационно-просветительской работе в трудовом коллективе.

Заключение

Полученные результаты в целом сопоставимы с общероссийскими показателями распространенности поведенческих факторов риска БСК, что свидетельствует об актуальности проблемы формирования здорового образа жизни и приоритетности разработки специализированных здоровьесберегающих программ, направленных на коррекцию аддиктивного поведения и минимизацию связанных с ним ФР здоровью у трудоспособного населения РФ.

Список литературы

1. Косолапов В.П., Ярмонова М.В. Анализ высокой сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности взрослого населения как медико-социальной проблемы и поиск путей ее решения. *Урал. мед. ж*. 2021;20(1):58–64. doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-1-58-64

2. Российский статистический ежегодник. 2022: Стат. сб. Росстат. М., 2022. 691 с. Режим доступа: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Ejegodnik_2022.pdf

3. Зубкова Т.С., Замятнина Е.С., Халтурина Д.А. Система индикаторов поведенческих факторов риска России на национальном и региональном уровнях. *Обществ. здоровье*. 2021;1(4):56–67. doi: 10.21045/2782-1676-2021-1-4-56-67

4. План действий по профилактике и борьбе с неинфекционными заболеваниями в Европейском регионе ВОЗ. Available at: https://who-sandbox.squiz.cloud/__data/assets/pdf_file/0019/346330/NCD-ActionPlan-RU.pdf

5. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013–2020 (resolution WHA66.10). Available at: https://www.who.int/publications/i/item/9789241506236

6. Гарипова Ф.Г., Хабибуллина А.Р., Александрова Е.А. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний на предприятии: систематический обзор. *Здоровье населения и среда обитания*.

2021;29(12):17–29. doi: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-17-29

7. Распоряжение Правительства РФ от 16 сентября 2021 года № 2580-р «Об утверждении плана мероприятий по реализации в 2021–2025 годах Концепции демографической политики Российской Федерации на период до 2025 года». Режим доступа: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/402722527/

8. Новикова Т.А., Безрукова Г.А., Кочетова Н.А., Мигачева А.Г., Алешина Ю.А., Райкова С.В. Профессиональный риск развития хронических неинфекционных заболеваний у работников производства подшипников. *Здравоохр. Рос. Федерации*. 2023;67(6):562–569. doi: 10.47470/0044-197X-2023-67-6-562-569

9. Методические рекомендации МР 2.1.10.0033-11. «Оценка риска, связанного с воздействием факторов образа жизни на здоровье населения». Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/1200111974

10. IPAQ Core Group. Guidelines for data processing and analysis of IPAQ – short and long forms. Available at: https://www.physio-pedia.com/images/c/c7/Quidelines_for_interpreting_the_IPAQ.pdf

11. Методические рекомендации МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации». Режим доступа: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/402716140/

12. Программный комплекс «Оптимальное питание, версия MyD 5.0». Режим доступа: https://ambimed.ru/product/programmnyy-kompleks-optimalnoe-pitanie-5-0/

13. Российский мониторинг экономического положения и здоровья населения НИУ ВШЭ. Режим доступа: https://www. hse.ru/rlms/

14. Баланова Ю.А. Концевая А.В., Шальнова С.А., Деев А.Д., Артамонова Г.В., Гатагонова Т.М., Дупляков Д.В., Ефанов А.Ю., Жернакова Ю.В., Ильин В.А., Конради А.О., Либис Р.А., Минаков А.В., Недогода С.В., Оганов Р.Г., Ощепкова Е.В., Романчук С.А., Ротарь О.П., Трубачева И.А., Шляхто Е.В., … Серебрякова В.Н. Распространенность поведенческих факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции по результатам исследования ЭССЕ-РФ. *Профилакт. мед*. 2014;17(5):42–52.

15. Информационный бюллетень ВОЗ № 317, январь 2015. Физическая активность. Глобальные рекомендации по физической активности для здоровья. Available at: https://who-sandbox.squiz.cloud/__data/assets/pdf_file/0006/288042/WHO-Fact-Sheet-PA-2015-RU.pdf

16. Сметнева Н.С., Погожева А.В., Васильев Ю.Л., Дыдыкин С.С., Дыдыкина И.С., Коваленко А.А. Роль оптимального питания в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний. *Вопр. питания*. 2020;89(3):114–124. doi: 10.24411/0042-8833-2020-10035

References

1. Kosolapov V.P., Yarmonova M.V. The analysis of high cardiovascular morbidity and mortality in the adult population as a medical and social problem and the search for ways to solve it. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal = Ural Medical Journal*. 2021;20(1):58–64. [In Russian]. doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-1-58-64

2. Russian statistical yearbook. 2022: Stat. Sat. Rosstat. M., 2022. 691 p. Available at: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Ejegodnik_2022.pdf [In Russian].

3. Zubkova T.S., Zamyatnina E.S., Khalturina D.A. The system of indicators of behavioral risk factors in Russia at the national and regional levels. *Obshchestvennoe zdorov'ye = Public Health.* 2021;1(4):56–67. [In Russian]. doi: 10.21045/2782-1676-2021-1-4-56-67

4. Action Plan for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases in the WHO European Region 2016–2025. Copenhagen: World Health Organization Regional Office for Europe, 2016. [In Russian]. Available at: https://who-sandbox.squiz.cloud/__data/assets/pdf_file/0019/346330/NCD-ActionPlan-RU.pdf [In Russian].

5. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013–2020 (resolution WHA66.10). Available at: https://www.who.int/publications/i/item/9789241506236

6. Garipova F.G., Khabibullina A.R., Aleksandrova E.A. Workplace interventions aimed to reduce the risk of cardiovascular disease: a systematic review. *Zdorov'ye naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment.* 2021;29(12):17–29. [In Russian]. doi: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-17-29

7. Order of the Government of the Russian Federation of September 16, 2021 No. 2580-r "On approval of the action plan for the implementation in 2021–2025 of the Concept of demographic policy of the Russian Federation for the period until 2025". Available at: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/402722527/ [In Russian].

8. Novikova T.A., Bezrukova G.A., Kochetova N.A., Migacheva A.G., Aleshina Yu.A., Raikova S.V. Occupational risk of developing chronic non-infectious diseases in bearing production workers. *Zdravookhraneniye Rossiyskoy Federatsii = Health Care of the Russian Federation*. 2023;67(6):562–569. [In Russian]. doi: 10.47470/0044-197X-2023-67-6-562-569

9. Guidelines 2.1.10.0033-11 "Risk assessment associated with the impact of lifestyle factors on public health". Available at: https://docs.cntd.ru/document/1200111974 [In Russian].

10. IPAQ Core Group. Guidelines for data processing and analysis of IPAQ – short and long forms. Available at: https://www.physio-pedia.com/images/c/c7/Quidelines_for_interpreting_the_IPAQ.pdf

11. Guidelines MP 2.3.1.0253-21 "Norms of physiological needs for energy and nutrients for various groups of the population of the Russian Federation". Available at: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/402716140/ [In Russian].

12. Software package «Optimal nutrition, version MyD 5.0» Available at https://ambimed.ru/product/programmnyy-kompleks-optimalnoe-pitanie-5-0/ [In Russian].

13. Russian monitoring of the economic situation and health of the population NRU «Higher School of Economics». Available at: https://www. hse.ru/rlms/ [In Russian].

14. Balanova Yu.A. Kontsevaya A.V., Shal'nova S.A., Deev A.D., Artamonova G.V., Gatagonova T.M., Duplyakov D.V., Efanov A.Yu., Zhernakova Yu.V., Il'in V.A., … Serebriakova V.N. Prevalence of behavioral risk factors for cardiovascular diseases in the Russian population: results of the ESSE-RF epidemiological study. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health.* 2014;17(5):42–52. [In Russian].

15. WHO Fact Sheet N 317 January 2015. Fact sheet – Physical Activity: Global recommendations on physical activity for health. Available at: https://who-sandbox.squiz.cloud/__data/assets/pdf_file/0006/288042/WHO-Fact-Sheet-PA-2015-RU.pdf [In Russian].

16. Smetneva N.S., Pogozheva A.V., Vasil'ev Yu.L., Dydykin S.S., Dydykina I.S., Kovalenko A.A. The role of optimal nutrition in the prevention of cardiovascular diseases. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition.* 2020;89(3):114–124. [In Russian]. doi: 10.24411/0042-8833-2020-10035

Сведения об авторах:

Алешина Юлия Александровна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-9798-3151, e-mail: julita-80@mail.ru
Новикова Тамара Анатольевна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-1463-0559, e-mail: novikovata-saratov@yandex.ru
Кочетова Наталья Александровна, ORCID: 0000-0002-7324-0959, e-mail: kochetova_kna@mail.ru
Комлева Наталия Евгеньевна, д.м.н., ORCID: 0000-0003-4099-9368, e-mail: nekomleva@yandex.ru
Заикина Инна Викторовна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4234-7056, e-mail: innaza2@mail.ru

Information about the authors:

Yuliya A. Aleshina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-9798-3151, e-mail: julita-80@mail.ru
Tamara A. Novikova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-1463-0559, e-mail: novikovata-saratov@yandex.ru
Natalya A. Kochetova, ORCID: 0000-0002-7324-0959, e-mail: kochetova_kna@mail.ru
Nataliya E. Komleva, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4099-9368, e-mail: NEKomleva@yandex.ru
Inna V. Zaikina, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4234-7056, e-mail: innaza2@mail.ru

Поступила в редакцию 18.05.2024
После доработки 10.07.2024
Принята к публикации 11.10.2024

Received 18.05.2024
Revision received 10.07.2024
Accepted 11.10.2024

УДК 614.876:314.48 DOI: 10.18699/SSMJ20240627
Оригинальное исследование / Research article

Производственное облучение родителей: анализ общей смертности потомков

С.Ф. Соснина, П.В. Окатенко, М.Э. Сокольников

Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России
456783, г. Озёрск, Озёрское шоссе, 19

Резюме

Эпидемиологические работы, описывающие эффекты радиационного воздействия на родителей в отношении здоровья детей, весьма противоречивы. Цель исследования – анализ общей смертности потомков, чьи родители подверглись профессиональному облучению на ПО «Маяк», первом в России предприятии ядерной энергетики. **Материал и методы.** Ретроспективный анализ проведен в когорте из 19 999 потомков 1949–1973 г.р., из которых 12 836 родились в семьях работников ПО «Маяк», 7163 – от необлученных родителей. Общая смертность проанализирована с учетом пола, календарного периода, нозологий, доз внешнего гамма-облучения гонад до зачатия. Проведен расчет стандартизованного отношения смертности (SMR) в сравнении с национальным стандартом, оценен относительный риск (ОРиск) с учетом классов болезней и избыточный относительный риск (ИОРиск) с 95%-м доверительным интервалом с учетом доз внешнего гамма-облучения гонад. **Результаты и их обсуждение**. В основной группе за период с 1949 по 2020 г. зарегистрировано 2758 случаев смерти (214,9 на 10^3), что значимо меньше, чем в группе сравнения (1689 случаев, 235,8 на 10^3) (p = 0,0006). Наиболее часто наблюдались «Травмы и отравления», «Болезни системы кровообращения» и «Злокачественные новообразования» без значимых различий между группами. Риск инфекционной патологии, «Отдельных состояний перинатального периода» и «Болезней органов дыхания» в группе сравнения был существенно выше, чем в основной. В целом ОРиск смерти был выше в группе сравнения для потомков женского пола – 0,78 (0,69–0,88) и для обоих полов – 0,89 (0,83–0,95). Во многих категориях возраста родителей наблюдалось явное преобладание смертности в группе сравнения. Анализ SMR показал, что общая смертность от всех причин среди потомков женского пола в основной группе и среди потомков мужского пола в обеих группах была статистически значимо ниже, чем в Российской Федерации. Расчет ИОРиска не выявил превышения коэффициентов риска ни в целом, ни в различных дозовых категориях. **Заключение.** Результаты исследования не указали на повышенный риск смерти среди потомков лиц, подвергшихся производственному облучению. Учитывая сравнительно молодой возраст наблюдаемой когорты, требуется дальнейший эпидемиологический мониторинг.

Ключевые слова: радиация, внешнее гамма-облучение, ПО «Маяк», потомки облученных, общая смертность.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа проводилась согласно Государственному контракту № 11.314.22.2 от 15.07.2022 в соответствии с Федеральной программой «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 гг. и на период до 2035 г».

Автор для переписки: Соснина С.Ф., e-mail: sosnina@subi.su

Для цитирования: Соснина С.Ф., Окатенко П.В., Сокольников М.Э. Производственное облучение родителей: анализ общей смертности потомков. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):249–257. doi: 10.18699/SSMJ20240627

Occupational exposure of the parents: general mortality among the offspring

S.F. Sosnina, P.V. Okatenko, M.E. Sokolnikov

Southern Urals Biophysics Institute of the FMBA of Russia
456783, Ozyorsk, Ozyorskoe shosse, 19

Abstract

Epidemiological studies describing the effects of parental radiation exposure on the health of children are highly contradictory. Aim of the study was to analyze the general mortality of offspring whose parents were exposed to occupational radiation at Mayak, the first nuclear power plant in Russia. **Material and methods.** A retrospective analysis was conducted in a cohort of 19 999 offspring born in 1949–1973, of which 12 836 were born in families of Mayak workers and 7163 were born from non-irradiated parents. General mortality was analyzed taking into account sex, calendar period, nosologies, and doses of external gamma irradiation of the gonads before conception. The standardized mortality ratio (SMR) was calculated in comparison with the national standard, the relative risk (RRisk) was estimated taking into account disease classes and the excess relative risk (ERRisk) with a 95 % confidence interval taking into account the doses of external gamma irradiation of the gonads. **Results and discussion.** In the main group, 2758 deaths have been registered for the period 1949–2020 (214.9 per 10^3), which is significantly less than in the comparison group (1689 cases, 235.8 per 10^3) ($p = 0.0006$). The most frequently observed diseases were "Injuries and poisoning", "Diseases of the circulatory system" and "Malignant neoplasms" without significant differences between the groups. The risk of infectious pathology, "Certain conditions of the perinatal period" and "Respiratory diseases" in the comparison group was significantly higher than in the main group. Overall, the RRisk of death was higher in the comparison group for female offspring – 0.78 (0.69–0.88) and for both sexes – 0.89 (0.83–0.95). In many categories of parental age, there was a clear predominance of mortality in the comparison group. The SMR analysis showed that the general mortality from all causes among female offspring in the main group and among male offspring in both groups was statistically significantly lower than in the Russian Federation. The calculation of the ERRisk did not reveal an excess of risk coefficients either overall or in different dose categories. **Conclusion.** The study results did not indicate an increased risk of death among the offspring of individuals exposed to occupational radiation. Taking into consideration the relatively young age of the observed cohort, further epidemiological monitoring is required.

Key words: radiation, external gamma irradiation, Mayak, descendants of irradiated persons, general mortality.

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

Financing. The work was carried out under State Contract No. 11.314.22.2 dated 15.07.2022 in accordance with the Federal Program "Ensuring Nuclear and Radiation Safety for 2016-2020 and for the period up to 2035".

Correspondence author: Sosnina S.F., e-mail: sosnina@subi.su

Citation: Sosnina S.F., Okatenko P.V., Sokolnikov M.E. Occupational exposure of the parents: general mortality among the offspring. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):249–257. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240627

Введение

Изучение последствий радиационного воздействия на родителей в отношении здоровья потомков является одним из актуальных направлений радиационной эпидемиологии. Многочисленные исследования эффектов преконцептивного (до зачатия) облучения в различных когортах не привели к единому пониманию исходов у последующих поколений. Так, анализ репродуктивных исходов среди пациентов, подвергшихся лучевой терапии рака, показал высокий риск недоношенности, нарушений внутриутробного развития и смертности потомков в перинатальный период [1]. Вместе с тем среди потомков жертв атомной бомбардировки в Хиросиме и Нагасаки спустя десятилетия многопланового наблюдения не обнаружено никаких признаков вредного воздействия на здоровье [2, 3]. B. Jordan [4] отмечает, что данные по японским когортам фактически являются основой для определения текущего уровня радиационной безопасности, но они неприменимы к сложным ситуациям, таким как аварии на атомных электростанциях, которые связаны с различными типами радиации, а также загрязнением радиоактивными материалами. В частности, оценка показателей смертности в районах, расположенных рядом с Семипалатинским ядерным полигоном, указала на их превышение по некоторым классам болезней среди населения, подвергшегося воздействию радиации, и их потомков [5]. Оценка радиационных рисков в настоящее время проводится в когортах потомков пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС [6] и населения районов вдоль р. Теча на Южном Урале, загрязненных сбросами радиоактивных отходов ПО «Маяк» [7].

ПО «Маяк» – первый в России промышленный объект ядерной энергетики, функционирующий с 1948 г. Характерными особенностями когорты его персонала по сравнению с другими когортами работников ядерных комплексов в мире являются продолжительное наблюдение, соизмеримое с мониторингом здоровья людей, пострадавших от атомных бомбардировок, и их потомков; пролонгированное производственное облучение; измеренные дозовые нагрузки у каж-

дого индивидуума; весомый удельный вес (25 %) женского персонала репродуктивного возраста [8]. Соответственно, когорту потомков, чьи родители были работниками ПО «Маяк», можно расценивать как одну из наиболее наглядных в мире для анализа эффектов производственного облучения родителей.

Цель исследования – оценка общей смертности потомков, родители которых подверглись профессиональному облучению на ПО «Маяк». Рабочая гипотеза включала предположение о значимом вкладе производственного облучения родителей в общую смертность потомков.

Материал и методы

Информационными ресурсами для ретроспективного исследования служили архивные документы Южно-Уральского института биофизики, содержащие сведения о штатном персонале ПО «Маяк» [9], населении закрытого административно-территориального образования (ЗАТО) г. Озёрска, расположенного рядом с предприятием [10], данные об онкопатологии [11], сведения о случаях смерти [12].

Критерии формирования исследуемой группы потомков (основная группа): ребенок рожден в ЗАТО г. Озёрска в 1949–1973 гг.; родители являлись персоналом основных производств ПО «Маяк». Критерии формирования группы сравнения: ребенок рожден в ЗАТО г. Озёрск в 1949–1973 гг.; родители не были переселены с радиоактивно загрязненных областей, не подвергались производственному облучению до зачатия ребенка (не входили в штат персонала ПО «Маяк», не были военными, строителями, привлекавшимися для работы на ядерном объекте, не были ликвидаторами последствий радиационных аварий). В результате основная группа включала 12 836 человек: 6551 мужчина (51 %), 6285 женщин (49 %). Группа сравнения состояла из 7163 человек: 3650 мужчин (51 %), 3513 женщин (49 %). Сопоставимость групп достигнута фактом рождения в ЗАТО г. Озёрска, соразмерным соотношением полов, общим периодом рождения, что предполагает одинаковый уровень и качество медицинского обслуживания, а также единые климатогеографические условия проживания потомков.

Оценены показатели общей смертности потомков за период с 1949 по 2020 г. Общее число человеко-лет наблюдения составило 1 228 741 (в основной группе – 768 654, в группе сравнения – 460 087). Основные причины смерти проанализированы в соответствии с МКБ-10. «Дозиметрическая Система Работников Маяка – 2013» была основным источником данных об индивидуальных дозах профессионального облучения персонала ПО «Маяк» [13]. Оценены накопленные поглощенные дозы внешнего гамма-облучения гонад.

Для статистической обработки данных использованы пакеты программ STATISTICA V. 10 (StatSoft, США) и EPICURE (США) [14]. При сравнении показателей по частоте применены непараметрические методы статистики (точный критерий Фишера и критерий χ^2 Пирсона), различия в группах считались статистически значимыми при $p < 0{,}05$. Анализ стандартизованного отношения смертности (SMR) проводился методом косвенной стандартизации с использованием национального стандарта по данным ВОЗ [15]. Коэффициенты относительного риска (ОРиск) и избыточного относительного риска (ИОРиск) в зависимости от доз внешнего гамма-облучения гонад рассчитаны с 95%-м доверительным интервалом (95 % ДИ).

Результаты и их обсуждение

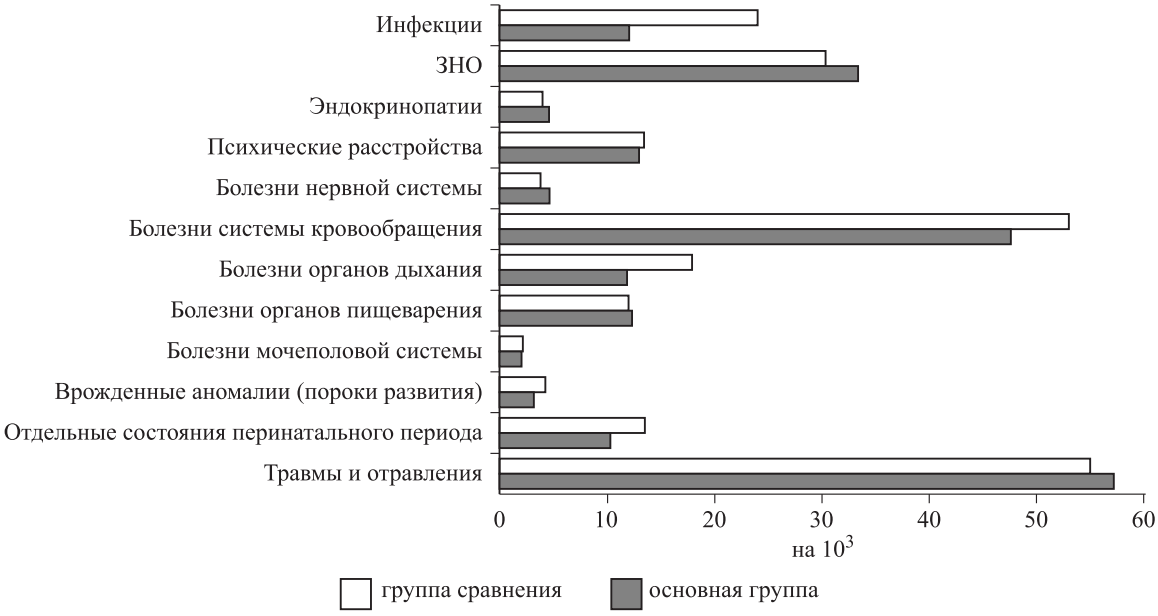
В основной группе и в группе сравнения за период с 1949 по 2020 г. существенный вклад в количество случаев смерти вносили потомки мужского пола (73,1 и 69,4 % соответственно) (табл. 1). Обнаружена более высокая смертность в группе сравнения среди потомков женского пола и среди обоих полов.

В структуре причин смерти (рисунок) в обеих группах наиболее часто встречались «Травмы и отравления». «Болезни системы кровообращения» были представлены главным образом «Ише-

Таблица 1. *Показатели общей смертности*

Table 1. *General mortality rates*

Пол потомков	Основная группа, n = 12836		Группа сравнения, n = 7163		p
	n	на 1000	n	на 1000	
Мужчины	2016/6551	307,7	1173/3650	321,4	0,15
Женщины	742/6285	118,1	516/3513	146,9	0,00004
Оба пола	2758/12836	214,9	1689/7163	235,8	0,0006



Основные причины смерти в группах
Main causes of death in the groups

мической болезнью сердца» (в основной группе 352 случая смерти (27,4 на 10^3), в группе сравнения – 212 (29,6 на 10^3), чаще всего регистрировался острый инфаркт миокарда (соответственно 79 (6,2 на 10^3) и 45 случаев смерти (6,3 на 10^3)). Средний возраст смерти от острых инфарктов миокарда составлял 52 года в основной группе и 50 лет – среди потомков необлученных родителей. Злокачественные новообразования (ЗНО) занимали третье по частоте место в обеих группах. Ранее проведенный анализ гемобластозов в исследуемой когорте потомков не показал значимых оценок риска [16]. По всем перечисленным нозологиям статистически значимых различий между группами не наблюдалось. Инфекционная патология как основная причина смерти наблюдалась в группе сравнения существенно чаще, чем в основной группе (см. рисунок, $p < 0{,}00001$). В структуре данного класса отмечен существенный вклад кишечных инфекций в детском возрасте, особенно шигеллезов, характерных для первых лет наблюдаемого периода. Кроме того, отмечен значительный удельный вес так называемых «управляемых инфекций», в том числе туберкулеза, дифтерии, вирусных гепатитов, менингококковой инфекции, отнесенных в настоящее время к «вакциноуправляемым» инфекционным болезням. Коронавирусная инфекция как основная причина смерти зарегистрирована в 2020 г. в единичных случаях (9 случаев в основной группе и 3 случая в группе сравнения) и чаще отмечалась как сопутствующая патология; средний возраст смерти от COVID-19 составлял 63 года.

«Болезни нервной системы» в качестве основных причин смерти регистрировались в группах с одинаковой частотой (см. рисунок), они были представлены как воспалительными заболеваниями, так и дегенеративной патологией ЦНС, среди которой существенный вклад в смертность в обеих группах вносила церебральная дегенерация. Случаи эпилепсии несколько чаще приводили к смертельному исходу в основной группе, чем в группе сравнения (соответственно 1,3 и 0,42 на 10^3, $p = 0{,}06$). Класс «Болезни органов дыхания» весомо чаще наблюдался в группе сравнения ($p = 0{,}0004$) со средним возрастом смерти при данной патологии 18 лет и 23 года соответственно. Врожденные аномалии развития как основные причины смерти регистрировались в группах без статистических различий и, как правило, были представлены пороками развития сердечных камер и соединений. Средний возраст смерти от декомпенсации пороков составил 8 лет в основной группе и 7 лет в группе сравнения. Статистические значимые различия в группах отмечены для состояний, характерных для перинатального периода, чаще ставших причинами смерти в группе сравнения ($p = 0{,}04$) (см. рисунок). В спектре данных состояний наиболее часто встречались укорочение срока гестации и респираторные расстройства новорожденных. Сравнительный анализ остальных классов МКБ в группах не обозначил значимых различий.

Анализ динамики общей смертности по годам смерти подтвердил прогнозируемое увеличение показателей смертности к концу наблюдаемого

периода вследствие естественного старения когорты. Так, среди мужчин основной группы показатель общей смертности вырос с 8,9 на 10^3 в 1949–1953 гг. до 104,1 на 10^3 в 2010–2020 гг. (с 17,7 до 82,9 на 10^3 в группе сравнения); среди женщин – с 8,7 до 43,9 на 10^3 (с 13,0 до 34,4 на 10^3 в группе сравнения).

Сравнительный анализ смертности с учетом распределения по возрасту показал значимые статистические различия в группах в некоторых возрастных категориях. Так, для потомков мужского пола смертность в возрасте 0–4 года была статистически значимо выше в группе сравнения, чем в основной (соответственно 60,5 и 38,5 на 10^3, $p < 0{,}00001$). Аналогичные результаты получены для потомков женского пола в этой возрастной категории (47,3 и 27,7 на 10^3, $p < 0{,}00001$), что было обусловлено, преимущественно, вкладом смертности в возрасте до года. К тому же в группе сравнения среди потомков мужского пола отмечался более высокий уровень смертности в возрастных стратах 55–59 лет (соответственно 63,8 и 44,9 на 10^3, $p = 0{,}00003$) и старше 65 лет (25,8 и 17,7 на 10^3, $p = 0{,}006$). Среди потомков женского пола также отмечалась более высокая частота смертности в группе сравнения, чем в основной, в возрасте 10–14 лет (соответственно 2,8 и 0,8 на 10^3, $p = 0{,}027$), 45–49 лет (22,8 и 15,8 на 10^3, $p = 0{,}013$) и 60–64 лет (17,9 и 11,8 на10^3, $p = 0{,}013$).

Значимое место в структуре смертности взрослых потомков занимали внешние причины смерти и болезни системы кровообращения, особенно характерные для периода 1990–1999 гг. В частности, ишемическая болезнь сердца, включая острые инфаркты, острую коронарную недостаточность и формы хронической ишемической кардиопатологии, в 90-е годы составляла 92 % всех болезней системы кровообращения, в начале 2000-х – 54,5 %. Указание на высокий уровень смертности мужчин в 90-е годы прошлого столетия в стране приводит В.М. Школьников [17], отмечая травмы, суициды, несчастные случаи и отравления в виде основных предпосылок и особо выделяя 1993 г. с высоким уровнем смертности от всех причин, за исключением ЗНО, что отличает ситуацию этого года от предыдущих.

При анализе SMR обнаружено, что в сравнении с данными по Российской Федерации смертность от всех причин среди потомков мужского пола в обеих группах и среди потомков женского пола в основной группе была статистически значимо ниже (табл. 2). Дополнительный анализ показал, что онкосмертность среди потомков обеих групп была существенно ниже в сравнении с данными национального стандарта.

Как и при анализе частоты смертности, значимые статистические различия по величине ОРиска получены для классов «Инфекционные болезни», «Болезни органов дыхания» и «Отдельные состояния перинатального периода», риск которых был выше среди потомков необлученных родителей (табл. 3). Итоговая оценка по совокупности причин смерти показала значимое превышение риска в группе сравнения.

Анализ индивидуальных доз производственного внешнего гамма-облучения гонад обозначил, что доза преконцептивного облучения яичников среди случаев смерти была ниже, чем в целом по группе: 59,1 [0; 329,4] (медиана [нижний квартиль; верхний квартиль]) и 74,4 [0,4; 367,4] мГр соответственно; диапазон доз среди случаев смерти был существенно уже, чем во всей основной группе: 0,1–2772,05 и 0,1–4075,6 мГр соответственно. Аналогичные тенденции прослеживались при анализе преконцептивного облучения семенников: среди случаев смерти доза 124,6 [7,56; 497,8] мГр, в целом по группе – 126,9 [16,1; 461,8] мГр; диапазон 0,1–5119,8 и 0,1–5653,1 мГр соответственно. При анализе преконцептивных доз профессионального облучения матерей и отцов не получено статистически значимого превышения риска смерти потомков ни в целом, ни в определенных дозовых интервалах (табл. 4). Вместе с тем ранее проведенный анализ общей смертности потомков с учетом облучения отцов до зачатия показал, что при дозах выше 100 мГр в предшествующий зачатию год риск смерти в когорте потомков-мужчин в 1,6 раза больше, чем

Таблица 2. *SMR в сравнении с национальным стандартом*

Table 2. *Standardized mortality ratio (SMR) compared to the national standard*

Смертность	Пол потомков	В основной группе		В группе сравнения	
		SMR	95 % ДИ	SMR	95 % ДИ
Все причины	Мужчины	0,79*	0,76–0,83	0,83*	0,79–0,87
	Женщины	0,79*	0,74–0,84	0,93	0,86–1,0
ЗНО	Мужчины	0,74*	0,65–0,83	0,56*	0,47–0,67
	Женщины	0,78*	0,67–0,9	0,64*	0,51–0,78

Примечание. *– статистически значимые различия.

Таблица 3. *ОРиск смерти по классам заболеваний*

Table 3. *Relative risk of death by diseases' classes*

Класс болезней по МКБ	Пол потомков	В основной группе		В группе сравнения		ОРиск	95 % ДИ
		n	на 1000	*n*	на 1000		
Инфекционные болезни	Мужчины	103/6551	15,7	104/3650	28,5	0,54*	0,41–0,72
	Женщины	52/6285	8,3	68/3513	19,4	0,42*	0,29–0,61
	Оба пола	155/12836	12,1	172/7163	24,0	0,50*	0,40–0,62
ЗНО	Мужчины	247/6551	37,7	127/3650	34,8	1,09	0,87–1,35
	Женщины	182/6285	28,9	89/3513	25,3	1,15	0,89–1,48
	Оба пола	429/12836	33,4	216/7163	30,2	1,11	0,94–1,31
Болезни эндокринной системы	Мужчины	33/6551	5,0	14/3650	3,8	1,31	0,70–2,46
	Женщины	26/6285	4,1	15/3513	4,3	0,97	0,51–1,83
	Оба пола	59/12836	4,6	29/7163	4,1	1,14	0,73–1,77
Психические расстройства	Мужчины	135/6551	20,6	77/3650	21,1	0,98	0,74–1,30
	Женщины	32/6285	5,1	19/3513	5,4	0,94	0,53–1,66
	Оба пола	167/12836	13,0	96/7163	13,4	0,97	0,75–1,25
Болезни нервной системы	Мужчины	46/6551	7,0	15/3650	4,1	1,71	0,96–3,07
	Женщины	14/6285	2,2	12/3513	3,4	0,65	0,30–1,41
	Оба пола	60/12836	4,7	27/7163	3,8	1,24	0,79–1,96
Болезни системы кровообращения	Мужчины	487/6551	74,3	289/3650	79,2	0,93	0,80–1,09
	Женщины	124/6285	19,7	89/3513	25,3	0,77	0,59–1,02
	Оба пола	611/12836	47,6	378/7163	52,7	0,9	0,79–1,02
Болезни органов дыхания	Мужчины	94/6551	14,3	79/3650	21,6	0,66*	0,49–0,89
	Женщины	57/6285	9,1	49/3513	13,9	0,65*	0,44–0,95
	Оба пола	151/12836	11,8	128/7163	17,9	0,65*	0,52–0,83
Болезни органов пищеварения	Мужчины	124/6551	18,9	56/3650	15,3	1,24	0,90–1,70
	Женщины	35/6285	5,6	31/3513	8,8	0,63	0,39–1,02
	Оба пола	159/12836	12,4	87/7163	12,1	1,02	0,78–1,33
Отдельные состояния перинатального периода	Мужчины	80/6551	12,2	55/3650	15,1	0,81	0,57–1,14
	Женщины	52/6285	8,3	42/3513	11,9	0,69	0,46–1,04
	Оба пола	132/12836	10,3	97/7163	13,5	0,76*	0,58–0,99
Врожденные аномалии [пороки развития]	Мужчины	24/6551	3,7	16/3650	4,4	0,84	0,44–1,57
	Женщины	20/6285	3,2	15/3513	4,3	0,74	0,38–1,46
	Оба пола	44/12836	3,4	31/7163	4,3	0,79	0,50–1,25
Травмы, отравления и другие последствия внешних причин	Мужчины	617/6551	94,2	321/3650	87,9	1,08	0,94–1,24
	Женщины	118/6285	18,8	72/3513	20,5	0,91	0,68–1,23
	Оба пола	735/12836	57,3	393/7163	54,9	1,05	0,92–1,19
Итого	Мужчины	2016/6551	307,7	1173/3650	321,4	0,94	0,86–1,02
	Женщины	742/6285	118,1	516/3513	146,9	0,78*	0,69–0,88
	Оба пола	2758/12836	214,9	1689/7163	235,8	0,89*	0,83–0,95

Примечание.*** – статистически значимые различия.

среди потомков, чьи отцы имели «нулевую» дозу [18]. Дополнительный анализ онкопатологии в зависимости от собственного облучения потомков, ставших впоследствии персоналом ПО «Маяк», не выявил статистически значимых коэффициентов риска в дозовых категориях и в целом: ИОРиск 0,66 [–1,70–0,93].

Таким образом, в исследовании не подтвердилась значимость вклада преконцептивного производственного облучения родителей в общую смертность потомков; отмечены более высокие уровни смертности среди потомков необлученных родителей. В качестве вероятных причин низкой смертности потомков работников ПО «Маяк» следует указать более благоприятные социальные условия жизни персонала предприятия [19]. Так, первичный анализ профессиональных особенностей групп показал существенные различия в социальном статусе родителей на момент рождения детей. Отмечено, что в основной группе удель-

Таблица 4. *ИОРиск смерти с учетом преконцептивного облучения родителей*

Table 4. *Excess relative risk of death taking into account preconception parental exposure*

Дозовые интервалы, мГр	Число потомков	ИОРиск	95 % ДИ
Преконцептивное облучение яичников			
0,1–20,0	153	–0,05	[–0,24; 0,16]
20,1–50,0	113	–0,08	[–0,29; 0,15]
50,1–1,0	117	–0,11	[–0,30; 0,11]
100,1–500,0	316	–0,17	[–0,32; –0,01]
500,1–1000,0	132	–0,13	[–0,32; 0,09]
1000,1 и более	111	–0,09	[–0,29; 0,14]
Всего	942	–0,08	[–0,18; –0,04]
Преконцептивное облучение семенников			
0,1–20,0	207	–0,20	[–0,32; –0,06]
20,1–50,0	209	–0,15	[–0,27; –0,01]
50,1–100,0	241	–0,06	[-0,20; 0,09]
100,1–500,0	722	–0,11	[–0,20; –0,01]
500,1–1000,0	301	–0,12	[–0,24; 0,01]
1000,1 и более	330	–0,12	[–0,23; 0,02]
Всего	2010	–0,02	[–0,08; –0,05]

ный вес рабочих и служащих был статистически значимо больше, а доля студентов – меньше, чем в группе сравнения, среди матерей соотношение составило 10,6:1, в группе сравнения – 3,75:1 ($p < 0{,}00001$), среди отцов – 1724,3:1 и 194,2:1 соответственно, $p < 0{,}00001$. Кроме того, важно учесть возможный «эффект здорового рабочего» [20], поскольку все родители в основной группе потомков обязательно проходили тщательное медицинское обследование перед трудоустройством на радиационно-опасный объект, что предполагает более высокие исходные характеристики их здоровья до рождения детей.

Перспективными направлениями развития данной темы могут рассматриваться анализ нерадиационных факторов, потенциально влияющих на смертность потомков (в частности, гестационный возраст, течение беременности и родов, вредные привычки и хроническая соматическая патология родителей и др.); последующая оценка влияния факторов социальной среды; дальнейший эпидемиологический мониторинг, так как наблюдаемая когорта потомков сравнительно «молодая» (самому старшему представителю – 73 года, средний возраст – 42,7 года), и эффекты в виде онкозаболеваемости и онкосмертности могут проявиться позже. Последующее наблюдение когорты потомков важно в аспекте обеспечения безопасности труда работников атомной отрасли.

Заключение

Ретроспективный эпидемиологический анализ смертности в когорте из 19 999 человек, у 12 836 из которых родители были работниками ПО «Маяк», показал следующее:

1) в основной группе общая смертность ниже, чем в группе сравнения, среди потомков женского пола (ОРиск 0,78, 95 % ДИ 0,69–0,88) и лиц обоих полов (ОРиск 0,89, 95 % ДИ 0,83–0,95);

2) в основной группе риск смерти от болезней органов дыхания, инфекционной патологии и состояний, характерных для перинатального периода, существенно ниже, чем в группе сравнения;

3) анализ смертности в зависимости от возраста обозначил некоторые возрастные категории со значимым преобладанием смертности в группе сравнения;

4) уровень смертности от всех причин среди потомков мужского пола в обеих группах и среди потомков женского пола в основной группе значительно ниже, чем в РФ;

5) расчет ИОРиска применительно к дозовым нагрузкам внешнего гамма-облучения гонад до зачатия не обозначил превышения оценок риска ни в целом, ни в различных дозовых категориях;

6) отмечена значимость социальных аспектов жизнедеятельности и исходных характеристик здоровья родителей.

Полученные данные могут служить основой для последующего эпидемиологического мониторинга здоровья потомков, родители которых подверглись воздействию радиации на производстве.

Список литературы / References

1. Lawrenz B., Henes M., Neunhoeffer E., Fehm T., Huebner S., Kanz L., Marini P., Mayer F. Pregnancy after successful cancer treatment: what needs to be considered? *Onkologie*. 2012;35(3):128–132. doi: 10.1159/000336830

2. Grant E.J., Furukawa K., Sakata R., Sugiyama H., Sadakane A., Takahashi I., Utada M., Shimizu Y., Ozasa K. Risk of death among children of atomic bomb survivors after 62 years of follow-up: a cohort study. *Lancet Oncol.* 2015;16(13):1316–1323. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00209-0

3. Ozasa K., Cullings H.M., Ohishi W., Hida A., Grant E.J. Epidemiological studies of atomic bomb radiation at the Radiation Effects Research Foundation. *Int. J. Radiat. Biol*. 2019;95(7):879–891. doi: 10.1080/09553002.2019.1569778

4. Jordan B. Hiroshima/Nagasaki survivors and their offspring: results of longterm epidemiological studies. *Med. Sci. (Paris).* 2018;34(2):171–178. doi: 10.1051/medsci/20183402016

5. Ашимова Б.С., Белихина Т.И., Калматаева Ж.А., Апсаликов К.Н. Заболеваемость и смертность среди жителей Казахстана, подвергшихся радиационному воздействию, и их потомков. *Пробл. соц. гигиены, здравоохр. и ист. мед.* 2016;24(2):115–118. doi: 10.1016/0869-866X-2016-24-2-115-118

Ashimova B.S., Belikhina T.I., Kalmataeva Zh.A., Apsalikov K.N. The morbidity and mortality of residents of Kazakhstan exposed to radiation impact and their posterity. *Problemy sotsial'noy gigieny, zdravookhraneniya i istorii meditsiny = Problems of Social Hygiene, Public Health and History of Medicine.* 2016;24(2):115–118. [In Russian]. doi: 10.1016/0869-866X-2016-24-2-115-118

6. Bazyka D.A., Sushko V.O., Chumak A.A., Fedirko P.A., Talko V.V., Yanovych L.A. State Institution "National research center for radiation medicine of the National Academy of medical sciences of Ukraine" – research activities and scientific advance in 2020. *Probl. Radiac. Med. Radiobiol.* 2021;26:10–17. doi: 10.33145/2304-8336-2021-26-10-17

7. Шалагинов С.А., Аклеев А.В. Подходы к оценке полноты и качества регистров потомков облученного населения. *Радиац. гигиена.* 2020;13(4):17–25. doi: 10.21514/1998-426X-2020-13-4-17-25

Shalaginov S.A., Akleev A.V. Approaches to the assessment of completeness and quality of the registry of exposed population offspring. *Radiatsionnaya gigiena = Radiation Hygiene.* 2020;13(4):17–25. [In Russian]. doi: 10.21514/1998-426X-2020-13-4-17-25

8. Соснина С.Ф., Сокольников М.Э. Наследуемые эффекты у потомков, связанные с вредным воздействием на родителей (обзор литературы). *Радиац. гигиена.* 2019;12(3):84–95. doi: 10.21514/1998-426X-2019-12-3-84-95

Sosnina S.F., Sokolnikov M.E. Heritable effects in offspring associated with harmful exposure to parents (Literature review). *Radiatsionnaya gigiena = Radiation Hygiene*. 2019;12(3):84–95. [In Russian]. doi: 10.21514/1998-426X-2019-12-3-84-95

9. Stram D.O., Sokolnikov M., Napier B.A., Vostrotin V.V., Efimov A., Preston D.L. Lung cancer in the Mayak workers cohort: risk estimation and uncertainty analysis. *Radiat Res.* 2021;195(4):334–346. doi: 10.1667/RADE-20-00094.1

10. Koshurnikova N.A., Kabirova N.R., Bolotnikova M.G., Petrushkina N.P., Shilnikova N.S., Sokolnikov M.E., Vasilenko E.K., Kuznetsova I.S., Okatenko P.V., Kreslov V.V. Characteristics of the register of persons living in childhood near PA Mayak. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost' = Medical Radiology and Radiation Safety*. 2003;(2):27–34.

11. Окатенко П.В., Фомин Е.П., Денисова Е.В., Кузнецова И.С., Сокольников М.Э., Кошурникова Н.А. Канцер-регистр населения г. Озерска: структура первичных злокачественных новообразований за период с 1948 по 2016 г. *Мед. радиология и радиац. безопасность.* 2021;66(5):85–90. doi: 10.12737/1024-6177-2021-66-5-85-90

Okatenko P.V., Fomin E.P., Denisova E.V., Kuznetsova I.S., Sokol'nikov M.E., Koshurnikova N.A. Cancer registry of population in the city Ozyorsk: structure of malignant neoplasms first diagnosed in period from 1948 to 2016. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost' = Medical Radiology and Radiation Safety*. 2021;66(5):85–90. [In Russian].

12. Царева Ю.В., Окатенко П.В. Структура смертности населения г. Озерска за период 1948–2013 гг. *Вопр. радиац. безопас*. 2023;(1):60–66.

Tsareva Yu.V., Okatenko P.V. Mortality structure of the population of Ozersk for the period 1948–2013. *Voprosy radiatsionnoy bezopasnosti = Radiation Safety Issues*. 2023;(1):60–66. [In Russian].

13. Napier B.A. The Mayak Worker Dosimetry System (MWDS-2013): an introduction to the documentation. *Radiat. Prot. Dosimetry.* 2017;176(1–2):6–9. doi: 10.1093/rpd/ncx020

14. Preston D.L., Lubin J.H., Pierce D.A., Mc-Conney M.E. EPICURE User`s Guide. Seattle: Hirosoft International Corp, 1993. 330 p.

15. World Health Organization. WHO Mortality Database. Available at: https://www.who.int/data/data-collection-tools/who-mortality-database

16. Соснина С.Ф., Кабирова Н.Р., Сокольников М.Э., Окатенко П.В. Гемобластозы у потомков работников радиационно опасных производств. *Анал. риска здоровью.* 2016;(4);23–30. doi: 10.21668/health.risk/2016.4.03

Sosnina S.F., Kabirova N.R., Sokolnikov M.E., Okatenko P.V. Hemoblastoses in offspring of radiation-hazardous industries workers. *Analiz riska zdorov'yu = Health Risk Analysis*. 2016;(4):23–30. doi: 10.21668/health.risk/2016.4.03 [In Russian].

17. Школьников В.М. Население России: смертность, продолжительность жизни. *Социологич. ж.* 1995;(1):167–174.

Shkol'nikov V.M. The population of Russia: mortality, life duration. *Sotsiologicheskiy zhurnal = Sociological Journal.* 1995;(1):167–174. [In Russian].

18. Кабирова Н.Р., Окатенко П.В. Последствия отцовского облучения: показатели общей смертности среди потомков. *Вопр. радиац. безопас*. 2020;(1):62–75.

Kabirova N.R., Okatenko P.V. Effects of paternal exposure: general mortality rates among offspring. *Voprosy radiatsionnoy bezopasnosti= Radiation Safety Issues*. 2020;(1):62–75. [In Russian]

19. Волосников Д.К., Соснина С.Ф. Медико-социальная характеристика семей, проживающих в закрытом административном территориальном образовании (г. Озерск), имеющих детей подросткового возраста. *Социол. мед*. 2010;(2):59–61.

Volosnikov D.K., Sosnina S.F. The medical social characteristics of families with children of adolescent age residing in the closed administrative territorial formation “Ozersk”. *Sotsiologiya meditsiny = Sociology of Medicine*. 2010; (2):59–61. [In Russian].

20. Трубецков А.Д., Жиров К.С. «Эффект здорового рабочего» в различных областях медицины труда (обзор). *Пробл. соц. гигиены, здравоохр. и ист. мед.*2021;29(2):254–259. doi: 10.32687/0869-866X-2021-29-2-254-259

Trubetskov A.D., Zhirov K.S. “The effect of healthy worker” in various areas of occupational medicine: the publications review. *Problemy sotsial’noy gigieny, zdravookhraneniya i istorii meditsiny = Problems of Social Hygiene, Public Health and History of Medicine.* 2021;29(2):254–259. doi: 10.32687/0869-866X-2021-29-2-254-259. [In Russian].

Сведения об авторах:

Соснина Светлана Фаридовна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-1553-0963, e-mail: sosnina@subi.su
Окатенко Павел Викторович, ORCID: 0000-0002-8260-1808, e-mail: okatenko@subi.su
Сокольников Михаил Эдуардович, д.м.н., ORCID: 0000-0001-9492-4316, e-mail: sokolnikov@subi.su

Information about the authors:

Svetlana F. Sosnina, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-1553-0963, e-mail: sosnina@subi.su
Pavel V. Okatenko, ORCID: 0000-0002-8260-1808, e-mail: okatenko@subi.su
Mikhail E. Sokolnikov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-9492-4316, e-mail: sokolnikov@subi.su

Поступила в редакцию 14.06.2024
После доработки 09.07.2024
Принята к публикации 14.11.2024

Received 14.06.2024
Revision received 09.07.2024
Accepted 14.11.2024

УДК 616.12-008.331.12-02:614.2-084.3 DOI: 10.18699/SSMJ20240628
Оригинальное исследование / Research article

Причины неудовлетворительного качества диспансерного наблюдения участковыми врачами-терапевтами больных артериальной гипертонией

А.Е. Манойлов[1], А.Ю. Маркина[2], О.П. Малыхина[3]

[1] Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России
454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64
[2] Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России
119992, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2
[3] Областная клиническая больница № 3 г. Челябинска
454021, г. Челябинск, пр. Победы, 287

Резюме

Факторы, влияющие на качество диспансерного наблюдения (ДН) больных артериальной гипертонией (АГ), оценены в нескольких масштабных исследованиях российских ученых. Установлено, что показатели процесса и результатов медицинской помощи диспансерным больным АГ часто не соответствовали условно-эталонным индикаторам. Цель исследования – выявить показатели структуры, процесса и результативности, отрицательно влияющие на качество врачебного ДН больных АГ. **Материал и методы.** Исследование выполнено по результатам 2022 г. В качестве структурных параметров изучены уровень знаний врачей, схема электронной амбулаторный карты, оборудование для ультразвуковой диагностики. Для оценки характеристик процесса использована информация о домашнем мониторинге артериального давления (АД), приверженности пациентов к лечению, наличии текущего анализа процесса ДН. Показатели результативности включали сведения о нормализации в течение года уровня АД и липидов, о стабилизации, регрессе степени гипертрофии левого желудочка и атеросклероза сонных артерий. Выборочная совокупность респондентов, амбулаторных карт формировалась случайным методом. **Результаты**. 58,3 % респондентов не были информированы о возможностях лекарственной терапии предупреждать повреждающее действие АГ на органы-мишени. В электронных амбулаторных картах отсутствовали шаблоны «Диспансерное наблюдение», «Этапный эпикриз». Имеющееся медицинское оборудование обеспечивало потребности ДН примерно на 50 %. Информация о домашнем мониторинге АД и приверженности больных к терапии имелась в 8,0 % случаев. Текущее подведение итогов проведения ДН выполнено у 10,0 % больных, оценка динамики содержания липидов, степени гипертрофии левого желудочка и каротидного атеросклероза не проведена ни в одном случае. Сведения о нормализации в течение года АД и уровня липидов, данные о стабилизации, регрессе гипертрофии левого желудочка и атеросклероза сонных артерий фактически отсутствовали. **Заключение**. Выявленные показатели структуры, процесса и результативности ДН являются вероятной причиной неудовлетворительного качества врачебного наблюдения больных АГ.

Ключевые слова: артериальная гипертония, диспансерное наблюдение, показатели структуры, процесса и результативности.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Автор для переписки: Манойлов А.Е., e-mail: a.e.manoylov@mail.ru
Для цитирования: Манойлов А.Е., Маркина А.Ю., Малыхина О.П. Причины неудовлетворительного качества диспансерного наблюдения участковыми врачами-терапевтами больных артериальной гипертонией. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):258–265. doi: 10.18699/SSMJ20240628

Causes of unsatisfactory quality of follow-up of patients with arterial hypertension by district therapists

A.E. Manoilov[1], A.Yu. Markina[2], O.P. Malykhina[3]

[1] South-Ural State Medical University of Minzdrav of Russia
454092, Chelyabinsk, Vorovskogo st., 64
[2] I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Minzdrav of Russia
119992, Moscow, Trubetskaya st., 8, bldg. 2
[3] Chelyabinsk Regional Clinical Hospital No. 3
454021, Chelyabinsk, Pobedy ave., 287

Abstract

Factors affecting the quality of follow-up (FU) of patients with arterial hypertension (AH) have been evaluated in several large-scale studies by Russian scientists. It was found that the indicators of the process and results of medical care for dispensary patients with AH often did not correspond to the conventional benchmark indicators. The purpose of the study was to identify structure, process, and performance indicators that negatively affect the quality of physician FU of AH patients. **Material and methods.** The study was performed according to the results of 2022. The level of knowledge of doctors, the scheme of the electronic outpatient card, and equipment for ultrasound diagnostics were studied as structural parameters. To assess the process characteristics, information on home blood pressure (BP) monitoring, patients' adherence to treatment, availability of current analysis of the FU process were used. Performance indicators included information on normalization of BP and lipid level during the year, about stabilization, regression of the degree of left ventricular hypertrophy and carotid atherosclerosis. The sample of respondents, outpatient records was formed by random method. **Results.** 58.3 % of respondents were not informed about the possibilities of drug therapy to prevent the damaging effect of AH on target organs. The electronic outpatient cards lacked the templates "Follow-up", "Stage discharge summary". The available medical equipment met the needs of FUs by about 50 %. Information on home BP monitoring and patients' adherence to therapy was available in 8.0 % of cases. Current summarization of FU was performed in 10.0 % of patients, assessment of lipid content dynamics, degree of left ventricular hypertrophy and carotid atherosclerosis was not performed in any case. Data on normalization of BP and lipid levels, data on stabilization, regression of left ventricular hypertrophy and carotid atherosclerosis during a year were actually absent. **Conclusions.** The identified indicators of structure, process and performance of DN are a probable cause of unsatisfactory quality of physician follow-up of AH patients.

Key words: arterial hypertension, follow-up,, structure, process and performance indicators.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Correspondence author: Manoilov A.E., e-mail: a.e.manoylov@mail.ru
Citation: Manoilov A.E., Markina A.Yu., Malykhina O.P. Causes of unsatisfactory quality of follow-up of patients with arterial hypertension by district therapists. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2024;44(6):258–265. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240628

Введение

Качество медицинской помощи представляет собой совокупность взаимосвязанных характеристик структуры, процесса и результата. Ее критерии вошли составной частью в систему законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан [1, 2]. Осуществление диспансерного наблюдения (ДН) в установленном порядке – один из эталонов оказания медицинской помощи в амбулаторно-поликлинических условиях [3]. Нормативы качества медицинской помощи конкретному пациенту с артериальной гипертонией (АГ) определены клиническими рекомендациями Минздрава РФ «Артериальная гипертензия у взрослых» [4] и приказом Минздрава РФ от 15.03.2022 № 168н «Об утверждении порядка проведения диспансерного наблюдения за взрослыми» [5]. Согласно этому Приказу ведущими нормативами ДН больных АГ следует считать достижение стабильных целевых показателей артериального давления (АД), целевых уровней липидов, а также компенсацию АГ по результатам ЭКГ, эхокардиографии (ЭхоКГ), ультразвукового допплеровского исследования брахицефальных артерий (УЗИ БЦА). Результативность ДН тесно связана с компетенцией медицинских работников, эффективностью использования технологий лечебно-диагностического процесса (протоколов, алгоритмов, стандартов).

Факторы, влияющие на качество ДН больных АГ, оценены в нескольких масштабных исследованиях российских ученых. Установлено, что показатели процесса и индикаторы результатов медицинской помощи диспансерным больным АГ часто не соответствовали условно-эталонным параметрам. В частности, выявлен далеко не полный объем выполненных обязательных инструментальных обследований. Например, ЭхоКГ была проведена только в 28,9 % случаев, УЗИ БЦА – в 1,0 % [6]. Обнаружены неудовлетвори-

тельные показатели лечебного процесса: уровень АД не достигал целевых значений в 91,4 % случаев, отсутствовали сведения о контроле содержания холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП), среди пациентов с известным уровнем ХС ЛПНП целевые показатели достигнуты только в 15,2 % случаев [7].

При неудовлетворительной квалификации врача ДН больных АГ, как правило, малоэффективно и не приносит нужных результатов. В РФ проведено несколько социологических опросов, в которых подтвержден неудовлетворительный уровень знаний участковых врачей-терапевтов в ряде аспектов медицинской помощи при АГ [8]. Также показана неудовлетворительная приверженность врачей клиническим рекомендациям [9, 10]. Зарубежные научные источники также сообщают о многочисленных и разнообразных затруднениях у врачей в прогнозировании, диагностике и лечении АГ. Концепция кардиоваскулярного риска, прогнозирования осложнений АГ не принимается медицинскими работниками безоговорочно. Выявлено отчетливое несоответствие между врачебной оценкой индивидуального кардиоваскулярного риска и мерами, предпринимаемыми для улучшения прогноза пациентов [11–13].

Таким образом, дальнейшее многостороннее изучение причин неудовлетворительного состояния проекта ДН больных АГ по-прежнему актуально. Поэтому нами выполнен анализ существующей системы врачебного ДН по трем направлениям. Во-первых, оценены условия работы врача (структурный подход); во-вторых, выявлены причины, затрудняющие полноценное выполнение предписанных для ДН лечебно-диагностических технологий (процессный подход); в-третьих, оценены успехи в достижении устойчивых результатов ДН (показатели результативности).

Цель исследования – выявить показатели структуры, процесса и результативности, отрицательно влияющие на качество врачебного ДН больных АГ.

Материал и методы

Исследование выполнено в течение 2023 г. по результатам работы в 2022 г. При проведении настоящей работы для статистического анализа использован выборочный метод с расчетом экстенсивных показателей. При анализе структурных параметров профессиональной деятельности участковых врачей-терапевтов по ДН исследованы и оценены их знания о профилактике осложнений АГ во время прохождения ими курсов повышения квалификации в ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» МЗ РФ. В работе использовался опросный метод с помощью полустандартизированной анонимной анкеты. Врачам было предложено высказать точку зрения по двум вопросам: «Можно ли считать развитие поражений органов-мишеней независимым от антигипертензивной терапии процессом у большинства пациентов с гипертонической болезнью (ГБ)?» и «Можно ли считать, что предупреждение гипертонических кризов является основным мероприятием в системе профилактики осложнений ГБ?». Предварительно для получения наиболее понятных формулировок вопросов и полного количества возможных вариантов ответов было проведено пилотное исследование. Выборочная совокупность респондентов формировалась случайным методом, а ее величина при известном объеме генеральной совокупности определялась по формуле А.М. Меркова [14] и составила 183 единицы наблюдения:

$$n = \frac{N \times t^2 \times P \times q}{N \times \Delta^2 + t^2 \times P \times q},$$

где t = 2,0 – доверительный критерий; P = 40 % – величина изучаемого показателя; q = 60 % – величина альтернативного показателя (100 – P); Δ = 5 – предельная ошибка; N = 350 – величина генеральной совокупности; n – необходимый объем выборочной совокупности.

Исследование проводилось в соответствии с Федеральным законом № 152-ФЗ от 27.07.2006 «О персональных данных» [15]. Предварительно респондент давал письменное согласие на участие в социологическом исследовании. Критерий включения – наличие у респондентов минимум пятилетнего стажа по специальности «участковый врач-терапевт». Количество больных АГ, состоящих на ДН в 2022 г. на территории обслуживания поликлиники ГАУЗ «Областная клиническая больница № 3 г. Челябинска», составило 10 901 человек. При выборе объема амбулаторных карт авторы ориентировались на Приказ Федерального фонда обязательного медицинского страхования № 36 от 28.02.2019 «Об утверждении порядка организации и проведения контроля объемов, сроков, качества и условий предоставления медицинской помощи по обязательному медицинскому страхованию» [16], который предписывал ежемесячный объем экспертиз качества медицинской помощи на уровне 0,5 % или 6,0 % в год от количества обслуживаемых пациентов. Таким образом, для анализа было отобрано 654 амбулаторные карты от состоящих на ДН пациентов.

С целью анализа информационных ресурсов ДН проведено изучение структуры электрон-

ной истории болезни амбулаторного больного медицинской информационной системы (МИС) БАРС подмодуля «БАРС. Здравоохранение – Амбулаторный врачебный приём». Согласно форме № 025/у оценивалось наличие и заполнение врачом пунктов «Диспансерное наблюдение» и «Этапный эпикриз» [17]. Для анализа технологических ресурсов ДН оценена возможность проведения ЭхоКГ и УЗИ БЦА 10 901 диспансерному пациенту с АГ как минимум 1 раз в год в соответствии с клиническими рекомендациями [4] и Приказом Минздрава РФ № 168 [5]. При расчетах учтено, что в 2023 г. в поликлинике выполнялось по нормативам за рабочий день 13 ЭхоКГ и 3 УЗИ БЦА. В итоге за 247 рабочих дней было возможно проведение 3211 ЭхоКГ и 741 УЗИ БЦА нуждающимся амбулаторным пациентам. Всем отобранным для анализа больным АГ было показано проведение ЭхоКГ и УЗИ БЦА в 2023 г. В качестве характеристик процесса ДН использованы информация о домашнем мониторинге АД, отметки о приверженности пациентов к лечению и как минимум ежегодное подведение врачом итогов ДН (уровень АД, динамика содержания липидов). В качестве показателей результативности в соответствии с клиническими рекомендациями [4] использовались наличие врачебного заключения «Контролируемая АГ», отметки о достижении необходимого уровня липидов, подтверждение стабилизации или регресса гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) и атеросклероза сонных артерий.

Все процессные показатели и показатели результативности ДН больных АГ сравнивались с индикаторами здоровья, определенными Приказом Минздрава РФ № 168 [5] и клиническими рекомендациями [4]. Критериями включения пациентов в исследование являлись обслуживание поликлиникой ГАУЗ «Областная клиническая больница № 3 г. Челябинска»; возраст 18 лет и более; нахождение на ДН, при наличии в листе заключительных диагнозов в амбулаторной карте клинического диагноза, соответствующего кодам МКБ-10 I10–I13; наличие не менее двух электронных персональных записей о посещениях участковых врачей в течение года. Изучен период динамического наблюдения больных АГ по результатам 2022 г.

Результаты

Выявлены следующие структурные характеристики ДН. Результаты ответов на первый вопрос «Можно ли считать развитие поражений органов мишеней независимым от антигипертензивной терапии процессом у большинства пациентов с ГБ?» следующие: согласились с данным утверждением 58,3 % врачей, 38,3 % придерживались отрицательной точки зрения, 3,4 % затруднились с ответом. Мнения врачей по второму вопросу «Можно ли считать, что предупреждение гипертонических кризов является основным мероприятием в системе профилактики осложнений ГБ?» также разделились: согласились с данным положением 68,2 % респондентов и оставшиеся опрошенные (31,8 %) с этим утверждением не согласились.

В электронной медицинской карте амбулаторного больного отсутствовали шаблоны «Диспансерное наблюдение», «Этапный эпикриз», являющиеся разделами формы № 025/у согласно Приказу Минздрава РФ от 15.12.2014 № 834н [18]. Количество имеющегося в лечебном учреждении медицинского оборудования для ЭхоКГ и УЗИ БЦА не позволяло провести обследование больных АГ в объеме, требуемом Приказом Минздрава РФ от 15.03.2022 № 168н [5]. ЭхоКГ в течение года была выполнена только у 56,0 % пациентов с АГ, УЗИ БЦА – в 15,6 % случаев. Анализ процессных показателей ДН показал, что периодические записи в отношении лечебной динамики АД сделаны только в 10,0 % случаев. Ни в одном документе не проведено текущего анализа уровня липидов, степени ГЛЖ и атеросклероза сонных артерий. Во всех амбулаторных картах отсутствовала информация о показателях домашнего мониторинга АД. Записи о приверженности больных к антигипертензивной терапии обнаружены в 8,8 % случаев.

Параметры достигнутых (конечных) результатов ДН были представлены следующим образом. Отметка «Контролируемая АГ» в строке «Диагноз основного заболевания» периодически имелась у 66,6 % пациентов. В одной трети случаев фигурировала запись «Неконтролируемая АГ». Сохранение постоянного уровня достигнутого целевого АД в течение года было документировано в амбулаторных картах у 4,0 % пациентов. Ни у одного больного в течение года не зафиксировано поддержание целевых показателей липидов, стабилизации/регресса ГЛЖ и атеросклероза каротидных артерий.

Обсуждение

Главным инструментом управления рисками повышенного АД в РФ является долгосрочный периодический мониторинг состояния больного, осуществляемый на практике через активное врачебное ДН. Обнаружено, что осведомленность более половины из них в фундаментальных вопросах развития долгосрочных осложнений АГ не соответствует современному научному уров-

ню знаний и не отвечает профилактическим задачам ДН, что согласуется с данными российских [8–10] и зарубежных исследований [11–13]. Больше половины врачей, скорее всего, недооценивают превентивные эффекты постоянной антигипертензивной терапии в отношении снижения повреждающего воздействия повышенного АД на здоровье человека и рассматривают развитие поражений органов-мишеней как закономерный клинический исход АГ. Качество ДН не будет удовлетворительным, если участковые врачи-терапевты акцентируют свое внимание не на долгосрочных задачах ДН, а преимущественно на предупреждении обострений ГБ, ее приступов – гипертонических кризов, согласно ответам на второй вопрос анкеты.

В электронной медицинской карте амбулаторного больного МИС отсутствуют шаблоны «Диспансерное наблюдение» и «Этапный эпикриз», в которых участковый врач-терапевт мог бы провести контроль эффективности своей работы. Удаление в МИС шаблонов «Диспансерное наблюдение», «Этапный эпикриз», исходно существующих в ф. № 025/у, снижает мотивацию врачей регулярно учитывать результаты ДН, затрудняет работу больничным отделам по контролю качества ДН. Шаблоны «Диспансерное наблюдение», «Этапный эпикриз» – это система напоминания о необходимости контроля качества ДН. Следует отметить, что в другом документе ДН – учетной форме № 030/у «Контрольная карта диспансерного наблюдения» – не предусмотрено раздела, куда бы программа МИС или сам врач вносили данные, позволяющие наглядно оценивать достигнутые результаты. И эта ситуация сохраняется несмотря на то, что С.А. Бойцов и соавт. в 2014 г. в своих Методических рекомендациях предложили «Лист контроля эффективности ДН» [18].

Выявлены проблемы качества ДН, связанные с недостаточным объемом проведения ультразвуковой диагностики больным АГ. Имеющиеся в лечебном учреждении один аппарат для ЭхоКГ и один для УЗИ БЦА технически не позволяют обследовать пациентов как минимум 1 раз в год, что требуется для оценки ежегодной динамики осложнений АГ и долгосрочной эффективности терапии, согласно указаниями КР [4] и приказу № 168н [5]. ЭхоКГ в течение года была выполнена только у 56,0 %, пациентов с АГ, УЗИ БЦА – в 15,6 % случаев, что, однако, существенно больше по сравнению с российскими данными за 2017 г. [6]. Таким образом, существующие условия работы врачей не способствуют качественному ДН.

Анализ процессных показателей ДН позволил обнаружить, что необходимые периодические записи в отношении динамики АД в ходе лечения сделаны только в 10,0 %. Ни в одном случае не было проведено сравнение лечебной динамики уровня липидов, величины ГЛЖ, атеросклероза сонных артерий. Записи о приверженности больных к антигипертензивной терапии обнаружены лишь в 8,8 % случаев, несмотря на указание о проведении диагностики приверженности пациента к лекарственной терапии [4]. Ссылок на результаты домашнего мониторинга АД в амбулаторных картах не обнаружено. В то же время больным АГ для повышения приверженности к проводимой антигипертензивной терапии рекомендуется домашний мониторинг АД, ведение дневников с фиксацией в них доз используемых лекарств и показателей АД 2 раза в день [4]. Обнаруженные показатели процесса связаны с неудовлетворительным качеством врачебного ДН.

Изученные показатели результативности, связанные с качеством ДН, можно считать неудовлетворительными. Отметка о снижении и достижении целевого уровня АД обнаружена у 66,6 %. При этом диагностическое заключение «Контролируемая АГ» ни в одном случае не подтверждено итоговыми сводными таблицами АД, сведениями о результатах домашнего мониторинга АД, ссылками на ведение дневников АД больными. Долгосрочный контроль (сохранение АД на целевом уровне в течение года) документирован только в 4,0 % случаев в редких этапных эпикризах, написанных в произвольной форме. В этапных эпикризах не найдено информации о сохранении в течение года достигнутых целевых показателей содержания липидов, стабилизации/регрессе уровня ГЛЖ и атеросклероза сонных артерий. Исследованные показатели результативности отражают негативные аспекты врачебного ДН, что подтверждает данные российских ученых [7] .

Заключение

Обнаруженные показатели структуры, процесса и результатов врачебного ДН могут в той или иной степени объяснять причины его неудовлетворительного качества. Более чем у половины опрошенных участковых врачей-терапевтов выявлена система устаревших профессиональных взглядов на прогнозирование и предупреждение осложнений АГ, объясняющая их индифферентное отношение к ГЛЖ, поражению сонных артерий. Скорее всего, прогнозирование риска и профилактика АГ в меньшей степени интересует практического врача, чем клинические проявления [11–13]. Существующая на настоящий момент электронная амбулаторная карта МИС также не способствует качественной работе врачей

по ДН. Нужна разработка подпрограмм в МИС для автоматизированного осуществления учета и контроля всех индикаторов ДН, в первую очередь АД, уровня липидов, ГЛЖ и атеросклероза БЦА. Обнаруженная у значительной части врачей приверженность устаревшим концепциям течения АГ может служить одной из важных причин, объясняющих их профессиональную пассивность в проведении ДН, формальное отношение к ДН.

Клиницисты в настоящее время не озабочены в полной мере мониторингом своей эффективности в проекте ДН. Отсутствует постоянное подведение итогов основных показателей здоровья пациента, которые влияют на тактику лечения и информируют врача о прогрессировании или стабильности заболевания. Исключительно редко представлена в амбулаторных картах наглядная итоговая сравнительная динамика целевых и фактических значений величины АД, ГЛЖ и атеросклероза сонных артерий, содержания липидов. Важнейшие показатели результативности процесса ДН (стабильный в течение года уровень АД, липидов, ГЛЖ и т.д.) не только не отмечаются, но и, скорее всего, не достигаются в большинстве случаев. Вероятно, также вследствие технологических недостатков существующей электронной документации и недостаточности диагностической базы показатели конечных эффектов ДН, характеризующие степень достижения запланированных целей, в большинстве случаев не рассчитываются и не анализируются. Партнерство пациента в лечебном процессе в значительной степени игнорируется, результаты самонаблюдения больных не учитываются в амбулаторных картах. Не учитывается личная ответственность пациентов в лечении АГ, диагностика его приверженности к антигипертензивной терапии (код Z91.1 по МКБ-10) не находит рутинного отражения в амбулаторной карте. В создавшейся ситуации требуется комплексное устранение причин неудовлетворительного качества ДН, в частности проведение образовательных мероприятий среди врачей-терапевтов участковых.

Список литературы

1. Donabedian A. The quality of care. How can it be assessed? *JAMA*. 1988;260(12):1743–1748. doi: 10.1001/jama.260.12.1743

2. Федеральный закон № 323-ФЗ от 21.11.2011 «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Режим доступа: https://minzdrav.gov.ru/documents/7025-federalnyy-zakon-323-fz-ot-21-noyabrya-2011-g

3. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 203н от 10.05.2017 «Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи». Режим доступа: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71575880/

4. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации Минздрава Российской Федерации. 2020. Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/62_2?ysclid=lx1bt2dwgt415272703

5. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №168н от 15.03.2022 «Об утверждении порядка проведения диспансерного наблюдения за взрослыми». Режим доступа: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202204210027

6. Ощепкова Е.В., Лазарева Н.В., Чазова И.Е. Оценка качества обследования больных артериальной гипертонией в первичном звене здравоохранения (по данным российского Регистра артериальной гипертонии). *Систем. гипертензии*. 2017;14(2):29–34. doi: 10.26442/2075-082X_14.2.29-34

7. Драпкина О.М., Шепель Р.Н., Дроздова Л.Ю., Калинина А.М., Булгакова Е.С., Орлов Д.О., Курилов И.В. Качество диспансерного наблюдения взрослого населения с артериальной гипертонией 1–3 степени, за исключением резистентной артериальной гипертонии, врачами-терапевтами участковыми медицинских организаций субъектов Российской Федерации. *Рос. кардиол. ж*. 2021;26(4):61–73.

8. Бонцевич Р.А., Вовк Я.Р., Гаврилова А.А., Кириченко А.А., Эбзеева Е.Ю., Космачева Е.Д., Компаниец О.Г., Прозорова Г.Г., Невзорова В.А., Мартыненко И.М., … Осипова О.А. Этиопатогенез, диагностика и подходы к лечению артериальной гипертонии: оценка базовых знаний врачей терапевтического профиля. Финальные результаты проекта PHYSTARH. *Систем. гипертензии*. 2021; 18(1):25–30. doi:10.26442/2075082X.2021.1.200346

9. Перепеч Н.Б., Шурыгина В.Д., Трегубов А.В. Приверженность врачей рекомендациям по диагностике и лечению артериальной гипертензии. *Рац. фармакотерапия в кардиол*. 2019;15(4):502–509. doi: 10.20996/1819-6446-2019-15-4-502-509

10. Доронина Л.А., Панова И.Ю. Оценка качества медицинской помощи пациентам с артериальной гипертонией и приверженностью их к лечению. *Практ. мед*. 2018;16(9):102–105. doi: 10.32000/2072-1757-2018-9-102-105

11. Greaves K., Smith A., Agostino J., Kunarajah K., Stanton T., Korda R. Cross-sectional survey describing general practitioners' absolute cardiovascular disease risk assessment practices and their relationship to knowledge, attitudes and beliefs about cardiovascular disease risk in Queensland Australia. *BMJ Open*. 2020;10(8):e033859. doi: 10.1136/bmjopen-2019-033859

12. Ju I., Banks E., Calabria B., Ju A., Agostino J., Korda R.J., Usherwood T., Manera K., Hanson C.S., Craig J.C., Tong A. General practitioners' perspectives on the prevention of cardiovascular disease: systemat-

ic review and thematic synthesis of qualitative studies. *BMJ Open*. 2018;8(11):e021137. doi: 10.1136/bmjopen-2017-021137

13. Tocci G., Cicero A.F., Salvetti M., Musumeci M.B., Ferrucci A., Borghi C., Volpe M. Attitudes and preferences for the clinical management of hypertension and hypertension-related cerebrovascular disease in the general practice: results of the Italian hypertension and brain survey. *Clin. Hypertens*. 2017;23:10. doi: 10.1186/s40885-017-0066-0

14. Зайцев В.М., Лифлянский В.Г., Маринин В.И. Прикладная медицинская статистика. СПб.: Фолиант, 2006. 428 с.

15. Федеральный закон № 152-ФЗ от 27.07.2006 «О персональных данных». Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_61801/

16. Приказ Федерального фонда обязательного медицинского страхования № 36 от 28.02.2019 «Об утверждении порядка организации и проведения контроля объемов, сроков, качества и условий предоставления медицинской помощи по обязательному медицинскому страхованию». Режим доступа: https://base.garant.ru/72271640/

17. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 834н от 15.12.2014 «Об утверждении унифицированных форм медицинской документации, используемых в медицинских организациях, оказывающих медицинскую помощь в амбулаторных условиях, и порядков по их заполнению». Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_175963/

18. Бойцов С.А., Калинина А.М., Гомова Т.А., Ипатов П.В., Каминская А.К. Диспансерное наблюдение больных хроническими неинфекционными заболеваниями и пациентов с высоким риском их развития. *Профилакт. мед*. 2014;17(4):10–15.

References

1. Donabedian A. The quality of care. How can it be assessed? *JAMA*. 1988;260(12):1743–1748. doi: 10.1001/jama.260.12.1743

2. Federal Law N 323-FZ dated 21.11.2011 “On the basics of public health protection in the Russian Federation”. Available at: https://minzdrav.gov.ru/documents/7025-federalnyy-zakon-323-fz-ot-21-noyabrya-2011-g [In Russian].

3. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation N 203n dated 10.05.2017 “On the approval of criteria for assessing the quality of medical care”. Available at: https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71575880/ [In Russian].

4. Arterial hypertension in adults. Clinical recommendations of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2020. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/62_2?ysclid=lx1bt2dwgt415272703 [In Russian].

5. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation N 168n dated 15.03.2022 “On approval of the procedure for conducting dispensary supervision of adults”. Available at: http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202204210027 [In Russian].

6. Oshchepkova E.V., Lazareva N.V., Chazova I.E. Quality assessment of examination of patients with arterial hypertension in primary health care (according to the Russian arterial hypertension register data). *Sistemnye gipertenzii = Systemic Hypertension*. 2017;14(2):29–34. [In Russian]. doi: 10.26442/2075-082X_14.2.29-34

7. Drapkina O.M., Shepel R.N., Drozdova L.Yu., Kalinina A.M., Bulgakova E.S., Orlov D.O., Kurilov I.V. Quality of follow-up monitoring of the adult population with grade 1-3 hypertension, with the exception of resistant hypertension, by primary care physicians in different Russian regions. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Cardiology*. 2021;26(4):61–73. [In Russian]. doi:10.15829/1560-4071-2021-4332

8. Bontsevich R.A., Vovk Ya.R., Gavrilova A.A., Kirichenko A.A., Ebzeeva E.Yu., Kosmacheva E.D., Kompaniets O.G., Prozorova G.G., Nevzorova V.A., Martynenko I.M., … Osipova O.A. Etiopathogenesis, diagnosis, and approaches to the treatment of arterial hypertension: an assessment of the physicians’ basic knowledge. Final results of the PHYSTARH project. *Sistemnye gipertenzii =Systemic Hypertension*. 2021;18(1):25–30. [In Russian]. doi:10.26442/2075082X.2021.1.200346

9. Perepech N.B., Shurygina V.D., Tregubov A.V. Doctors’ adherence to the guidelines on the diagnostics and treatment of arterial hypertension. *Ratsional’naya farmakoterapiya v kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2019;15(4):502–509. [In Russian]. doi:10.20996/1819-6446-2019-15-4-502-509

10. Doronina L.A., Panova I.Yu. Quality assessment of medical care for patients with arterial hypertension and their adherence to treatment. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine*. 2018;16(9):102–105. [In Russian]. doi: 10.32000/2072-1757-2018-9-102-105

11. Greaves K., Smith A., Agostino J., Kunarajah K., Stanton T., Korda R. Cross-sectional survey describing general practitioners’ absolute cardiovascular disease risk assessment practices and their relationship to knowledge, attitudes and beliefs about cardiovascular disease risk in Queensland Australia. *BMJ Open*. 2020;10(8):e033859. doi: 10.1136/bmjopen-2019-033859

12. Ju I., Banks E., Calabria B., Ju A., Agostino J., Korda R.J., Usherwood T., Manera K., Hanson C.S., Craig J.C., Tong A. General practitioners’ perspectives on the prevention of cardiovascular disease: systematic review and thematic synthesis of qualitative studies. *BMJ Open*. 2018;8(11):e021137. doi: 10.1136/bmjopen-2017-021137

13. Tocci G., Cicero A.F., Salvetti M., Musumeci M.B., Ferrucci A., Borghi C., Volpe M. Attitudes and preferences for the clinical management of hypertension and hypertension-related cerebrovascular disease in the general practice: results of the Italian hypertension and brain survey. *Clin. Hypertens*. 2017;23:10. doi: 10.1186/s40885-017-0066-0

14. Zaitsev V.M., Liflyanskii V.G., Marinin V.I. Applied medical statistics. Saint Petersburg: Foliant, 2006. 428 p. [In Russian].

15. Federal Law N 152-FZ dated 27.07.2006 "About personal data". Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_61801/ [In Russian].

16. Order of the Federal Compulsory Medical Insurance Fund N 36 dated 28.02.2019 "On approval of the procedure for organizing and conducting control of the volume, timing, quality and conditions of medical care for compulsory medical insurance". Available at: https://base.garant.ru/72271640/ [In Russian].

17. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation N 834n dated 15.12.2014 "On approval of the unified forms of medical documentation used in medical organizations providing outpatient medical care and the procedures for filling them out". Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_175963/ [In Russian].

18. Boytsov S.A., Kalinina A.M., Gomova T.A., Ipatov P.V., Kaminskaya A.K. Follow-up of patients with chronic non-communicable diseases and a risk for their development: real practice of regional outpatient/polyclinic facilities. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health*. 2014;17(4):10–15. [In Russian].

Сведения об авторах:

Манойлов Александр Егорович, к.м.н., ORCID: 0009-0005-0811-1391, e-mail: a.e.manoylov@mail.ru
Маркина Алёна Юрьевна, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0001-5058-2414, e-mail: markina_alenka@mail.ru
Малыхина Ольга Павловна, к.м.н., ORCID: 0009-0000-7514-7291, e-mail: Omalyhina@rambler.ru

Information about the authors:

Alexander E. Manoilov, candidate of medical sciences, ORCID: 0009-0005-0811-1391, e-mail: a.e.manoylov@mail.ru
Alyona Yu. Markina, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0001-5058-2414, e-mail: markina_alenka@mail.ru
Olga P. Malykhina, candidate of medical sciences, ORCID: 0009-0000-7514-7291, e-mail: Omalyhina@rambler.ru

Поступила в редакцию 23.05.2024
После доработки 10.06.2024
Принята к публикации 12.10.2024

Received 23.05.2024
Revision received 10.06.2024
Accepted 12.10.2024

Подписаться на журнал можно по объединенному каталогу «Пресса России»
и каталогу «Урал-Пресс», индекс 11224

Подписано в печать 25.12.2024. Выход в свет 28.12.2024. Формат 60×84/8.
Усл. печ. л. 30,92. Уч.-изд. л. 28,52. Тираж 51 экз. Заказ № 279. 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

© Сибирское отделение РАН, 2024