

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (online)

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 21

№ 2. 2022

ISSN 1682-0363

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 1. 2002

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 3. 2002

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 4. 2002

ISSN 1682-0363

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 2. 2004

ISSN 1682-0363

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ 2. 2012

20 ЛЕТ ЖУРНАЛУ «БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ»

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 21, № 2, 2022

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (online)

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ:

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный
медицинский университет» Минздрава России

Журнал основан в 2001 году
Зарегистрирован в Министерстве РФ
по делам печати, телерадиовещания
и средств массовых коммуникаций
Свидетельство регистрации ПИ
№ 77-7366 от 26.03.2001 г.

Журнал входит в Перечень ведущих
рецензируемых научных журналов и изданий,
выпускаемых в РФ, в которых должны быть
опубликованы основные научные результаты
диссертаций на соискание ученой степени
доктора и кандидата наук

Индексация:

Scopus
Web of Science (WoS (ESCI))
РИНЦ (Science Index)
RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

Редакция:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 107.
Тел.: (382-2)-51-41-53.
<http://bulletin.tomsk.ru>
E-mail: bulletin@bulletin.tomsk.ru

Оригинал-макет:

Издательство СибГМУ.
634050, г. Томск, Московский тракт, 2.
Редакторы: Е.Е. Степанова, Ю.П. Готфрид
Перевод: М.Е. Орлова, Дж. Палацца
Электронная верстка, дизайн обложки
Л.Д. Кривцова

Отпечатано в ООО «Литбюро»,
634055, г. Томск, ул. Королёва, 4.

Подписано в печать 28.06.2022 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».
Печ. л. 26,5. Усл. печ. л. 25,0.
Тираж 500 экз. Заказ 398.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 30.06.2022.

При перепечатке ссылка на
«Бюллетень сибирской медицины» обязательна.

Ответственность за достоверность информации,
содержащейся в рекламных материалах, несут рекламодатели.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

О.И. Уразова, *член-корреспондент РАН (Томск)*

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Л.М. Огородова, *член-корреспондент РАН (Томск)*

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

В.В. Калюжин, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*

РЕДКОЛЛЕГИЯ:

В.М. Алифорова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Л.И. Афтанас, *академик РАН (Новосибирск)*
А.А. Баранов, *академик РАН (Москва)*
А.И. Венгеровский, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Е.Г. Григорьев, *член-корреспондент РАН (Иркутск)*
А.М. Дыгай, *академик РАН (Томск)*
М.В. Завьялова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Л.В. Капилович, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
С.И. Карась, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Р.С. Карпов, *академик РАН (Томск)*
В.И. Киселев, *член-корреспондент РАН (Барнаул)*
С.В. Логвинов, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
А.Д. Макацария, *член-корреспондент РАН (Москва)*
Л.С. Намазова-Баранова, *академик РАН (Москва)*
С.А. Некрылов, *профессор, д-р ист. наук (Томск)*
В.П. Пузырев, *академик РАН (Томск)*
В.И. Стародубов, *академик РАН (Москва)*
Е.А. Степовая, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
А.Т. Тепляков, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
В.А. Ткачук, *академик РАН (Москва)*
В.А. Труфакин, *академик РАН (Новосибирск)*
О.С. Федорова, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
И.А. Хлусов, *профессор, д-р мед. наук (Томск)*
Е.Л. Чойнзонов, *академик РАН (Томск)*
А.Г. Чучалин, *академик РАН (Москва)*
А.В. Шабров, *академик РАН (Санкт-Петербург)*
В.А. Шкурупий, *академик РАН (Новосибирск)*
М.С. Юсубов, *профессор, д-р хим. наук (Томск)*
A. Antsaklis, *профессор (Греция)*
F. Chervenak, *профессор (США)*
C. Dadak, *профессор (Австрия)*
Y. Dekhtyar, *профессор (Латвия)*
M. Eppele, *профессор (Германия)*
D. Gailani, *профессор (США)*
P. Odermatt, *(Швейцария)*
J. Odland, *(Норвегия)*
M. Poyurovsky, *профессор (Израиль)*
V. Zhdankin, *профессор (США)*

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

Peer-reviewed scientific-practical journal
Issued quarterly

Volume 21, No. 2, 2022

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (online)

FOUNDER AND PUBLISHER:

Siberian State Medical University, the Ministry
for Healthcare of the Russian Federation

Registered by the Ministry of the Russian Federation for
Affairs of the Press, Television and Radio Broadcasting and
Mass Communication Media

Certificate of registration PI No. 77-7366
dated to 26.03.2001

Bulletin of Siberian Medicine is included:
in the List of peer-reviewed scientific journals
and publications issued in the Russian Federation,
which should publish main scientific results
of doctor's and candidate's theses

Bulletin of Siberian Medicine is indexed:

Scopus
Web of Science (WoS (ESCI))
Science Index

RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

Editorial Board Office:

107, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation
Telephone: +7-(382-2)-51-41-53.
<http://bulletin.tomsk.ru>
E-mail: bulletin@bulletin.tomsk.ru

Publisher: the Siberian State Medical University.
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050,
Russian Federation.

Editors: E.E. Stepanova, Yu.P. Gotfrid
Translate: M.E. Orlova, D. Palazza
Electronic makeup, cover design
L.D. Krivtsova

Printed in Litburo LLC,
4, Korolev Str., Tomsk, 634055, Russian Federation

Signed to print 28.06.2022
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Times font.
P.l. 26,5. C.p.l. 25,0.
500 copies. Odder no 398.

The price – free.
Date of publication 30.06.2022.

Pass-through copyright.
Advertising providers are liable for the truthfulness
of information in advertising materials.

© Siberian State Medical University, 2022

EDITOR-IN-CHIEF

O.I. Urazova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*

DEPUTY-EDITORS-IN-CHIEF:

L.M. Ogorodova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*

SCIENCE EDITOR

V.V. Kalyuzhin, *Professor (Tomsk)*

EDITORIAL BOARD:

V.M. Alifirova, *Professor (Tomsk)*
L.I. Aftanas, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
A.A. Baranov, *Academician of RAS (Moscow)*
A.I. Vengerovsky, *Professor (Tomsk)*
Ye.G. Grigoriyev, *Corresponding Member of RAS (Irkutsk)*
A.M. Dygai, *Academician of RAS (Tomsk)*
M.V. Zav'yalova, *Professor (Tomsk)*
L.V. Kapilevich, *Professor (Tomsk)*
S.I. Karas, *Professor (Tomsk)*
R.S. Karpov, *Academician of RAS (Tomsk)*
V.I. Kiselyov, *Corresponding Member of RAS (Barnaul)*
S.V. Logvinov, *Professor (Tomsk)*
A.D. Makatsaria, *Corresponding Member of RAS (Moscow)*
L.S. Namazova-Baranova, *Academician of RAS (Moscow)*
S.A. Nekrylov, *Professor (Tomsk)*
V.P. Puzyryov, *Academician of RAS (Tomsk)*
V.I. Starodubov, *Academician of RAS (Moscow)*
Ye.A. Stepovaya, *Professor (Tomsk)*
A.T. Teplyakov, *Professor (Tomsk)*
V.A. Tkachuk, *Academician of RAS (Moscow)*
V.A. Trufakin, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
O.S. Fedorova, *Professor (Tomsk)*
I.A. Khlusov, *Professor (Tomsk)*
Ye.L. Choinzonov, *Academician of RAS (Tomsk)*
A.G. Chuchalin, *Academician of RAS (Moscow)*
A.V. Shabrov, *Academician of RAS (St.-Petersburg)*
V.A. Shkurupiy, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
M.S. Yusubov, *Professor (Tomsk)*
A. Antsaklis, *Professor (Greece)*
F. Chervenak, *Professor (USA)*
C. Dadak, *Professor (Austria)*
Y. Dekhtyar, *Professor (Latvia)*
M. Epple, *Professor (Germany)*
D. Gailani, *Professor (USA)*
P. Odermatt, *(Switzerland)*
J. Odland, *(Norway)*
M. Poyurovsky, *Professor (Israel)*
V. Zhdankin, *Professor (USA)*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	ORIGINAL ARTICLES
Андреевская И.А., Ишутина Н.Н., Довжикова И.В., Приходько Н.Г., Кутепова О.Л. Особенности вазоактивной регуляции в ворсинчатом хорионе у женщин с самопроизвольным абортom и активной цитоме- галовирусной инфекцией	Andrievskaya I.A., Ishutina N.N., Dovzhikova I.V., Prikhodko N.G., Kutepova O.L. Features of vasoactive substance regulation in chorionic villi in women with spontaneous abortion and active cytomegalovirus infection
Барило А.А., Смирнова С.В. Аллергия и себорейный дерматит – причинно-следственная взаимосвязь	Barilo A.A., Smirnova S.V. Causal relationship between allergy and seborrheic dermatitis
Гладкова Е.В. Патогенетические особенности экспериментального остеоар- троза, индуцированного дексаметазоном и тальком	Gladkova E.V. Pathogenetic features of experimental osteoarthritis induced by dexamethasone and talc
Григорьев П.Е., Гальченко А.С., Поскотинова Л.В. Связь показателей когнитивного стиля «импульсивность/ рефлексивность» со степенью склонности к интернет-зависи- мому поведению у старшеклассников	Grigoriev P.E., Galchenko A.S., Poskotinova L.V. Relationship of parameters of the impulsivity – reflexivity cognitive style with propensity to Internet addiction in high school students
Даренская М.А., Чугунова Е.В., Колесников С.И., Гребенкина Л.А., Семенова Н.В., Никитина О.А., Колесникова Л.И. Маркеры почечного повреждения, липидного обмена и кар- бонильного стресса у пациентов с сахарным диабетом I типа и разным уровнем альбуминурии	Darenskaya M.A., Chugunova E.V., Kolesnikov S.I., Grebinkina L.A., Semyonova N.V., Nikitina O.A., Kolesnikova L.I. Markers of kidney injury, lipid metabolism, and carbonyl stress in patients with type 1 diabetes and different levels of albuminuria
Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ларина В.Н., Рыжих А.А. Постковидный синдром ассоциирован с повышением внекле- точных пуриновых оснований и нейтрофильных экстракле- точных ловушек в плазме крови	Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Larina V.N., Ryzhikh A.A. Post-COVID syndrome is associated with increased extracellular purine bases and neutrophil extracellular traps in the blood plasma
Калюжнин О.В., Понезева Л.О., Турапова А.Н., Нуртазина А.Ю., Быков А.С., Караулов А.В. Интерфероны альфа и гамма, пидотимод и тилорон в лече- нии острых респираторных инфекций у пациентов с аллерги- ческим ринитом: проспективное когортное клинико-иммуно- логическое исследование	Kalyuzhin O.V., Ponezheva L.O., Turapova A.N., Nurtazina A.Yu., Bykov A.S., Karaulov A.V. Interferons alpha and gamma, pidotimod, and tilorone in the treatment of acute respiratory infections in patients with allergic rhinitis: a prospective, cohort clinical and immunological study
Кит О.И., Минкин В.И., Лукбанова Е.А., Саяпин Ю.А., Гусаков Е.А., Ситковская А.О., Филиппова С.Ю., Комарова Е.Ф., Волкова А.В., Ходакова Д.В., Миндарь М.В., Лазутин Ю.Н., Енгибарян М.А., Колесников В.Е. Оценка цитотоксической активности и токсичности произ- водного трополонов с потенциальным противоопухолевым действием	Kit O.I., Minkin V.I., Lukbanova E.A., Sayapin Yu.A., Gusakov E.A., Sitkovskaya A.O., Filippova S.Yu., Komarova E.F., Volkova A.V., Khodakova D.V., Mindar M.V., Lazutin Yu.N., Engibaryan M.A., Kolesnikov V.E. Evaluation of the cytotoxic activity and toxicity of a tropolone derivative with a potential antitumor effect

Кобринский Б.А., Благодосклон Н.А., Демикова Н.С.,
Николаева Е.А., Коталевская Ю.Ю., Меликян Л.П.,
Зиновьева Ю.М.

Компьютерная система для дифференциальной диагностики
лизосомных болезней накопления на основе методов искус-
ственного интеллекта

Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., Муслимова Э.Ф.,
Арчаков Е.А., Баталов Р.Е.

Сопряженность экспрессии кальций-транспортирующих бел-
ков саркоплазматического ретикулума с их полиморфными
вариантами генов и структурно-функциональным состояни-
ем сердца пациентов с фибрилляцией предсердий

Кунцевич А.К., Щетинина А.О., Мустафина С.В.,
Веревкин Е.Г., Симонова Г.И., Шчербакова Л.В., Рымар О.Д.

Оценка связи питания с риском фатальных исходов от сер-
дечно-сосудистых заболеваний у лиц с сахарным диабетом
2-го типа

Лобанова О.А., Гайковская Л.Б., Дадали В.А., Ермаков А.И.,
Кухарчик Г.А.

Оценка функционального состояния митохондрий моно-
нуклеарных лейкоцитов методом проточной цитометрии у
пациентов с хронической сердечной недостаточностью под
влиянием убидекаренона

Мелконян К.И., Веревкин А.А., Сотниченко А.С., Русинова Т.В.,
Козмай Я.А., Асякина А.С., Карташевская М.И., Гуревич К.Г.,
Быков И.М.

Морфологический анализ местной тканевой реакции на под-
кожную имплантацию фрагментов ацеллюлярного дермаль-
ного матрикса

Осипова Н.Н., Бардеништейн Л.М., Лямец Л.Л., Дмитриева Е.В.
Применение скрининговых методик для ранней диагностики
риска биполярного аффективного расстройства у подростков

Сафарова К.Н., Федотов Э.А., Ребров А.П.

Сывороточная концентрация интерлейкина-6 и фактора
некроза опухоли α у пациентов со спондилоартритами: связь
между системным воспалением и анемией

Трубачева О.А., Кологривова И.В., Сулова Т.Е., Сваровская
А.В., Гарганеева А.А.

Агрегация тромбоцитов в условиях «вихревого» потока *in vitro*
у пациентов с хронической сердечной недостаточ-
ностью

Kobriniskii B.A., Blagosklonov N.A., Demikova N.S.,
Nikolaeva E.A., Kotalevskaya Y.Y., Melikyan L.P.,
Zinovieva Y.M.

An artificial intelligence computer system for differential
diagnosis of lysosomal storage diseases

Kondratieva D.S., Afanasiev S.A., Muslimova E.F.,
Archakov E.A., Batalov R.E.

Relationship of the expression of calcium-handling
proteins in the sarcoplasmic reticulum with polymorphic
variants of their genes and with structural and functional
parameters of the heart in patients with atrial fibrillation

Kuntsevich A.K., Shchetinina A.O., Mustafina S.V.,
Verevkin E.G., Simonova G.I., Shcherbakova L.V.,
Rymar O.D.

Evaluation of the relationship between nutrition and the
risk of fatal outcomes from cardiovascular diseases in
people with type 2 diabetes

Lobanova O.A., Gaikovaya L.B., Dadali V.A., Ermakov A.I.,
Kukharchik G.A.

Evaluation of the functional state of mitochondria
isolated from mononuclear leukocytes by flow
cytometry in patients with chronic heart failure receiving
ubidecarenone

Melkonyan K.I., Verevkin A.A., Sotnichenko A.S.,
Rusinova T.V., Kozmay Ya.A., Asyakina A.S.,
Kartashevskaya M.I., Gurevich K.G., Bykov I.M.

Morphological analysis of a local tissue response to
subcutaneously implanted acellular dermal matrix
fragments

Osipova N.N., Bardenshteyn L.M., Lyamets L.L.,
Dmitrieva E.V.

Application of screening techniques for early diagnostics
of bipolar afapplication of screening techniques for early
diagnosis of a risk of bipolar disorder in adolescents

Safarova K.N., Fedotov E.A., Rebrov A.P.

Serum concentrations of interleukin-6 and tumor
necrosis factor alpha in patients with spondyloarthritis: a
relationship between systemic inflammation and anemia

Trubacheva O.A., Kologrivova I.V., Suslova T.E.,
Swarovskaya A.V., Garganeeva A. A.

Platelet aggregation under the conditions of vortex flow
in vitro in patients with chronic heart failure

Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В.,
Шейко Е.А., Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Трепитаки Л.К.,
Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д., Немашкалова Л.А.,
Котиева И.М., Шапошников А.В., Морозова М.И.

Инсулиноподобные факторы роста и их белки-переносчики в
печени крыс при экспериментальном диабете, злокаче-
ственном росте аденокарциномы тела матки и их сочетании

129

Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V.,
Sheiko E.A., Surikova E.I., Neskubina I.V., Trepitaki L.K.,
Pogorelova Yu.A., Cheryarina N.D., Nemashkalova L.A.,
Kotieva I.M., Shaposhnikov A.V., Morozova M.I.

Insulin-like growth factors and their transporter
proteins in the liver of rats with experimental diabetes,
adenocarcinoma of the uterine corpus, and their
combination

Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Кузьмина О.Ю.
Скрининг режимов локального применения гиалуроновой
кислоты для повышения эффективности лечения компресси-
онной травмы мягких тканей

137

Shperling I.A., Shulepov A.V., Shperling N.V., Kuzmina O.Yu.
Screening of local hyaluronic acid injection modes to
increase the efficiency of treating crush injury of soft
tissues

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

REVIEWS AND LECTURES

Зайцева А.А., Букреева Е.Б., Агеева Т.С., Зоркальцев М.А.,
Саприна Т.В., Удодов В.Д., Ардаширов М.М.

Особенности клиники и течения внебольничной пневмонии
на фоне сахарного диабета 2-го типа

145

Zaytseva A.A., Bukreeva E.B., Ageeva T.S., Zorkaltsev M.A.,
Saprina T.V., Udodov V.D., Ardashirov M.M.

Features of the clinical presentation and course of
community-acquired pneumonia against the background
of type 2 diabetes mellitus

Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В.,
Терентьева Н.Н., Лившиц И.К., Останко В.Л., Гракова Е.В.,
Копьева К.В., Усов В.Ю., Гарганеева Н.П., Горелова Ю.В.

Резистентность к диуретикам у пациентов с хронической
сердечной недостаточностью: механизмы, профилактика и
преодоление

152

Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Bepalova I.D.,
Kalyuzhina E.V., Terentyeva N.N., Livshits I.K.,
Ostanko V.L., Grakova E.V., Kopeva K.V., Usov V.Yu.,
Garganeeva N.P., Gorelova Yu.V.

Diuretic resistance in patients with chronic heart failure:
mechanisms, prevention, and treatment

Климов В.В., Кошкарова Н.С., Свиридова В.С., Климов А.В.
Аллерген-специфическая иммунотерапия при аллергическом
рините

168

Klimov V.V., Koshkarova N.S., Sviridova V.S., Klimov A.V.
Allergen-specific immunotherapy in allergic rhinitis

Корнетов А.Н.

Эволюция парадигм в изучении депрессии: от унитарной
концепции к биопсихосоциальной модели и междисципли-
нарным подходам

175

Kornetov A.N.

Evolution of paradigms in the study of depression:
from a unitary concept to a biopsychosocial model and
interdisciplinary approaches

Стахнёва Е.М., Кашианова Е.В., Полонская Я.В., Шрамко В.С.,
Рагино Ю.И.

Механизмы сосудистого старения

186

Stakhneva E.M., Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V.,
Shramko V.S., Ragino Yu.I.

Mechanisms of vascular aging

Харламова О.С., Николаев К.Ю., Рагино Ю.И.

Роль белков сурфактанта SP-A и SP-D при вирусной инфек-
ции, фокус на COVID-19

195

Kharlamova O.S., Nikolaev K.Yu., Ragino Yu.I.

The role of surfactant proteins SP-A and SP-D in viral
infection: a focus on COVID-19

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

CLINICAL CASES

Сюткина И.П., Хабаров Д.В., Булычев П.В., Демур А.Ю.,
Инейшина А.Д.

Успешное лечение тяжелого течения коронавирусной ин-
фекции у поликоморбидного пациента с ожирением после
бариатрической операции

207

Siutkina I.P., Khabarov D.V., Bulychev P.V., Demura A.Yu.,
Inyoshina A.D.

Successful treatment of a severe course of coronavirus
infection in the obese polymorbid patient after bariatric
surgery

УДК 618.444:618.36-06:618.39:578.825.12
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-6-12>

Особенности вазоактивной регуляции в ворсинчатом хорионе у женщин с самопроизвольным абортom и активной цитомегаловирусной инфекцией

Андреевская И.А., Ишутина Н.Н., Довжикова И.В., Приходько Н.Г., Кутепова О.Л.

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД)
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

Цель. Оценить содержание растворимого рецептора *fms*-подобной тирозинкиназы (sFlt1), плацентарного фактора роста (PlGF) и васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF-A) в тканевых экстрактах в сопоставлении с гистологией слизистой оболочки матки и ворсинчатого хориона у женщин с самопроизвольным абортom и активной цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекцией.

Материалы и методы. Обследована 81 женщина в период с 7-й по 9-ю нед беременности: 51 ЦМВ-серопозитивная с самопроизвольным абортom и активной инфекцией и 30 серонегативных здоровых женщин с медицинским абортom. В плазме крови определяли иммуноглобулины (Ig) класса М и G к ЦМВ, авидность ЦМВ-IgG; в экстрактах ворсинчатого хориона – sFlt1, PlGF, VEGF-A методом иммуноферментного анализа. В мононуклеарных клетках крови, пробах мочи, ворсинчатом хорионе методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени выявляли ДНК ЦМВ. Проводили гистологическое исследование слизистой оболочки матки и ворсинчатого хориона.

Результаты. В экстрактах ворсинчатого хориона у женщин с самопроизвольным абортom и активной ЦМВ-инфекцией концентрация sFlt-1 была выше в 3,25 раза ($p < 0,001$), PlGF и VEGF-A – ниже в 1,31 ($p < 0,001$) и 2,16 раза ($p < 0,001$), чем у здоровых женщин. Установлена сильная обратная корреляционная связь между уровнями sFlt-1 и PlGF ($r = -0,702$; $p < 0,001$) и VEGF-A ($r = -0,858$; $p < 0,0005$), прямая связь – PlGF и VEGF-A ($r = 0,860$; $p < 0,001$). По данным гистологического исследования, отмечено отставание в децидуализации и трансформации маточных сосудов, инвазии трофобласта, роста и дифференцировки ворсин, формирования фетальных сосудов.

Заключение. К механизмам самопроизвольного аборта у женщин с активной ЦМВ-инфекцией можно отнести дисбаланс анти- и проангиогенной регуляции, вызывающий ограничение развития плаценты и маточно-плацентарного кровообращения.

Ключевые слова: беременность, самопроизвольный аборт, цитомегаловирусная инфекция, ворсинчатый хорион, антиангиогенные факторы, вазоактивные факторы

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ДНЦ ФПД (протокол № 15 от 25.02.2017).

Для цитирования: Андреевская И.А., Ишутина Н.Н., Довжикова И.В., Приходько Н.Г., Кутепова О.Л. Особенности вазоактивной регуляции в ворсинчатом хорионе у женщин с самопроизвольным абортom и

Features of vasoactive substance regulation in chorionic villi in women with spontaneous abortion and active cytomegalovirus infection

Andrievskaya I.A., Ishutina N.N., Dovzhikova I.V., Prikhodko N.G., Kutepova O.L.

*Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration
22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the levels of soluble *fms*-like tyrosine kinase 1 (sFlt1), placental growth factor (PlGF), and vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) in tissue extracts in comparison with the histologic examination of the endometrium and chorionic villi in women with spontaneous abortion and active cytomegalovirus (CMV) infection.

Materials and methods. 81 women at 7–9 weeks of pregnancy were examined: of them, 51 women were CMV-seropositive with active infection and after spontaneous abortion, and 30 patients were CMV-seronegative, healthy women after therapeutic abortion. Immunoglobulins (Ig) M and G to CMV and CMV IgG avidity were measured in the blood plasma; sFlt1, PlGF, and VEGF-A were determined in extracts of chorionic villi by enzyme immunoassay. CMV DNA was detected in mononuclear cells of peripheral blood, urine, and chorionic villi by real-time polymerase chain reaction (PCR). A histologic examination of the endometrium and chorionic villi was carried out.

Results. In chorionic villus extracts of women with spontaneous abortion and active CMV infection, the concentration of sFlt1 was 3.25 times higher ($p < 0.001$), and the levels of PlGF and VEGF-A were 1.31 ($p < 0.001$) and 2.16 times lower ($p < 0.001$) than in healthy women. A strong negative correlation was established between the levels of sFlt1 and PlGF ($r = -0.702$; $p < 0.001$) and VEGF-A ($r = -0.858$; $p < 0.0005$), and a positive correlation was revealed between PlGF and VEGF-A levels ($r = 0.860$; $p < 0.001$). According to the data of the histologic examination, a lag in decidual transformation of uterine vessels, trophoblast invasion, growth and differentiation of villi, and formation of fetal circulation was detected.

Conclusion. The mechanisms of spontaneous abortion in women with active CMV infection include an imbalance of pro- and anti-angiogenic factors, which causes impaired placental development and uteroplacental circulation.

Keywords: pregnancy, spontaneous abortion, cytomegalovirus infection, chorionic villi, anti-angiogenic factors, vasoactive substances

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration (Protocol No. 15 of 25.02.2017).

For citation: Andrievskaya I.A., Ishutina N.N., Dovzhikova I.V., Prikhodko N.G., Kutepova O.L. Features of vasoactive substance regulation in chorionic villi in women with spontaneous abortion and active cytomegalovirus infection. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):6–12. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-6-12>.

ВВЕДЕНИЕ

Ряд неблагоприятных исходов беременности, вызванных нарушением формирования плаценты и связанных с ним процессов инвазии и маточно-плацен-

тарного ангиогенеза [1–3], происходит независимо от того, инфицирован эмбрион и плацента цитомегаловирусом (ЦМВ) или нет [4]. В механизме нарушения морфогенеза плаценты в условиях реактивации инфекции лежит системный воспалительный ответ,

вызывающий изменение профилей цитокинов в плаценте [5], индуцирующих локальное воспаление [6], апоптоз в неинфицированных клетках трофобласта [7] и гладкомышечных клетках сосудов, окружающих спиральные артерии децидуальной оболочки [8], что приводит к гипоксии.

Плацентарный фактор роста (PlGF) является членом семейства факторов роста эндотелия сосудов (VEGF), участвующих в неоангиогенезе. Его секреция определяется парциальным напряжением кислорода и изменяется в течение беременности. PlGF связывает рецептор VEGF (Flt1), рецепторную тирозинкиназу, что приводит к проангиогенной стимуляции образования сосудистых факторов, регулирующих пролиферацию и дифференцировку мезенхимальных клеток стромы ворсин в эндотелиальные [9]. Его растворимый сплайсинговый вариант sFlt1 связывает свободный PlGF и, следовательно, противодействует его эффектам [10]. Сывороточные уровни sFlt1 и PlGF, особенно их соотношение, обычно используются для прогнозирования риска развития преэклампсии у женщин [11], в том числе ЦМВ-этиологии [12]. Вместе с тем исследований содержания sFlt1, PlGF и VEGF-A в ворсинчатом хорионе у женщин с самопроизвольным абортom и активной ЦМВ-инфекцией не проводилось. Также отсутствует гистологическое описание ворсинчатого хориона и сосудов ворсин ранней плаценты при данной патологии у женщин.

Цель – оценить содержание sFlt1, PlGF и VEGF-A в тканевых экстрактах в сопоставлении с гистологией слизистой оболочки матки и ворсинчатого хориона у женщин с самопроизвольным абортom и активной ЦМВ-инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в соответствии с принципами, изложенными в Хельсинкской декларации, и одобрено локальным этическим комитетом Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (г. Благовещенск) (протокол № 15 от 25.02.2017). Все включенные в исследование женщины подписали информированное согласие на сбор образцов и последующий анализ.

Формирование групп женщин для исследования проводилось в гинекологическом отделении Благовещенской городской клинической больницы с 2017 по 2019 г. Обследована 81 женщина в период с 7-й по 9-ю нед беременности: 51 ЦМВ-серопозитивная с самопроизвольным абортom и активной инфекцией (основная группа) и 30 серонегативных здоровых женщин с преднамеренным прерыванием беременности (группа контроля). Активная инфекция опре-

делялась как наличие обнаруживаемых типоспецифических антител к ЦМВ (иммуноглобулинов, Ig) класса М, индекса avidности антител IgG более 50% и ДНК ЦМВ в крови или моче. Критерии исключения из исследования: наличие любого иммунодефицита, эндокринных нарушений, первичной ЦМВ-инфекции. Все женщины были сопоставимы по возрасту (основная группа – $26,7 \pm 3,17$; группа контроля – $27,3 \pm 3,29$; $p > 0,05$), индексу массы тела (основная группа – $23,01 \pm 1,09$; группа контроля – $22,93 \pm 1,28$; $p > 0,05$) и социальному статусу.

Образцы крови у женщин были взяты в момент госпитализации в гинекологическое отделение больницы методом венопункции в пробирки, содержащие цитрат натрия. Плазму крови получали центрифугированием в течение 20 мин при 3 000 об/мин. Выделение мононуклеарных клеток периферической крови (PBMCs) проводили методом центрифугирования в градиенте плотности с использованием фиколл-урографина ($\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$) в соответствии с инструкциями производителя (ДНК-технология, Россия). Получение проб мочи проводили центрифугированием в течение 10 мин при 13 000 об/мин с последующим ресуспендированием осадка в стерильной среде. Биологические образцы (слизистая оболочка матки, ворсинчатый хорион) забирали в течение 10–15 мин после медицинского аборта и перед использованием промывали в стерильном физиологическом растворе. Для выделения ДНК предварительно взвешенные кусочки ворсинчатого хориона помещали в жидкий азот, растирали их в порошок в ступке в жидком азоте, добавляли равный объем стерильного физиологического раствора, тщательно перемешивали и отбирали необходимый объем материала для дальнейшего анализа. Экстракт ткани получали центрифугированием гомогената описанным выше способом в течение 15 мин при 13 000 об/мин и температуре $+4^\circ\text{C}$. Все образцы биологического материала (плазма, PBMCs крови, моча, экстракты ворсинчатого хориона) замораживались и хранились при -70°C до проведения анализов.

Выявление IgM и IgG к ЦМВ проводили в парных образцах плазмы крови с помощью наборов реагентов ВектоЦМВ-IgM и ВектоЦМВ-IgG ELISA (Россия) на приборе Stat Fax 2100 (США). Для оценки специфических антител проводили расчет коэффициента позитивности. Результат анализа считали положительным при коэффициенте позитивности $\geq 1,1$. Анализ на avidность ЦМВ-IgG проводили в крови с использованием стандартных наборов ВектоЦМВ-IgG-avidность ELISA (Россия). Индекс avidности более 50% указывал на наличие высокоавидных IgG антител и хронической инфекции.

Количественное определение VEGF-A и VEGFR1/sFlt-1 (Bender MedSystems, США), PlGF (Quantikine ELISA Kit, США) проводилось в экстрактах ворсин хориона с помощью иммуноферментного анализа. Все ELISA исследования выполнены в строгом соответствии с инструкциями производителя к коммерческим наборам реагентов.

Экстракцию ДНК в биологическом материале (PBMCs крови, пробы мочи, экстракты ворсинчатого хориона) проводили с использованием комплекта реагентов «Проба-Рapid» (ДНК-технология, Россия) в соответствии с инструкциями производителя. Выявление ДНК ЦМВ проводили с использованием набора реагентов ЦМВ-ГЕН (ДНК-технология, Россия), предназначенного для ПЦР-амплификации ДНК с детекцией в режиме реального времени. Детекцию продуктов ПЦР-амплификации в количественном варианте осуществляли при помощи прибора ДТ-96 (ДНК-технология, Россия) согласно рекомендации производителя тест-систем.

Для гистологических исследований кусочки ворсинчатого хориона фиксировали в 2,5%-м глютаральдегиде на 0,1 М фосфатном буфере с последующей дофиксацией в 1%-м растворе четырехоксида осмия. Полутонкие срезы получали на ультрамикротоме LKB NOWA 8800 (Швеция), окрашивали толуидиновым синим, просматривали и документировали на цифровом фотоаппарате MEIJI (Австрия).

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23.0 (США). Все результаты проверены на соответствие закону о нормальном распределении (тест Шапиро – Уилка). Количественные данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение. Ввиду отсутствия нормального распределения в группах для описания статистических различий использовался непараметрический критерий Манна – Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез был принят за 5% ($p < 0,05$). Для выявления взаимосвязи между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент ранговой корреляции (r) Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех женщин основной группы, поступивших на госпитализацию в гинекологическое отделение Благовещенской городской клинической больницы с клиническими признаками самопроизвольного прерывания беременности (боли внизу живота, кровянистые выделения) в период с 7-й по 9-ю нед беременности, была диагностирована хрониче-

ская ЦМВ-инфекция в активной стадии. Уровень анти-ЦМВ IgM антител, оцениваемый по коэффициенту позитивности, составил $3,71 \pm 0,46$, IgG антител – $18,83 \pm 2,25$, индекс avidности антител IgG – $86,83 \pm 2,20\%$. Моча была положительна на ДНК ЦМВ у 24 женщин (47,06%). Все образцы ворсинчатого хориона от ЦМВ-серопозитивных женщин с активной инфекцией, полученные при инструментальной ревизии полости матки, были отрицательными для ДНК ЦМВ.

Результаты иммуноферментных исследований экстрактов ворсинчатых хорионов от женщин с самопроизвольным абортom и активной ЦМВ-инфекцией (основная группа) и здоровых серонегативных женщин (группа контроля) представлены в таблице. Показано, что содержание в экстрактах ворсинчатого хориона антиангиогенного фактора sFlt-1 в основной группе было в 3,3 раза выше, чем в группе контроля. Концентрация вазоактивных факторов PlGF и VEGF-A была значимо ниже в 1,3 и 2,2 раза по сравнению с аналогичными показателями группы контроля.

Т а б л и ц а

Содержание sFlt-1, PlGF и VEGF-A в экстрактах ворсинчатого хориона исследуемых групп, $M \pm SD$		
Показатель	Группа	
	основная	контроль
Количество исследований	51	30
sFlt-1, пг/мл	$12,39 \pm 0,30^*$	$3,74 \pm 1,25$
PlGF, пг/мл	$55,26 \pm 0,41^*$	$73,01 \pm 1,29$
VEGF-A, пг/мл	$17,22 \pm 0,50^*$	$37,65 \pm 1,52$

Примечание. sFlt-1 – растворимый рецептор *fms*-подобной тирозинкиназы 1; PlGF – плацентарный фактор роста; VEGF-A – васкулоэндотелиальный фактор роста А.

* Уровень статистической значимости различий показателей по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$).

Анализ корреляционных связей между исследуемыми параметрами в основной группе продемонстрировал наличие тесной обратной взаимосвязи между показателями sFlt-1 и PlGF ($r = -0,702$; $p < 0,001$) и VEGF-A ($r = -0,858$; $p < 0,001$), прямой связи показателей PlGF и VEGF-A ($r = 0,860$; $p < 0,001$). В группе контроля установлена прямая сильная связь между показателями PlGF и VEGF-A ($r = 0,958$; $p < 0,001$).

На следующем этапе исследования был проведен анализ гистологических микропрепаратов слизистой оболочки матки и ворсинчатого хориона от женщин с самопроизвольным абортom и активной ЦМВ-инфекцией. На микропрепаратах слизистой оболочки матки выявлен очаговый отек стромы с зонами воспалительной инфильтрации (рис., а). Замедлялась децидуализация стромы. Интерстициальная цитотрофоб-

ластическая инвазия обнаруживалась в 53% случаев только в поверхностных отделах функционального слоя (рис., *в*). Инвазивный цитотрофобласт, расположенный субэндотелиально, выявлялся в 44,5% случаев. Спиральные артерии эндометриальных сегментов в большинстве случаев были сужены, эндотелиальные клетки дистрофически изменены, что указывало на недостаточность ангиогенной стимуляции ремоделирования спиральных артерий матки.

На микропрепаратах ворсинчатого хориона выявлено преимущественное преобладание ворсин мезенхимального типа без признаков дифференцировки в эндотелиальные клетки. Встречались аваскулярные

некротизированные ворсины (рис., *с*). В гиповаскулярных промежуточных ворсинах определялись признаки апоптоза эндотелиальных клеток и фибробластов (рис., *д*). Фетальные капилляры были вытянуты и сдавлены в результате отека стромы ворсин. Покровный эпителий таких ворсин имел неравномерную толщину. Часто встречались участки с утолщениями и хаотично расположенными деформированными ядрами, с задержкой формирования цитотрофобласта. Эти данные свидетельствуют о нарушении формирования ворсин хориона, инвазии/миграции трофобласта, определяющем дальнейшее развитие беременности в условиях активной ЦМВ-инфекции.

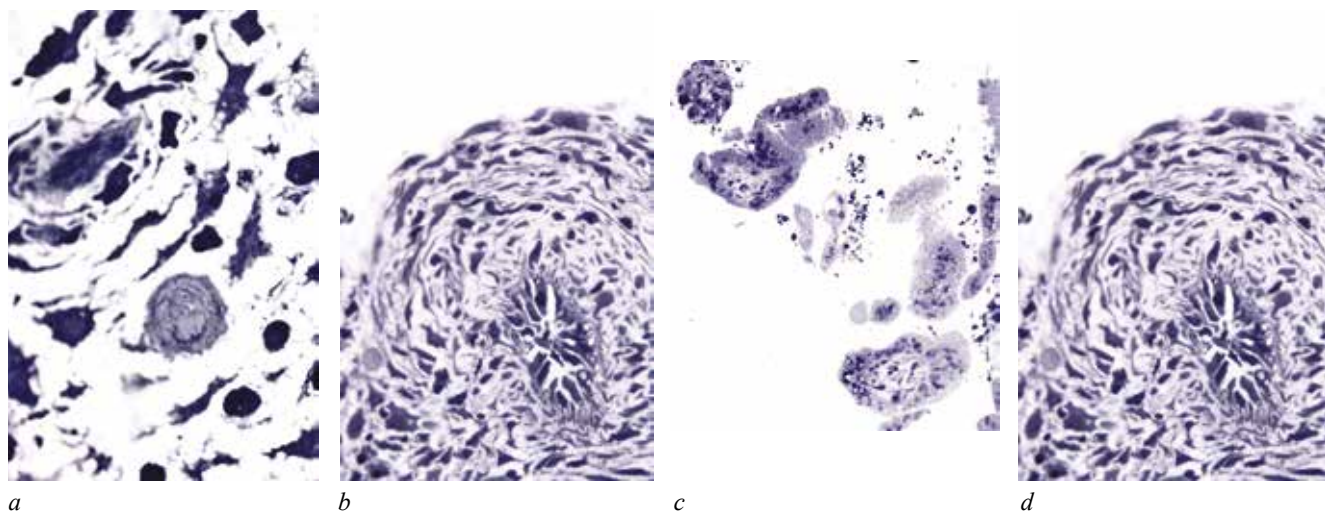


Рисунок. Слизистая оболочка матки (*a, b*) и ворсинчатый хорион (*c, d*) у женщин с самопроизвольным абортom и активной ЦМВ-инфекцией. Полутоновые срезы. Окраска толуидиновым синим: *a, b, d* – $\times 400$, *c* – $\times 200$

ОБСУЖДЕНИЕ

Нарушение механизмов вазоактивной регуляции процессов формирования ворсин и маточно-плацентарных кровеносных сосудов, наблюдаемое в условиях активной ЦМВ-инфекции у женщин, приводит к недостаточности снабжения кислородом, нарушению трофики и выведения через материнский кровоток продуктов фетоплацентарного метаболизма [13]. Возможно, хронический недостаток кислорода, высокий уровень прооксидантов и провоспалительных факторов, что было показано в более ранних наших работах [14, 15] и в исследованиях других авторов [16], способствует изменению плацентарной перфузии, вызывающей инактивацию Ca^{2+} -зависимого специфического ионотропного канала SK3 (регулятор тонуса сосудов) и отсоединению растворимой сплайс-формы от трансмембранного домена Flt-1 [17]. В результате поступающие и свободно циркулирующие в материнском кровотоке в условиях активной ЦМВ-инфекции высокие количества

трофобластического sFlt-1 лимитируют экспрессию и биодоступность вазоактивных факторов PlGF и VEGF-A трофобластом и эндотелием сосудов [18], что приводит к задержке роста и дифференцировке ворсин, инвазии/миграции трофобласта и ограничению маточно-плацентарного ангиогенеза.

Следует также отметить, что высокие количества sFlt-1, подобно активным формам кислорода и провоспалительным цитокинам, ингибируют сигнальный путь NO-растворимой гуанилатциклазы (sGC)/циклического гуанозинмонофосфата (cGMP), вызывая тем самым вазоконстрикцию маточных сосудов и приток крови к эмбриону [19], что подтверждалось гистологическими исследованиями. Деградация и снижение сигнальной активности cGMP также могут свидетельствовать о подавлении пролиферации и дифференцировки [19], что проявлялось в снижении интерстициальной инвазии трофобласта у женщин с активной ЦМВ-инфекцией.

Следовательно, установленный дисбаланс вазоактивных факторов в ворсинчатом хорионе, в пользу

которого свидетельствует сильная обратная корреляция между показателями sFlt-1 и PlGF, VEGF-A, может являться причиной самопроизвольного прерывания беременности в условиях отсутствия ЦМВ-инфицирования тканей плаценты. В ряде других исследований показана связь высоких количеств sFlt-1 с развитием эндотелиальной дисфункции, вызывающей тяжелые осложнения беременности – преэклампсию и задержку роста плода [20, 21], а также с бесплодием и привычным невынашиванием [22].

На основании полученных результатов исследования можно заключить, что патология развития и функционирования плаценты, определяющая регрессию сосудистой сети, и недостаточность кровоснабжения вследствие дисбаланса вазоактивной регуляции являются основными причинами и механизмами нарушения развития эмбриона и его гибели в условиях активной ЦМВ-инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами показано повышенное содержание sFlt-1 и низкие концентрации PlGF и VEGF-A в экстрактах ворсинчатого хориона от женщин с самопроизвольным абортom и активной ЦМВ-инфекцией. Наличие сильной обратной корреляции между анти- и вазоактивными факторами указывает на напряженность в системе регуляции развития плаценты и маточно-плацентарных сосудов, что подтверждалось гистологическими исследованиями. Возникшие ангиогенные сдвиги в условиях активной ЦМВ-инфекции уменьшают прирост маточно-плацентарного кровотока, что ограничивает рост и развитие эмбриона, способствуя его гибели.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Соколов Д.И. Васкулогенез и ангиогенез в плаценте. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2007;56(3):129–133.
- Burton G.J., Woods A.W., Jauniaux E., Kingdom J.C. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta*. 2009;30(6):473–482. DOI: 10.1016/j.placenta.2009.02.009.
- Tao L., Suhua C., Juanjuan C., Zongzhi Y., Juan X., Dandan Z. *In vitro* study on human cytomegalovirus affecting early pregnancy villous EVT's invasion function. *Virol. J.* 2011;8:114. DOI: 10.1186/1743-422X-8-114.
- Maidji E., Nigro G., Tabata T., McDonagh S., Nozawa N., Shiboski S. et al. Antibody treatment promotes compensation for human cytomegalovirus-induced pathogenesis and a hypoxia-like condition in placentas with congenital infection. *Am. J. Pathol.* 2010;177(3):1298–1310. DOI: 10.2353/ajpath.2010.091210.
- Hamilton S.T., Scott G., Naing Z., Iwasenko J., Hall B., Graf N. et al. Human cytomegalovirus induces cytokine changes in the placenta with implications for adverse pregnancy outcomes. *PLoS One*. 2012;7(12):e52899. DOI: 10.1371/journal.pone.0052899.
- Chow S.S., Craig M.E., Jacques C.F., Hall B., Catteau J., Munro S.C. et al. Correlates of placental infection with cytomegalovirus, parvovirus B19 or human herpes virus 7. *J. Med. Virol.* 2006;78(6):747–756. DOI: 10.1002/jmv.20618.
- Chou D., Ma Y., Zhang J., McGrath C., Parry S. Cytomegalovirus infection of trophoblast cells elicits an inflammatory response: a possible mechanism of placental dysfunction. *Am. J. Obstet Gynecol.* 2006;194(2):535–541. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.07.073.
- Boyle J.J., Weissberg P.L., Bennett M.R. Tumor necrosis factor- α promotes macrophage-induced vascular smooth muscle cell apoptosis by direct and autocrine mechanisms. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 2003;23(9):1553–1558. DOI: 10.1161/01.ATV.0000086961.44581.B7.
- Armaly Z., Jadaon J.E., Jabbour A., Abassi Z.A. Preeclampsia: novel mechanisms and potential therapeutic approaches. *Front. Physiol.* 2018;9:973. DOI: 10.3389/fphys.2018.00973.
- Maidji E., Nigro G., Tabata T., McDonagh S., Nozawa N., Shiboski S. et al. Antibody treatment promotes compensation for human cytomegalovirus-induced pathogenesis and a hypoxia-like condition in placentas with congenital infection. *Am. J. Pathol.* 2010;177(3):1298–1310. DOI: 10.2353/ajpath.2010.091210.
- Волкова Е.В., Джогадзе Л.Я., Лысюк Е.Ю. Изменение уровня ангиогенных факторов у беременных с хронической артериальной гипертензией. *Современные технологии в медицине*. 2013;5(1):91–96.
- Penka L., Kagan K.O., Hamprecht K. Enhanced serum levels of sFlt1: impact on materno-fetal CMV transmission. *J. Clin. Med.* 2020;9(5):1258. DOI: 10.3390/jcm9051258.
- Pereira L., Maidji E., McDonagh S., Genbacev O., Fisher S. Human cytomegalovirus transmission from the uterus to the placenta correlates with the presence of pathogenic bacteria and maternal immunity. *J. Virol.* 2003;77(24):13301–13314. DOI: 10.1128/jvi.77.24.13301-13314.2003.
- Andrievskaya I.A., Dovzhikova I.V., Ishutina N.A., Gorikov I.N., Dorofienko N.N., Petrova K.K. et al. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 is a potential marker of inflammation in the trophoblast associated with cytomegalovirus infection. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019;199:A6173. DOI: 10.1164/ajrccm-conference.2019.199.1.
- Ишутина Н.А., Андриевская И.А., Довжикова И.В., Дорофиев Н.Н., Гориков И.Н. Взаимосвязь окислительного стресса, дисбаланса жирных кислот в реализации апоптоза в плаценте при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)*. 2019;4(2):16–22. DOI: 10.29413/ABS.2019-4.2.2.
- Thompson L.P., Al-Hasan Y. Impact of oxidative stress in fetal programming. *J. Pregnancy*. 2012;2012:582748. DOI: 10.1155/2012/582748.
- Rada C.C., Murray G., England S.K. The SK3 channel promotes placental vascularization by enhancing secretion of angiogenic factors. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2014;307(10):E935–E943. DOI: 10.1152/ajpendo.00319.2014.
- Maynard S.E., Venkatesha S., Thadhani R., Karumanchi S.A. Soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction

- in the pathogenesis of preeclampsia. *Pediatr. Res.* 2005;57:1R–7R. DOI: 10.1203/01.PDR.0000159567.85157.B7.
19. Bakrania B.A., Spradley F.T., Drummond H.A., LaMarca B., Ryan M.J., Granger J.P. Preeclampsia: linking placental ischemia with maternal endothelial and vascular dysfunction. *Compr. Physiol.* 2020;11(1):1315–1349. DOI:10.1002/cphy.c200008.
20. Charnock-Jones D.S. Placental hypoxia, endoplasmic reticulum stress and maternal endothelial sensitisation by sFLT1 in pre-eclampsia. *J. Reprod. Immunol.* 2016;114:81–85. DOI: 10.1016/j.jri.2015.07.004.
21. Gu Y., Lewis D.F., Wang Y. Placental productions and expressions of soluble endoglin, soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1, and placental growth factor in normal and preeclamptic pregnancies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008;93(1):260–266. DOI: 10.1210/jc.2007-1550.
22. Guo X., Yi H., Li T.C., Wang Y., Wang H., Chen X. Role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in human embryo implantation: clinical implications. *Biomolecules.* 2021;11(2):253. DOI: 10.3390/biom11020253.

Вклад авторов

Андриевская И.А. – разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи, утверждение окончательного варианта рукописи. Ишутина Н.А. – анализ и интерпретация данных, статистическая обработка результатов исследования. Довжикова И.В. – подготовка текста статьи, редактирование. Приходько Н.Г., Кутепова О.Л. – сбор и обработка материала, выполнение исследований.

Информация об авторах

Андриевская Ирина Анатольевна – д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, irina-andrievskaja@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0212-0201>

Ишутина Наталия Александровна – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, ishutina-na@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1024-1532>

Довжикова Инна Викторовна – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, dovkova100@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8938-3594>

Приходько Николай Геннадьевич – аспирант, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, nikprih@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8411-0543>

Кутепова Ольга Леонидовна – канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярных и трансляционных исследований, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, helga1509_84@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8895-3943>

(✉) Андриевская Ирина Анатольевна, irina-andrievskaja@rambler.ru

Поступила в редакцию 19.04.2021;
одобрена после рецензирования 04.10.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616-056.43-02:616.513.5

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-13-18>

Аллергия и себорейный дерматит – причинно-следственная взаимосвязь

Барило А.А., Смирнова С.В.

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера (НИИ МПС) – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН)
Россия, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г

РЕЗЮМЕ

Себорейный дерматит – хроническое рецидивирующее воспалительное заболевание кожи, связанное с гиперпродукцией кожного сала и активацией грибковой микрофлоры кожи, характеризующееся наличием эритематозных зудящих пятен и бляшек с жирными чешуйками в зонах с большим скоплением сальных желез.

Цель – изучить спектр сенсибилизации больных себорейным дерматитом к пищевым, пыльцевым, бытовым и грибковым аллергенам.

Материалы и методы. Изучены особенности спектра сенсибилизации больных себорейным дерматитом ($n = 40$, возраст 15–59 лет) к пищевым, пыльцевым, грибковым и бытовым аллергенам на основании данных объективного осмотра и результатов специфического аллергологического обследования, включая кожное тестирование (prick-тест).

Результаты. Определено, что наиболее значимыми пищевыми аллергенами при себорейном дерматите являются куриное яйцо и пищевые злаки. Частота встречаемости поливалентной сенсибилизации к пищевым аллергенам обнаружена в 40% случаев. Также определена высокая частота сенсибилизации больных себорейным дерматитом к пыльцевым аллергенам, чаще всего к аллергенам пыльцы сорных и злаковых трав. Среди бытовых аллергенов наиболее высокая частота встречаемости сенсибилизации определена к домашней пыли и *Dermatophagoides pteronyssinus*, среди грибковых аллергенов – к *Candida albicans*.

Заключение. Установлено, что больные себорейным дерматитом нередко сенсибилизированы к пищевым, пыльцевым, бытовым и грибковым аллергенам, и, следовательно, аллергию можно рассматривать как фактор риска развития патологии.

Ключевые слова: себорейный дерматит, аллергены, сенсибилизация, *Candida albicans*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Malassezia*

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ МПС (протокол № 12 от 10.12.2013).

Для цитирования: Барило А.А., Смирнова С.В. Аллергия и себорейный дерматит – причинно-следственная взаимосвязь. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):13–18. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-13-18>.

Causal relationship between allergy and seborrheic dermatitis

Barilo A.A., Smirnova S.V.

*Research Institute of Medical Problems of the North – a branch of the Federal Research Center Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (KSC SB RAS)
3g, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation*

ABSTRACT

Seborrheic dermatitis is a chronic relapsing inflammatory skin disease associated with overproduction of sebum and activation of the fungal skin microbiota characterized by the presence of erythematous pruritic patches and plaques with greasy scales in areas rich in sebaceous glands.

Aim. To study the spectrum of sensitization to food, pollen, and indoor and fungal allergens in patients with seborrheic dermatitis.

Materials and methods. The study researched features of the spectrum of sensitization to food, pollen, and fungal and indoor allergens in patients with seborrheic dermatitis ($n = 40$, aged 15–59 years) based on the data of an objective examination and the results of an allergen-specific test, including skin prick testing.

Results. It was determined that the most significant food allergens in seborrheic dermatitis are chicken eggs and grains. The incidence of polyvalent sensitization to food allergens was 40.0%. Additionally, high incidence of sensitization to pollen allergens, most often to weed and poaceae pollen, was revealed in patients with seborrheic dermatitis. Among indoor allergens, the highest incidence of sensitization was determined to house dust and *Dermatophagoides pteronyssinus*. Among fungal allergens, the highest incidence of sensitization was detected to *Candida albicans*.

Conclusion. It was found that patients with seborrheic dermatitis are often sensitized to food, pollen, and indoor and fungal allergens. Therefore, allergy can be considered a risk factor for the development of pathology.

Keywords: seborrheic dermatitis, allergens, sensitization, *Candida albicans*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Malassezia*

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at the Research Institute of Medical Problems of the North (Protocol No. 12 of 10.12.2013).

For citation: Barilo A.A., Smirnova S.V. Causal relationship between allergy and seborrheic dermatitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):13–18. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-13-18>.

ВВЕДЕНИЕ

Себорейный дерматит (СД) – хроническое рецидивирующее воспалительное заболевание кожи, связанное с гиперпродукцией кожного сала и активацией грибковой микрофлоры кожи, характеризующееся наличием эритематозных зудящих пятен и бляшек с жирными чешуйками в зонах с большим скоплением сальных желез на волосистой части головы, коже лица (лоб, носогубный треугольник), верхней части туловища, интертригинозных складках [1–3]. При тяжелых случаях поражения кожи волосистой части головы у больных СД наблюдается истончение и выпадение волос с формированием

алопеции [4, 5]. Неуклонный рост заболеваемости себорейным дерматитом с увеличением числа тяжелых форм, торпидность к проводимому местному лечению, негативное влияние на качество жизни больных обуславливают актуальность изучения данной проблемы.

Этиология и патогенез себорейного дерматита до конца не ясны. Считается, что развитию СД способствуют активизация липофильного дрожжевого гриба *Malassezia spp.*, повышенная секреция кожного сала и изменение его качественного состава на фоне психоэмоционального перенапряжения, стрессовых ситуаций, гормональных, иммунных и нейроэндокринных нарушений, приема некоторых лекарственных

ных препаратов [4]. В недавно проведенном исследовании обнаружено, что у больных СД определяется высокая колонизация *Staphylococcus epidermidis* в сравнении с контролем [6]. В литературе описано повышение частоты встречаемости СД у больных с ВИЧ и болезнью Паркинсона, что свидетельствует о наличии иммунного дисбаланса при данной патологии [4, 5].

Следовательно, СД является мультифакториальным заболеванием, в патогенезе которого участвуют иммунные и средовые факторы. Роль питания в развитии себорейного дерматита неоспорима. Существует мнение, что дерматологические заболевания нередко ассоциированы с изменениями в микробиоме желудочно-кишечного тракта, сопровождающимися нарушением барьерной функции слизистой оболочки [3, 7]. Пищевые аллергены могут легко проникать через поврежденный желудочно-кишечный барьер и являться триггерами высыпаний на коже [3, 8]. Кроме того, повреждение эпидермального барьера при СД может способствовать чрескожному проникновению аэроаллергенов и сенсибилизации больных. При этом данные о спектре сенсибилизации к различным группам аллергенов при СД крайне немногочисленны, что обуславливает актуальность проводимого исследования.

Цель исследования – изучить спектр сенсибилизации больных себорейным дерматитом к пищевым, пыльцевым, бытовым и грибковым аллергенам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены больные себорейным дерматитом ($n = 40$) в возрасте 15–59 лет. Средний возраст составил $31,6 \pm 1,5$ года. Средняя продолжительность заболевания – $6,2 \pm 0,9$ года. Средний возраст дебюта СД – $25,3 \pm 1,7$ года. Диагностика СД основывалась на наличии характерных клинических признаков: высыпания на коже волосистой части головы, лица, туловища (в области грудной клетки, межлопаточной области), представленные очагами гиперемии округлой, овальной или неправильной формы с нечеткими краями с серовато-желтыми чешуйками на поверхности. С целью диагностики аллергии проведено специфическое аллергологическое обследование (аллергологический анамнез, кожное тестирование).

Изучение спектра сенсибилизации к пищевым, пыльцевым, бытовым и грибковым аллергенам проводилось в ходе выполнения кожного prick-тестирования с учетом размеров волдырной реакции и величины гиперемии: слабopоложительная реакция – 3–5 мм (+), положительная – 6–9 мм (++), резко положи-

тельная – 10–14 мм (+++), гиперергическая – 15 мм и более (++++)). Использованы аллергены (Allergopharma, Германия): пищевые – коровье молоко (белок коровьего молока, казеин), мясо говядины, куриное яйцо (белок, желток, цельное яйцо), мясо курицы, пищевые злаки (пшеничная и ржаная мука, ячневая и овсяная крупа); пыльцевые – смеси аллергенов пыльцы деревьев (береза, дуб, клен, лещина, ольха), злаков (ежа, коостра, лисохвост, мятлик, овсяница, пырей, райграсс, рожь), сорных трав (лебеда, полынь, подсолнечник); бытовые – *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, домашняя пыль; грибковые – *Candida albicans*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum*.

Для статистического анализа использовали пакет прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Статистическую обработку результатов проводили с расчетом обобщающих коэффициентов: средней величины (M) и ошибки средней (m). При анализе качественных признаков проводилась оценка относительной частоты признака (распространенность) p , определение средней ошибки доли m [9]. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основные клинические проявления себорейного дерматита представлены эритематозными очагами, покрытыми желтоватыми чешуйками и корками. Кожный зуд отмечен у 82% ($n = 33$) больных. Проявления себорейного дерматита на коже лица имели 42% ($n = 17$) больных, на коже туловища – 7% ($n = 3$).

В 75% ($n = 30$) случаях больные имели отягощенный аллергологический анамнез (лекарственная аллергия, атопический дерматит, аллергический ринит, крапивница). Так, проявления круглогодичного аллергического ринита были определены у 50% ($n = 20$), атопического дерматита – у 35% ($n = 14$) больных. Отягощенный наследственный аллергологический анамнез у больных СД выявлен в 40% ($n = 16$) случаев. Отягощенная наследственность по СД отмечена в 15% ($n = 6$) случаев.

Анализ результатов кожного тестирования выявил наличие гиперчувствительности к пищевым аллергенам у 95% ($n = 38$) больных, причем в 42% случаев сенсибилизация была резко положительной, в 39% случаев – положительной. При изучении спектра сенсибилизации к пищевым аллергенам больных СД установлено, что наиболее значимыми аллергенами являлись куриное яйцо и пищевые злаки, сенсибилизация к которым определена в 74,3 и 75,0% случаев соответственно (таблица).

Т а б л и ц а

Особенности спектра сенсибилизации к пищевым, пылевым, бытовым и грибковым аллергенам больных себорейным дерматитом

Аллерген	Количество обследованных больных, (n/N)	Распространенность сенсибилизации, %, $M \pm m$
<i>Пищевые аллергены</i>		
Коровье молоко	25/40	62,5 ± 7,6
Мясо говядины	17/35	48,6 ± 8,4
Куриное яйцо	29/39	74,3 ± 6,9
Мясо курицы	15/37	40,5 ± 8,1
Пищевые злаки	30/40	75,0 ± 6,8
<i>Пыльцевые аллергены</i>		
Луговые травы	20/35	57,1 ± 8,4
Деревья	19/34	55,9 ± 8,5
Сорные травы	21/35	60,0 ± 8,3
Злаковые травы	21/35	60,0 ± 8,3
<i>Бытовые аллергены</i>		
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	13/20	65,0 ± 10,9
<i>Dermatophagoides farinae</i>	11/21	52,4 ± 11,2
Домашняя пыль	16/21	76,2 ± 9,5
<i>Грибковые аллергены</i>		
<i>Candida albicans</i>	18/39	46,2 ± 8,0
<i>Cladosporium herbarum</i>	12/29	41,4 ± 9,3
<i>Penicillium notatum</i>	8/29	27,6 ± 8,4

Примечание. N – количество тестируемых больных, n (%) – абсолютное (относительное) количество сенсибилизированных больных.

Согласно данным литературы, пищевая аллергия к куриному яйцу является одной из самых распространенных в мире, поэтому высокая сенсибилизация к данному аллергену у больных СД была ожидаема [10]. В меньшей степени, но достаточно широко определена сенсибилизация к коровьему молоку – 62,5% случаев. По данным литературы, коровье молоко является одной из основных причин пищевой аллергии на первом году жизни, однако у взрослых встречается редко. Между тем известно, что наличие пищевой аллергии к коровьему молоку у взрослых проявляется тяжелыми клиническими формами заболевания [11].

Данные литературы о частоте встречаемости моновалентной и поливалентной сенсибилизации (к трем и более аллергенам) к пищевым аллергенам различны [10]. Частота встречаемости поливалентной сенсибилизации к пищевым аллергенам в проведенном нами исследовании обнаружена в 40% (n = 16/40), бивалентной – в 37% (n = 15/40), моновалентной – в 17% (n = 7/40) случаев.

Всем больным по результатам кожного тестирования назначалась элиминационная диета в соче-

тании со стандартной топической терапией. В 85% случаев больные отметили значительное улучшение течения кожного процесса к 3-й нед лечения: уменьшение кожного зуда, гиперемии и шелушения в очагах себорейного дерматита.

Определена высокая частота сенсибилизации больных СД к пылевым аллергенам, чаще всего к аллергенам пыли сорных и злаковых трав (см. таблицу). Классические проявления поллиноза в виде сезонного аллергического риноконъюнктивального синдрома у больных СД отмечены в 12% (n = 5/40) случаев. Высокая частота сенсибилизации к пылевым аллергенам больных СД может быть обусловлена наличием общих антигенных детерминант с пищевыми аллергенами и, как следствие, развитием перекрестной аллергии.

Кожное тестирование с бытовыми аллергенами показало наиболее высокую частоту встречаемости сенсибилизации больных СД к домашней пыли и *Dermatophagoides pteronyssinus*: 76,2 и 65,0% соответственно (см. таблицу). Известно, что развитие себорейного дерматита связано с активацией грибковой микрофлоры кожи, следствием чего возможно развитие грибковой сенсибилизации [3]. В результате кожного тестирования с грибковыми аллергенами отмечена наиболее высокая частота встречаемости сенсибилизации больных СД к *Candida albicans* – в 46,2% (n = 18/39) случаев (см. таблицу).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование показывает высокую частоту встречаемости сенсибилизации к пищевым, пылевым, бытовым и грибковым аллергенам больных себорейным дерматитом. Наиболее значимыми пищевыми аллергенами при СД являются куриное яйцо и пищевые злаки. Несмотря на то, что распространенность пищевой аллергии, по данным литературы, среди взрослых составляет всего около 2% [10, 12], определенный нами спектр сенсибилизации к пищевым аллергенам и положительный эффект от элиминационной диеты у больных СД доказывают важную роль пищевых аллергенов в качестве триггеров заболевания. По мнению специалистов, ежегодно в мире отмечается рост распространенности пищевой аллергии, что связано с изменением характера питания населения различных стран и появлением новых технологий переработки пищевых продуктов [12].

Сенсибилизация к пылевым аллергенам больных СД может быть результатом наличия общих антигенных детерминант с пищевыми аллергенами. Известно, что у больных поллинозом отмечается

перекрестная аллергия к фруктам и овощам в результате наличия гомологичных белков с пылью растений. Учитывая высокую частоту встречаемости пылевой сенсibilизации больных СД, можно предположить, что в ряде случаев употребление в пищу продуктов, имеющих общие антигенные детерминанты с пылевыми аллергенами, может привести к расширению спектра сенсibilизации и обострению патологии как результат перекрестной гиперчувствительности.

В свою очередь, нарушение барьерной функции кожи у больных СД может способствовать проникновению в организм различных аэроаллергенов. Особого внимания заслуживает высокая частота встречаемости сенсibilизации больных СД к домашней пыли и *Dermatophagoides pteronyssinus*. В последнее время в литературе, посвященной микробиому кожи больных СД, появляются данные о колонизации очагов поражения бактериями *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus* [6, 13]. Клещи домашней пыли могут служить переносчиком бактерий рода семейства Staphylococcaceae, ответственных за индукцию IgE-опосредованной сенсibilизации к микробным антигенам [14]. Следовательно, выявленная нами высокая частота встречаемости сенсibilизации к *Dermatophagoides pteronyssinus* больных СД может быть не только одним из важных этиологических факторов патологии, но и индуцировать инфекционную аллергию.

Интересным является факт наличия сенсibilизации больных СД к *Candida albicans*. Дрожжеподобные грибки рода *Candida*, являясь комменсалами кожи, играют определенную роль в патогенезе аллергических заболеваний, таких как атопический дерматит [15]. Наличие сенсibilизации к грибковым аллергенам обследованных нами больных может быть связано с перекрестной реактивностью между аллергенами *Candida albicans* и грибами рода *Malassezia*, роль которых в патогенезе СД активно обсуждается [2, 3]. Считается, что СД возникает в результате иммунной реакции на антигены грибов рода *Malassezia* и продуктов ее жизнедеятельности [2]. Патологический иммунный ответ способствует усиленному проникновению грибов *Malassezia* и *Candida albicans* через эпидермис, что приводит к сенсibilизации организма и непрерывному циклу воспаления.

Несмотря на полученные нами интересные данные о наличии широкого спектра сенсibilизации к аллергенам различного происхождения больных себорейным дерматитом, требуются дальнейшие углубленные специфические аллергологические исследования, включая другие диагностические

(элиминационные и провокационные тесты) и терапевтические (элиминационная диета, аллергенспецифическая иммунотерапия) возможности с целью подтверждения роли аллергии в качестве триггера патологии. Кроме того, можно предположить, что себорейный дерматит может являться одним из нетипичных клинических проявлений аллергии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Goldenberg G. Optimizing treatment approaches in seborrheic dermatitis. *J Clin. Aesthet Dermatol.* 2013;6(2):44–49.
2. Karabay E.A., Çerman A.A. Serum zinc levels in seborrheic dermatitis: a case-control study. *Turk. J. Med. Sci.* 2019;49(5):1503–1508. DOI: 10.3906/sag-1906-72.
3. Samantha R.E., Nguyen M., Vaughn A.R. The skin and gut microbiome and its role in common dermatologic conditions. *Microorganisms.* 2019;7(11):550. DOI: 10.3390/microorganisms7110550.
4. Чикин В.В., Минеева А.А., Заславский Д.В. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных с себорейным дерматитом. М., 2013:15.
5. Clark G.W., Pope S.M., Jaboori K.A. Diagnosis and treatment of seborrheic dermatitis. *Am. Fam. Physician.* 2015;91(3):185–190.
6. An Q., Sun M., Qi R.Q. High *Staphylococcus epidermidis* colonization and impaired permeability barrier in facial seborrheic dermatitis. *Chin. Med. J.* 2017; 130(14):1662–1669. DOI: 10.4103/0366-6999.209895.
7. Смирнова С.В., Барило А.А., Смольникова М.В. Прогностическое значение клинических и анамнестических маркеров псориатического артрита. *Клиническая дерматология и венерология.* 2016;15(1):23–27. DOI: 10.17116/klinderma201615123-27.
8. Барило А.А., Смирнова С.В. Роль алиментарных факторов и пищевой аллергии в развитии псориаза. *Вопросы питания.* 2020;89(1):60–68. DOI: 10.24411/0042-8833-2020-10002.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002:312.
10. Benedé S., Belén Blázquez A., Chiang D., Tordesillas L., Berin M.C. The rise of food allergy: Environmental factors and emerging treatments. *EBioMedicine.* 2016;7:27–34. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.04.012.
11. Balasasirekha. R. Food allergy: molecular basis and clinical practice. *Indian J. Nutr. Diet.* 2016;53(1):133. DOI: 10.21048/ijnd.2016.53.1.3881.
12. Caraballo L., Zakzuk J., Lee B.W., Acevedo N., Soh J., Sanchez-Borges M. et al. Particularities of allergy in the tropics. *World Allergy Organ J.* 2016;9:20. DOI: 10.1186/s40413-016-0110-7.
13. Tamer F., Yuksel M.E., Sarifakioglu E., Karabağ Y. *Staphylococcus aureus* is the most common bacterial agent of the skin flora of patients with seborrheic dermatitis. *Dermatol. Pract. Concept.* 2018;8(2):80–84. DOI: 10.5826/dpc.0802a04.
14. Dzoro S., Mittermann I., Resch-Marat Y., Vrtala S., Nehr M.,

Hirschl A. et al. House dust mites as potential carriers for IgE sensitization to bacterial antigens. *Allergy*. 2018;73(1):115–124. DOI: 10.1111/all.13260.

15. Fukutomi Y., Taniguchi M. Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issues. *Allergol Int*. 2015;64(4):321–331. DOI: 10.1016/j.alit.2015.05.007.

Информация об авторах

Барило Анна Александровна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинической патофизиологии, НИИ МПС – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, anntomsk@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5349-9122>

Смирнова Светлана Витальевна – д-р мед. наук, профессор, руководитель научного направления, НИИ МПС – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск, svetvita@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1197-1481>

(✉) **Барило Анна Александровна**, anntomsk@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.10.2020;
одобрена после рецензирования 22.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.72-018.3-002-021.6-092:549.623.81
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-19-26>

Патогенетические особенности экспериментального остеоартроза, индуцированного дексаметазоном и тальком

Гладкова Е.В.

Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии (НИИТОН),
Саратовский государственный медицинский университет (СГМУ) им. В.И. Разумовского
Россия, 410012, г. Саратов, ул. им. Н.Г. Чернышевского, 148

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение патогенеза экспериментального остеоартроза (ОА), индуцированного дексаметазоном и тальком, на основании исследования структуры, определения морфометрических характеристик и метаболических особенностей скелетных соединительных тканей коленных суставов у крыс.

Материалы и методы. Осуществлена морфометрическая оценка суставного хряща (толщина, организация внеклеточного матрикса, пространственное расположение основных компонентов, плотность распределения, основные клеточные индексы хондроцитов) и изменений субхондральной кости (наличие костных разрастаний в виде появления костных балок в базальном слое суставного хряща и наличия единичных остеофитов) у 30 крыс с моделью первичного ОА, индуцированного путем последовательного введения в полость сустава 0,5 мл дексаметазона (2 мг) и 1 мл 10%-й суспензии стерильного талька в изотоническом растворе натрия хлорида. Изучены гистологические препараты коленных суставов, окрашенные гематоксилином Майера и эозином, альциановым синим (рН 1,0 и 2,5) по Ван-Гизону, Массону и Маллори. Метаболические особенности хрящевой и костной тканей изучены путем определения в сыворотке крови лабораторных животных концентраций гиалуронана, остеокальцина и коллагена I типа.

Результаты. У крыс с ОА, индуцированным введением дексаметазона и талька, выявлено уменьшение на 50% толщины суставного хряща в его нагружаемых участках, нарушение пространственного распределения хондроцитов, снижение ($p < 0,01$) ядерно-цитоплазматического отношения хондроцитов до 0,3 и повышение в сыворотке крови концентраций гиалуронана ($p < 0,001$) до 110,2 нг/мл, фрагментов коллагена I типа ($p < 0,001$) до 217,9 нг/мл и остеокальцина ($p < 0,001$) до 231,1 нг/мл.

Заключение. Основными патогенетическими особенностями экспериментального остеоартроза, индуцированного дексаметазоном и тальком, являются нарушение плотности распределения, морфологических характеристик и функциональной активности хондроцитов, что приводит к угнетению синтеза компонентов внеклеточного матрикса суставного хряща, а также сопровождается активизацией деструкции протеогликанов, содержащих несulfатированные гликозаминогликаны. Особенностью ремоделирования субхондральной кости при экспериментальном ОА, индуцированном дексаметазоном и тальком, является интенсификация синтетической активности остеобластов.

Ключевые слова: остеоартроз, крысы, дексаметазон, суставной хрящ, хондроциты, остеокальцин, субхондральная кость, гиалуроновая кислота, коллаген I типа

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках НИР «Патогенетические особенности, регуляторные механизмы и прогностическое значение системных проявлений нарушений метаболизма хрящевой и костной тканей на ранних стадиях остеоартроза», НИОКТР № АААА-А18-1181026900087-7 от 26.10.2018.

✉ Гладкова Екатерина Вячеславовна, gladckowa.katya@yandex.ru

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СГМУ им. В.И. Разумовского (протокол № 2 от 02.10.2018).

Для цитирования: Гладкова Е.В. Патогенетические особенности экспериментального остеоартроза, индуцированного дексаметазоном и тальком. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):19–26. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-19-26>.

Pathogenetic features of experimental osteoarthritis induced by dexamethasone and talc

Gladkova E.V.

*Research Institute of Traumatology, Orthopedics, and Neurosurgery, Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky
148, Chernyshevskogo Str., Saratov, 410012, Russian Federation*

Abstract

The aim of the study was to investigate the pathogenesis of experimental osteoarthritis induced by dexamethasone and talc by examining the structure and defining the morphometric and metabolic features of knee joint skeletal connective tissues in rats.

Materials and methods. We performed a morphometric evaluation of articular cartilages (their thickness, extracellular matrix arrangement, spatial arrangement of the main components, distribution density, and main cellular indices of chondrocytes), as well as changes in subchondral bones (the presence of trabeculae in the basal layer of the articular cartilage and individual osteophytes) in 30 rats with a model of primary osteoarthritis induced by sequential administration of 0.5 ml dexamethasone (2 mg) and 1 ml 10% sterile talc suspension mixed with normal saline into the joint cavity. We studied the histologic specimens of the knee joints stained with hematoxylin – eosin, Alcian blue (pH 1.0 and 2.5), as well as with Van Gieson's, Masson's, and Mallory's trichome stains. The metabolic features of the articular cartilage and bone tissues were investigated by determining the hyaluronan, osteocalcin, and type I collagen levels in the serum of the rats.

Results. In the rats with dexamethasone- and talc-induced osteoarthritis, the thickness of cartilages in their weight-bearing areas decreased by 50%, the spatial arrangement of chondrocytes was impaired, and the nuclear – cytoplasmic ratio ($p < 0.01$) decreased to 0.3. Besides, a rise in the serum levels of hyaluronan ($p < 0.001$) to 110.2 ng / ml, type I collagen fragments ($p < 0.001$) to 217.9 ng / ml, and osteocalcin ($p < 0.001$) to 231.1 ng / ml was detected.

Conclusion. The main pathogenetic features of experimental osteoarthritis induced by dexamethasone and talc include impaired distribution density, morphological characteristics, and functional activity of chondrocytes, which results in inhibited synthesis of extracellular matrix components in the articular cartilage and activated destruction of proteoglycans containing unsulphated glycosaminoglycans. The subchondral bone remodeling in experimental osteoarthritis induced by dexamethasone and talc is characterized by intensification of synthetic activity of osteoblasts.

Keywords: osteoarthritis, rats, dexamethasone, articular cartilage, chondrocytes, osteocalcin, subchondral bone, hyaluronic acid, type I collagen

Conflict of interest. The author declares the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out within the R&D “Pathogenetic features, regulatory mechanisms, and prognostic values of systemic manifestations of metabolic disorders in articular cartilage and bone tissues in early-stage osteoarthritis”, as well as research and technological development No. AAAA-A18-1181026900087-7 of 26.10.2018.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky (Protocol No. 2 of 02.10.2018).

For citation: Gladkova E.V. Pathogenetic features of experimental osteoarthrosis induced by dexamethasone and talc. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):19–26. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-19-26>.

ВВЕДЕНИЕ

Остеоартроз (ОА) – это распространенная группа полиэтиологических заболеваний опорно-двигательной системы, характеризующихся прогрессирующим течением и необратимыми изменениями скелетных соединительных тканей [1]. Экспериментальное изучение патогенетических механизмов развития воспалительно-деструктивных изменений суставов на анимальных моделях проводится с целью оптимизации имеющихся и разработки новых диагностических и терапевтических стратегий для дальнейшего экстраполирования полученных результатов в клиническую практику [2, 3].

Существующие общепризнанные методологические подходы к экспериментальному моделированию хронических заболеваний суставов, максимально приближенных по своим морфологическим проявлениям к ОА человека и охватывающих все компоненты сустава: субхондральную кость, суставной хрящ, суставную капсулу и связки, а также действующие на сустав скелетные мышцы, базируются на следующих основных направлениях: селекция линейных животных с генетически детерминированным ОА, хирургическая дестабилизация компонентов коленных суставов путем резекции передней крестообразной связки или рассечения менисков; воздействия на лубрикационные свойства синовиальной жидкости за счет введения в полость сустава растворов, обладающих абразивными свойствами, непосредственное инвазивное действие физических факторов [4].

Достаточно широкое распространение получили методы инициации дегенеративно-дистрофических изменений в суставном хряще в результате местного использования различных химических агентов, например стероидных препаратов (внутрисуставного введения гидрокортизона ацетата в дозе 500 мг/кг массы тела, еженедельных внутримышечных инъекций дексаметазона в различной дозировке, зависящей от вида животного и длительности эксперимента: 3, 7 или 10 мг/кг массы животного). Применение других биологически активных веществ (внутрисуставные инъекции витамина А, монойодуксусная кислота в изотоническом растворе натрия хлорида, 1%-й раствор папаина) также позволяет вызывать необратимые дегенеративно-деструктивные изменения суставного хряща и нарушения метаболизма субхондральной кости [5].

Перечисленные методы формирования экспериментального ОА приводят к быстрому (в течение 4–6 нед после воздействия) развитию поражения структур сустава, сходному по своим проявлениям с ОА человека, однако к наиболее обоснованным способам моделирования ОА коленных суставов у животных являются комбинированные комплексные методики, основанные на одновременном направленном действии на ремоделирование тканей суставов целого ряда неблагоприятных факторов, воссоздающих различные патогенетический звенья данной хронической патологии опорно-двигательной системы. В частности, к данному экспериментальному направлению следует отнести сочетанное локальное использование 0,5 мл дексаметазона (2 мг) с последующим внутрисуставным введением в суставную полость коленных суставов 1 мл 10%-й водной суспензии стерильного талька, позволяющее вызвать в них изменения, аналогичные I–II стадиям деформирующего ОА человека [6].

Несмотря на использование различных в методологическом плане подходов к формированию экспериментального ОА [7], морфологические и метаболические особенности состояния тканей суставов имеют определенное сходство, ведущее значение в которых отводится изменению нормальной структуры кластерного строения суставного хряща, нарушениям синтетической активности хондроцитов в отношении агрегации, а также лубрицина, обеспечивающего вязкость синовиальной жидкости. Кроме того, при экспериментальном ОА обнаруживаются признаки гиперцеллюлярности в базальной зоне суставного хряща, структурные и функциональные нарушения в системе «суставной хрящ – субхондральная кость» [8].

Имеются наблюдения, подтверждающие, что наряду с неравномерным расположением хондроцитов в различных топографических зонах суставного хряща наблюдаются существенные морфологические изменения хондроцитов, которые характеризуются кариопикнозом и кариолизисом, дистрофией, что приводит к глубоким общим изменениям метаболической активности хондроцитов в отношении основных компонентов внеклеточного матрикса и синовиальной жидкости [9]. Известно, что наряду с протеогликанами ведущее протекторное и структурообразующее значение в обеспечении адекватной микроархитектоники суставного хряща в физиологических условиях принадлежит гиалуронану,

являющемуся производным гиалуроновой кислоты (ГК), непосредственно участвующему в стабилизации и пространственной организации белково-углеводных комплексов внеклеточного матрикса суставного хряща. Кроме того, ГК и ее производные совместно с лубрицином участвуют в обеспечении суставного гомеостаза посредством влияния на диффузно-нагрузочный механизм суставной трофики, а также регуляцию клеточной пролиферации и миграции, что подтверждает ведущую роль в поддержании баланса окислительно-восстановительных процессов в структурах сустава [6].

Однако об особенностях метаболизма ГК, месте и роли ее в ремоделировании скелетных соединительных тканей в условиях ОА, особенно ранних его проявлений, мнения разнятся. Согласно ряду наблюдений, одним из ведущих патогенетических механизмов прогрессирования поражения структур сустава при ОА является угнетение синтеза ГК на фоне возрастающей активности гиалуронидазы [10]. Существует также мнение, что накопление в биологических средах ГК при ОА является результатом дисбаланса ее метаболизма, заключающегося, с одной стороны, в активизации ее синтеза, с другой – в функциональной и структурной несостоятельности молекул несulfатированных гликозаминогликанов, образующихся вследствие нарушения их метаболизма [11]. В связи с вышеизложенным было предпринято данное исследование, направленное на изучение структурно-метаболических особенностей ремоделирования хрящевой и костной тканей при ранних проявлениях экспериментального ОА коленных суставов.

Цель – изучить патогенез экспериментального остеоартроза, индуцированного дексаметазоном и тальком, на основании исследования структуры, определения морфометрических характеристик и метаболических особенностей скелетных соединительных тканей коленных суставов у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕС), Хельсинкской декларации, «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 № 755)», и одобрена локальным этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского (протокол № 2 от 02.10.2018).

В работе использовали 30 белых беспородных лабораторных самцов крыс, возраст 18 мес, масса 180–210 г, находящихся на стандартном влажном рацио-

не питания со свободным доступом к воде и пище. Животные случайным образом были распределены на две группы: 10 интактных животных составили контрольную группу, 20 – основную. У крыс основной группы воспроизведена модель первичного ОА коленных суставов путем последовательного введения в полость правого (опытного) коленного сустава 0,5 мл дексаметазона (2 мг) и через сутки 1 мл 10%-й водной суспензии стерильного талька. В левый (контрольный) коленный сустав вводили 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида. Через 4 нед после инъекции в правом коленном суставе был сформирован экспериментальный ОА, соответствующий II–III стадии деформирующего артроза у человека [4].

Животные находились под наблюдением в течение 4 нед: у них производили оценку амплитуды свободных движений и определение ортопедического статуса коленных суставов, измерение локальной температуры с помощью инфракрасного термометра LAICA SA 5900 (Италия). По окончании эксперимента в сыворотке крови животных определяли концентрацию ключевого структурообразующего несulfатированного гликозаминогликана внеклеточного матрикса суставного гиалинового хряща гиалуронана методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя тест-системы Quantikine® ELISA Hyaluronan Immunoassay (American Diagnostic Inc., США) и считывая результаты измерений на многофункциональном спектрофотометре EPOCHTM (BioTek, США). Состояние метаболизма костной ткани оценено на основании определения методом иммуноферментного анализа концентраций в сыворотке крови фрагментов коллагена I типа с применением коммерческих наборов реактивов RatLapsTM (Immunodiagnostic Systems Ltd, Великобритания) и остеокальцина в качестве показателя активности остеобластов, используя наборы Rat-MIDTM Osteocalcin EIA (Immunodiagnostic Systems Ltd, Великобритания).

Особенности строения коленных суставов изучали, выделяя их единым костно-мышечным препаратом при выведении крыс из эксперимента. Костно-мышечные препараты помещали в 10%-й формалин, проводили по стандартной методике, затем заливали в парафин и готовили гистологические срезы, которые окрашивали гематоксилином Майера (Бiovитрум, Россия) и эозином (Бiovитрум, Россия). Для заключения окрашенных срезов использовали монтирующую среду Bio-Monht (Bio Optica, Италия). С целью выявления гистологических признаков ОА использовали 8–10 фронтальных срезов коленных суставов толщиной 7–10 мкм, выполненных с шагом порядка 200 мкм в зонах интереса (латеральные и

медиальные мышечки бедренных костей, медиальные и латеральные плато большеберцовых костей). Для балльной оценки гистологических изменений коленных суставов использовали полуколичественную шкалу [12].

Морфометрическую оценку гистологических препаратов (измерение толщины отдельных зон суставного хряща и расчет ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО) основных типов хондроцитов) проводили, учитывая площадь клеток (S_x , $\mu\text{м}^2$) и площадь их ядер (S_y , $\mu\text{м}^2$) в обеих группах животных. Ядерно-цитоплазматические отношения высчитывали по следующей формуле: $\text{ЯЦО} = S_y / (S_x - S_y)$, осуществляя измерения при помощи микроскопа AxioImager Z2 (Carl Zeiss, Германия).

При учете морфометрических данных использовали также полученные цифровые изображения суставного хряща и субхондральной кости в соответствующих задачам исследования зонах интереса. Подсчет среднего числа клеточных элементов проводили в шести полях зрения не менее чем в четырех препаратах коленного сустава, выполненных для каждой из топографических зон, вычисляя среднее значение. Для выявления на гистологических препаратах гликозаминогликанов дополнительно производили окрашивание срезов с помощью альцианового синего: для высокосульфатированных гликозаминогликанов (рН 1,0) и для суммарных гликозаминогликанов (рН 2,5), коллагеновых волокон – с помощью окрашивания по методу Ван-Гизона и Массона; также проводили идентификацию коллагеновых волокон по методу Вейгерт – Ван-Гизона и Маллори.

В качестве контрольных образцов использовали гистологические препараты коленных суставов интактных животных. Все манипуляции с лабораторными животными проводили под комбинированным наркозом золетила-100 (Virbac Sante Animale, Франция) в дозе 0,05 мл/кг и ксилазина (Interchemie, Нидерланды) в дозе 1 мг/кг в соответствии с инструкциями (Видадь «Ветеринарные препараты в России», 2015). Выведение животных из эксперимента осуществляли передозировкой золетила-100 в дозе 200 мг/кг массы.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Проведено тестирование всей совокупности значений переменных по критериям Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Полученные значения по каждому из критериев не позволяли считать распределение данных нормальным. Поскольку полученные результаты не соответствовали закону нормального распределения, для их оценки использовали непараметрический

U-критерий Манна – Уитни. Результаты измерений представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me (Q_1 ; Q_3). При сопоставлении числовых данных в группах животных с ОА и контрольной группе учитывали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных контрольной группы (табл. 1) толщина суставного хряща в нагружаемых зонах мышечков бедренных костей составляла в среднем 220–300 $\mu\text{м}$, клетки суставного хряща были представлены в основном хондроцитами овальной формы диаметром 11–18 $\mu\text{м}$, имеющими центрально расположенное нормохромное ядро, ЯЦО 0,64 – хондроциты первого типа. Эти клетки располагались как изолированно, так и формировали изогенные группы, содержащие от 3–4 до 6 хондроцитов (рис. 1). Количество изогенных групп в одном поле зрения приближалось к 10–11.

Хондроциты второго типа были расположены преимущественно в базальной зоне суставного хряща и имели диаметр 8–9 $\mu\text{м}$, а также пикнотичное ядро, расположенное центрально, ЯЦО в них не превышало 0,30. В каждом из выбранных полей зрения зон интереса располагалось около 39–47 клеток, из которых на долю хондроцитов первого типа приходилось около 70%. В области поверхностной зоны суставного хряща клетки были уплощены и приобретали веретенообразную форму с бобовидным нормохромным ядром.

Таблица 1

Морфометрические особенности суставного хряща коленных суставов у крыс контрольной и основной групп, Me (Q_1 ; Q_3)			
Группа	Показатель		
	Толщина суставного хряща в области ненагружаемых участков большеберцовых костей, мм	Толщина суставного хряща в области нагружаемых участков бедренных костей, мм	Разница толщин суставного хряща между нагружаемыми и ненагружаемыми зонами, %
Контрольная, $n = 10$	0,234 (0,221; 0,297)	0,226 (0,196; 0,281)	4,0 (0,9; 7,1)
Основная, $n = 20$	0,185* (0,209; 0,273) $p < 0,05$	0,105 (0,095; 0,125) $p < 0,01$	54,2 (22,4; 67,1) $*p < 0,001$

*Здесь и в табл. 2 различия показателей основной и контрольной групп при $p < 0,05$.

Через 4 нед с начала формирования ОА у крыс основной группы (см. рис. 2) отмечалось уменьшение толщины суставного хряща ($p < 0,01$), расположенного в нагружаемых его участках, а также происхо-

дило перераспределение количественного соотношения хондроцитов и изменение их морфологических характеристик. Относительное количество хондроцитов первого типа снижалось и составляло порядка 40–50% всех клеток суставного хряща. Ядерно-цитоплазматическое отношение данного типа клеток, диаметр которых не превышал 10–13 мкм, приближалось к 0,44. У части хондроцитов первого типа ядра приобретали неправильную бобовидную форму и гетерохромно окрашивались, располагались эксцентрично, цитоплазма имела нечеткие границы, треугольную, веретенообразную, неправильную бобовидную форму.

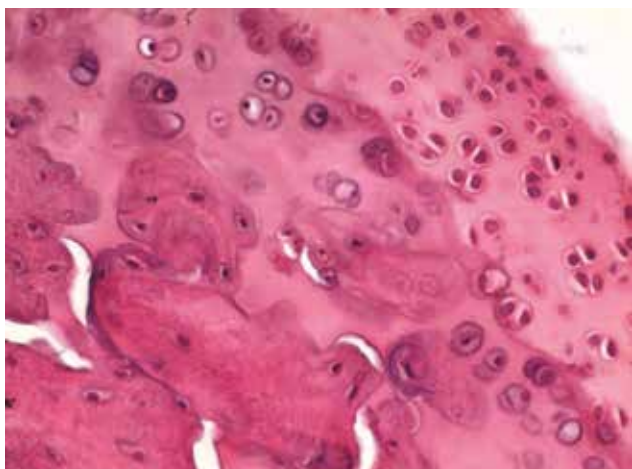


Рис. 1. Участок суставного хряща интактного коленного сустава крысы контрольной группы: окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$

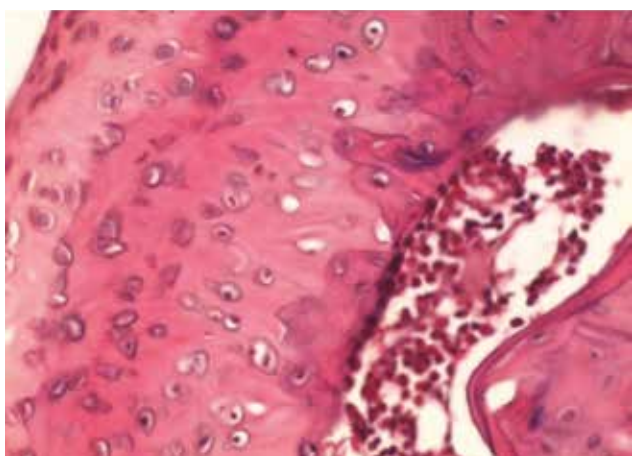


Рис. 2. Участок суставного хряща коленного сустава крысы основной группы: окраска гематоксилином и эозином, $\times 40$

Хондроциты первого типа формировали незначительное количество изогенных групп: их число составляло не более 1–2 в поле зрения. Каждая изогенная группа объединяла не более 2–3 хондроцитов

первого типа. Около 22% хондроцитов второго типа отличались выраженным кариопикнозом и эксцентричным расположением ядер, 70% всех хондроцитов второго типа – микроцитозом (диаметр 4–6 мкм). Безъядерные формы хондроцитов второго типа (кариолизис) составили около 40% всех хондроцитов. В суставном хряще располагались единичные бесклеточные лакуны. В каждом из полей зрения изолированно или скоплениями располагалось в среднем 27–30 хондроцитов. В базальной зоне суставного хряща встречались отдельные костные трабекулы, которые на поперечном срезе имели правильную округлую форму.

Дополнительные методы окрашивания позволили выявить снижение содержания в органическом внеклеточном матриксе суставного хряща у животных основной группы всех изученных видов гликозаминогликанов, что явилось свидетельством выраженных дегенеративно-дистрофических процессов и подтверждается данными биохимического исследования. Так, при изучении концентрации в сыворотке крови основных метаболитов хрящевой и костной тканей (табл. 2) обращает на себя внимание существенное повышение концентраций фрагментов коллагена I типа ($p < 0,001$) и гиалуронана ($p < 0,001$) у крыс основной группы против значений, характерных для контрольной группы животных. Поступление в кровь остеокальцина у крыс с ОА снижалось ($p < 0,001$), свидетельствуя о появлении признаков угнетения синтетической активности остеобластов.

Таблица 2

Концентрация гиалуронана, фрагментов коллагена I типа и остеокальцина в сыворотке крови крыс при экспериментальном первичном ОА, $Me (Q_1; Q_3)$			
Группа	Концентрация, нг/мл		
	гиалуронан	фрагменты коллагена I типа	остеокальцин
Контрольная, $n = 10$	66,5 (57,6; 69,9)	144,2 (99,3; 170,1)	231,5 (222,9; 258,4)
Основная, $n = 20$	110,2* (81,4; 142,9) $p < 0,001$	217,9* (200,5; 248,2) $p < 0,001$	176,9* (133,1; 194,4) $p < 0,001$

ОБСУЖДЕНИЕ

В физиологических условиях метаболизм скелетных соединительных тканей характеризуется сбалансированностью катаболических и анаболических процессов, что обеспечивает структурно-функциональную целостность коленного сустава [13]. При этом заметная роль в полноценном ремоделировании скелетных соединительных тканей принадлежит

клеткам: синовиоцитам, моноклеарам, инфильтрирующим синовиальную оболочку, остеоцитам субхондральной кости и хондроцитам [3].

Суставной хрящ представляет собой сложную структурно-функциональную систему клеток и внеклеточного матрикса (волокон и основного аморфного вещества). При этом основные биомеханические особенности суставного хряща обусловлены высокой степенью гидратации агрекана, а дегенеративно-дистрофические процессы при ОА являются результатом действия целого ряда экзогенных и эндогенных неблагоприятных воздействий, которые приводят к выраженному снижению конгруэнтности суставов [1, 11].

В проведенных нами морфологических исследованиях выявлено, что при экспериментальном ОА развиваются необратимые дегенеративно-дистрофические изменения хондроцитов. Это находит свое отражение в нарушении клеточных индексов, пролиферации и гибели. Согласно наблюдаемым изменениям, при экспериментальном ОА следствием структурно-функциональной модификации суставного хряща (снижение плотности распределения хондроцитов, их структурной реорганизации, изменение ЯЦО, наличие признаков клеточной гибели) стал дисбаланс метаболических процессов во внеклеточном матриксе суставного хряща, что подтверждается увеличением концентрации гиалуронана в сыворотке крови крыс основной группы. Подобные изменения, возможно, являются следствием преобладания деструктивных процессов, направленных на дезорганизацию протеогликановых комплексов межклеточного вещества суставного хряща. Подтверждением дисбаланса катаболических и анаболических реакций в суставном хряще является существенное уменьшение его толщины в условиях экспериментального ОА.

Несомненно, одним из основных факторов патогенеза ОА являются нарушения в субхондральной кости, обеспечивающей в нормальных условиях основные трофические потребности суставного хряща, заключающиеся в ее уплотнении, склерозировании и образовании остеоцитов при изменении общей биомеханики суставов и активном проникновении медиаторов воспаления и ростовых факторов вследствие усиления ангиогенеза [14, 15]. По итогам проведенного исследования выявлена активация процессов костеобразования как результат повышения секреторной деятельности остеобластов и изменения их метаболизма, о чем свидетельствовало нарастание концентрации остеокальцина в сыворотке крови крыс основной группы при ранних проявлениях остеоартроза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основными патогенетическими особенностями экспериментального остеоартроза, индуцированного дексаметазоном и тальком, являются нарушение плотности распределения, морфологических характеристик и функциональной активности хондроцитов, что приводит к угнетению синтеза компонентов внеклеточного матрикса суставного хряща, а также сопровождается активизацией деструкции супрамолекулярных комплексов, содержащих несulfатированные гликозаминогликаны. Нарушения ремоделирования субхондральной кости при экспериментальном ОА заключаются в интенсификации синтетической активности остеобластов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лапшина С.А., Мухина Р.Г., Мясоутова Л.И. Остеоартроз: современные проблемы терапии. *Русский медицинский журнал*. 2016;24(2):95–101.
2. Щелкунова Е.И., Воропаева А.А., Русова Т.В., Штопис И.С. Применение экспериментального моделирования при изучении патогенеза остеоартроза (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(2):27–39. DOI: 10.15372/SSMJ20190203.
3. Алексеева Л.И. Новые представления о патогенезе остеоартрита, роль метаболических нарушений. *Ожирение и метаболизм*. 2019;16(2):75–82. DOI: 10.14341/omet10274
4. Патент РФ № 95106870, М. кл. G 09 B 23/28 1997.
5. Kuyinu E.L., Narayanan G., Nair L.S., Laurencin C.T. Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2016;(11):19. DOI: 10.1186/s13018-016-0346-5.
6. Mazar M., Best T.M., Cesaro A., Lespessailles E., Toumi H. Osteoarthritis biomarker responses and cartilage adaptation to exercise: A review of animal and human models. *Scand. J. Med. Sci. Sports*. 2019;29(8):1072–1082. DOI: 10.1111/sms.13435.
7. Cope P.J., Ourradi K., Li Y., Sharif M. Models of osteoarthritis: the good, the bad and the promising. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2019;27(2):230–239. DOI: 10.1016/j.joca.2018.09.016.
8. Новочадов В.В., Крылов П.А., Зайцев В.Г. Неоднородность строения гиалинового хряща коленного сустава у интактных крыс и при экспериментальном остеоартрозе. *Вестник Волгоградского государственного университета. Сер. 11: Естественные науки*. 2014;(4):7–16. DOI: 10.15688/jvolsu11.2014.4.1.
9. Lu Z., Luo M., Huang Y. IncRNA-CIR regulates cell apoptosis of chondrocytes in osteoarthritis. *J. Cell Biochem*. 2018;(120):7229–7237. DOI: 10.1002/jcb.27997.
10. Uthman I., Raynauld J.-P., Haraoui B. Intra-articular therapy in osteoarthritis. *Postgrad. Med. J.* 2003;(79):449–453. DOI: 10.1136/pmj.79.934.449.
11. Szychlinska M.A., Leonardi R., Al-Qahtani M., Mobasheri A., Musumeci G. Altered joint tribology in osteoarthritis: Reduced lubricin synthesis due to the inflammatory process. New horizons for therapeutic approaches. *Annals of*

- Physical and Rehabilitation Medicine*. 2016;59(3):149–156. DOI: 10.1016/j.rehab.2016.03.005.
12. Glasson S.S., Chambers M.G., van Den Berg W.B., Little C.B. The OARSI histopathology initiative recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the mouse. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2010;(18):17–23. DOI: 10.1016/j.joca.2010.05.025.
13. Карякина Е.В., Гладкова Е.В., Пучиньян Д.М. Структурно-метаболические особенности суставных тканей в условиях дегенеративной деструкции и ревматоидного воспаления. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019;105(8):989–1001. DOI: 10.1134/s0869813919080065.
14. MacKay J.W., Murray P.J., Kasmai B., Johnson G., Donell S.T., Toms A.P. Subchondral bone in osteoarthritis: association between MRI texture analysis and histomorphometry. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2017;25(5):700–707. DOI: 10.1016/j.joca.2016.12.011.
15. Ashraf S., Mapp P.I., Walsh D.A. Contributions of angiogenesis to inflammation, joint damage, and pain in a rat model of osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 2011;63(9):2700–2710. DOI: 10.1002/art.30422.

Информация об авторе

Гладкова Екатерина Вячеславовна – канд. биол. наук, начальник отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, НИИТОН, СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, gladckowa.katya@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6207-2275>

(✉) Гладкова Екатерина Вячеславовна, gladckowa.katya@yandex.ru

Поступила в редакцию 08.04.2021;
одобрена после рецензирования 09.08.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 159.9:[616.89-008.44:004.738.52]-053.7
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-27-32>

Связь показателей когнитивного стиля «импульсивность/рефлексивность» со степенью склонности к интернет-зависимому поведению у старшеклассников

Григорьев П.Е.^{1, 2, 3}, Гальченко А.С.⁴, Поскотинова Л.В.⁵

¹Никитский ботанический сад – Национальный научный центр Российской академии наук (НБС – ННЦ РАН) Россия, 298648, Республика Крым, пгт Никита, Никитский спуск, 52

²Гуманитарно-педагогический институт, Севастопольский государственный университет (СевГУ) Россия, 299053, Республика Крым, г. Севастополь, ул. Университетская, 33

³Академический научно-исследовательский институт физических методов лечения, медицинской климатологии и реабилитации (АНИИ) им. И.М. Сеченова Россия, 298603, Республика Крым, г. Ялта, ул. Мухина, 10

⁴Крымский республиканский институт постдипломного педагогического образования (КРИППО) Россия, 295000, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Ленина, 15

⁵Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. акад. Н.П. Лаверова Уральского отделения Российской академии наук (ФИЦКИА УрО РАН) Россия, 163069, г. Архангельск, наб. Северной Двины, 23

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение связи характеристик когнитивного стиля «импульсивность/рефлексивность» с уровнем интернет-зависимости у старшеклассников.

Материалы и методы. Проведена диагностика 154 обучающихся общеобразовательных учреждений 16–17 лет посредством теста Дж. Кагана для определения показателей когнитивного стиля «импульсивность/рефлексивность» и теста «Шкала склонности к интернет-зависимому поведению» С. Чена. Использовался однофакторный дисперсионный анализ с последующими попарными апостериорными сравнениями критерием Тьюки.

Результаты. Установлено наличие обратной связи между уровнем интернет-зависимости и латентным временем принятия решения в ситуации множественного выбора и прямой связи между уровнем интернет-зависимости и количеством ошибок в тесте Дж. Кагана.

Заключение. Старшеклассники со склонностью к интернет-зависимости тяготеют к импульсивному типу по исследованному когнитивному стилю, без таковой склонности – к рефлексивному типу. В познавательной деятельности использование импульсивного когнитивного стиля в целом менее продуктивно, чем рефлексивного. Импульсивный когнитивный стиль обнаруживает черты сходства с так называемым клиповым мышлением, что позволяет рассматривать связь интернет-зависимости с этим явлением через призму когнитивно-стилевых особенностей.

Ключевые слова: интернет-зависимость, старшеклассники, когнитивный стиль «импульсивность/рефлексивность»

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

✉ Григорьев Павел Евгеньевич, mhnty@ya.ru

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект № 20-013-00060.

Соответствие принципам этики. Все испытуемые подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФИЦКИА им. акад. Н.П. Лаверова УрО РАН (протокол № 3 от 12.02.2020).

Для цитирования: Григорьев П.Е., Гальченко А.С., Поскотинова Л.В. Связь показателей когнитивного стиля «импульсивность/рефлексивность» со степенью склонности к интернет-зависимому поведению у старшеклассников. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):27–32. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-27-32>.

Relationship of parameters of the impulsivity – reflexivity cognitive style with propensity to Internet addiction in high school students

Grigoriev P.E.^{1, 2, 3}, Galchenko A.S.⁴, Poskotinova L.V.⁵

¹*Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center of the Russian Academy of Sciences
52, Nikitsky Descent, Nikita urban-type settlement, Republic of Crimea, 298648, Russian Federation*

²*Humanitarian and Pedagogical Institute, Sevastopol State University (SevSU)
33, Universitetskaya Str., Sevastopol, Republic of Crimea, 299053, Russian Federation*

³*I.M. Sechenov Academic Research Institute of Physical Methods of Treatment, Medical Climatology, and Rehabilitation
10, Mukhina Str., Yalta, Republic of Crimea, 298603, Russian Federation*

⁴*Crimean Republican Institute of Postgraduate Pedagogical Education
15, Lenina Str., Simferopol, Republic of Crimea, 295000, Russian Federation*

⁵*N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (FECIAR UrB RAS)
Nab. Severnoy Dviny, 23, Arkhangelsk, 163069, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To study the relationship between parameters of the impulsivity – reflexivity cognitive style and the level of Internet addiction among high school students.

Materials and methods. 154 students from general education institutions aged 16–17 years were diagnosed using the J. Kagan's reflection – impulsivity test and the Chen Internet Addiction Scale. The one-way analysis of variance was used, followed by post-hoc pairwise comparisons using the Tukey's test.

Results. An inverse relationship between the level of Internet addiction and decision latency in a multiple-choice situation and a direct relationship between the level of Internet addiction and the number of errors in the J. Kagan's reflection – impulsivity test were revealed.

Conclusion. High school students with propensity to Internet addiction tend to have the impulsive cognitive style, while students without such a tendency – the reflective style. In cognitive activity, the impulsive cognitive style is generally less productive than the reflexive one. The impulsive cognitive style is similar to the so-called clip thinking, which allows to consider the relationship between Internet addiction and this phenomenon through the prism of cognitive and style features.

Keywords: Internet addiction, high school students, impulsivity – reflexivity cognitive style

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research, project No. 20-013-00060.

Conformity with the principles of ethics. All individuals signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at N. Laverov Federal Center for Integrated Arctic Research, UB RAS (Protocol No. 3 of 12.02.2020).

For citation: Grigoriev P.E., Galchenko A.S., Poskotinova L.V. Relationship of parameters of the impulsivity – reflexivity cognitive style with propensity to Internet addiction in high school students. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):27–32. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-27-32>.

ВВЕДЕНИЕ

Интернет-зависимость (ИЗ) как явление широко изучается во всем мире [1–3]. Исследуются самые разные аспекты влияния интернет-зависимости на психическое [4] и соматическое здоровье [5], в особенности это касается подростков. Неуклонный рост времени пользования интернетом неумолим в связи с социокультурными цивилизационными процессами, все большим креном обучения и многих видов профессиональной деятельности в среду интернет [6]. Бесконтрольное использование интернета, особенно социальных сетей, просмотр не связанного с профессиональной или образовательной деятельностью контента являются мощным аддиктивным фактором. Интернет-зависимость уже занимает свое место в ряду других аддикций и трудно поддается коррекции [7, 8]. Недавнее репрезентативное российское исследование 3 012 подростков в возрасте 12–18 лет показало, что неадаптивное использование интернета представлено у 43,6% испытуемых, а частота встречаемости интернет-зависимости увеличивается с возрастом [9].

Наряду с ростом интернет-зависимости среди населения все сильнее проявляется феномен так называемого клипового мышления, особенно среди молодого поколения, которое с детства является активным пользователем интернета [10]. Вместе с тем практически не существует общепринятых методик диагностики клипового мышления; варианты его определения также весьма размыты и разнообразны [11, 12]. Однако все исследователи клипового мышления так или иначе признают, что основными его чертами являются: восприятие информации через яркие короткие часто не связанные между собой образы, быстрое переключение с одной темы на другую, необходимость в постоянном обновлении информации, что в совокупности приводит к проблемам с концентрацией внимания, неспособности анализировать информацию и удерживать ее в памяти, непониманию смысла прочитанного, повышенной внушаемости и т.п.

Представляется перспективным исследовать связь интернет-зависимости, в первую очередь, с показателями когнитивного стиля «рефлексивность/импуль-

сивность» [13], поскольку как раз «импульсивные» испытуемые по особенностям когнитивной и эмоционально-волевой сфер, с нашей точки зрения, обнаруживают некое сходство с индивидуумами, которым свойственно клиповое мышление. Особенно актуальна данная задача в отношении старшеклассников [14], которым, с одной стороны, приходится все больше использовать интернет для обучения, с другой – они постоянно сталкиваются с разного рода соблазнами тратить время в Сети на непродуктивную активность, обладающую аддиктивным потенциалом.

Цель исследования – изучить связь между показателями когнитивного стиля «импульсивность/рефлексивность» и степенью интернет-зависимого поведения у старшеклассников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве испытуемых выступили обучающиеся общеобразовательных школ в возрасте 16–17 лет из городов Симферополь (99 человек, 32 юноши и 67 девушек) и Надым (55 человек, 17 юношей и 38 девушек).

В качестве инструментария для диагностики интернет-зависимости использовался тест интернет-зависимого поведения С. Чена в адаптации К.А. Феклисова и В.Л. Малыгина. Параметры когнитивного стиля «импульсивность/рефлексивность» диагностировались с помощью теста Дж. Кагана «Сравнение похожих рисунков». Испытуемому предъявлялись два тренировочных, а затем 12 основных листов, сверху находилось изображение знакомого предмета (фигура-эталон), внизу располагались в два ряда восемь практически идентичных изображений этого же предмета, среди которых лишь одно полностью соответствовало фигуре-эталону. Испытуемый должен был найти и указать изображение, полностью идентичное фигуре-эталону. Фиксировались такие показатели, как среднее время первого ответа по 12 сериям (в секундах) и общее количество ошибок, допущенных в тесте.

Для проверки рядов данных на нормальность распределения применялся критерий Колмогорова – Смирнова. Как для общей выборки, так и для шести сравниваемых подвыборок не было установлено

статистически значимых отклонений рядов данных от нормального распределения (таблица). Для наименьшей выборки, размер которой составлял 20-й вариант, использовался более чувствительный статистический критерий Шапиро – Уилка для проверки на нормальность распределения.

Таблица

Результаты проверки рядов данных на нормальность статистического распределения*		
Выборка	Переменная «время реакции»	Переменная «количество ошибок»
Общая, $n = 154$	K-S $d = 0,090$	K-S $d = 0,082$
ИЗ отсутствует, $n = 52$	K-S $d = 0,086$	K-S $d = 0,110$
Склонность к ИЗ, $n = 82$	K-S $d = 0,130$	K-S $d = 0,094$
Выраженная ИЗ, $n = 20$	S-W $W = 0,94$	S-W $W = 0,98$

* $p > 0,05$.

Поскольку ни в одном из случаев статистическое распределение рядов данных не отличалось от нормального распределения, применялся параметрический метод статистического анализа: однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим применением апостериорного критерия Тьюки для попарных сравнений. Статистическую обработку проводили в программе Statsoft Statistica 13 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сначала был проведен однофакторный дисперсионный анализ переменной «время реакции». Получены высоко статистически значимые различия в распределении уровня признака у подвыборок по критерию Фишера: $F(2, 151) = 10,21$; $p = 0,00007$. Графически результаты анализа представлены на рис. 1.

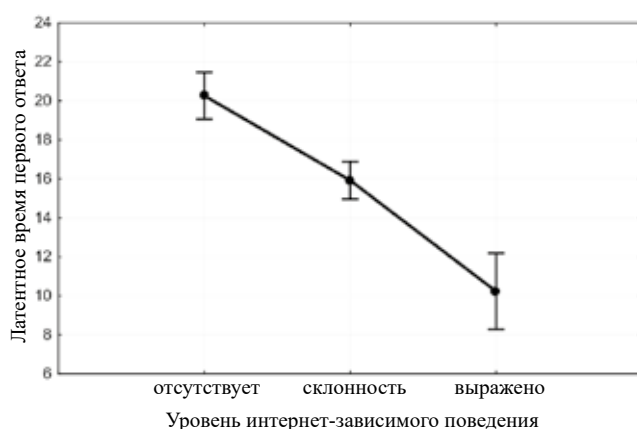


Рис. 1. Результаты однофакторного дисперсионного анализа связи латентного времени первого ответа в тесте Дж. Кагана с уровнем склонности к интернет-зависимому поведению

Наблюдается близкая к обратно пропорциональной связь латентного времени первого ответа (времени реакции) с уровнем склонности к интернет-зависимому поведению. Так, у интернет-независимых испытуемых время реакции составляет $20,27 \pm 1,21$ с, со склонностью – $15,92 \pm 0,96$ с, с выраженной ИЗ – $10,24 \pm 1,96$ с.

Дальнейший анализ статистической значимости с помощью апостериорного критерия Тьюки показал наличие статистически значимых различий между всеми подгруппами:

- 1) между лицами с отсутствием ИЗ и склонностью к ИЗ, $p = 0,013$;
- 2) с отсутствием ИЗ и выраженной ИЗ, $p = 0,000055$;
- 3) со склонностью к ИЗ и выраженной ИЗ, $p = 0,024$.

Таким образом, все градации ИЗ статистически значимо различаются между собой по параметру латентного времени принятия решения и формируют близкий к линейному тренд уменьшения времени латентного ответа по мере увеличения склонности к интернет-зависимому поведению.

Далее проанализируем распределение уровня переменной «количество ошибок» в зависимости от склонности к интернет-зависимому поведению. Получены статистически значимые различия в распределении уровня признака у подвыборок по критерию Фишера: $F(2, 151) = 4,4452$; $p = 0,013$. Графически результаты анализа представлены на рис. 2.

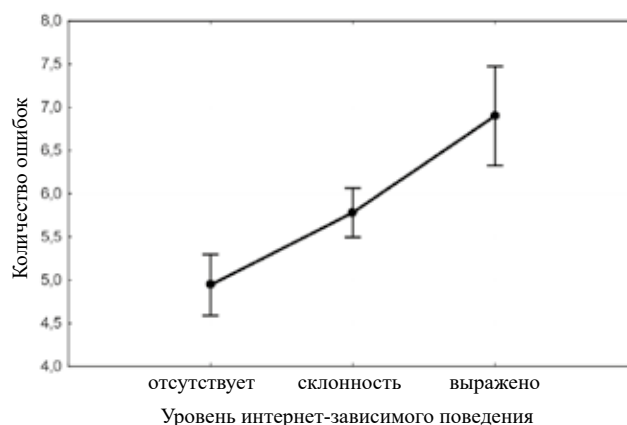


Рис. 2. Результаты однофакторного дисперсионного анализа связи количества ошибок в тесте Дж. Кагана с уровнем склонности к интернет-зависимому поведению

По данной переменной наблюдается близкая к прямо пропорциональной связь количества ошибок с уровнем интернет-зависимого поведения.

Так, у испытуемых без склонности к интернет-зависимому поведению количество ошибок составляет $4,94 \pm 0,36$, со склонностью – $5,78 \pm 0,28$, с выраженной ИЗ – $6,90 \pm 0,57$.

Дальнейший анализ статистической значимости с помощью апостериорного критерия Тьюки показал следующие уровни значимости различий:

1) между лицами с отсутствием интернет-зависимого поведения и склонностью к интернет-зависимому поведению, $p = 0,15$;

2) с отсутствием интернет-зависимого поведения и выраженным интернет-зависимым поведением, $p = 0,010$;

3) со склонностью к интернет-зависимому поведению и выраженным интернет-зависимым поведением, $p = 0,18$.

Статистически значимые различия по параметру «количество ошибок» наблюдаются лишь между полярными типами – интернет-независимых и интернет-зависимых, в то время у промежуточного типа склонных к интернет-зависимому поведению не выявляется статистически значимых различий по параметру количества ошибок от крайних подгрупп по степени интернет-зависимого поведения. Тем не менее несомненно присутствует положительный тренд количества ошибок по мере нарастания интернет-зависимости.

Подводя предварительный итог полученным результатам, можно констатировать, что испытуемые с ИЗ менее точны, но более быстры в принятии решения, что роднит их с импульсивным типом. Напротив, интернет-независимые индивидуумы ближе к рефлексивному типу за счет более длительного обдумывания задания при большей точности ответов.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании получены новые данные о связи интернет-зависимости и параметрах когнитивного стиля «импульсивность/рефлексивность»: чем выше интернет-зависимость, тем быстрее испытуемый принимает решение в ситуации множественного когнитивного выбора, при этом совершая больше ошибок. Наоборот, чем ниже интернет-зависимость, тем дольше испытуемый обдумывает решения, но тем они точнее.

Тест Дж. Кагана не содержит критериев отнесения испытуемых к тому или иному когнитивному стилю, рекомендуется лишь опираться на медианы в конкретной выборке при принятии соответствующего психодиагностического вывода. Однако с точки зрения той же психодиагностики этот подход не является достаточно строгим, поскольку данные от выборки к выборке могут сильно варьировать по самым разным причинам, а популяция для стандартизации должна содержать как минимум на порядок большее количество тестируемых. В то же время наблюдаемые нами тренды показывают, что лица

без склонности к интернет-зависимому поведению явно тяготеют к полюсу «рефлексивности», т.е. допускают относительно мало ошибок, но используют относительно большее время на обдумывание заданий; а лица со выраженным интернет-зависимым поведением, наоборот, допускают больше ошибок при меньшем времени обдумывания.

Природа когнитивных стилей прояснена не полностью. С одной стороны, они связаны с темпераментом, особенностями межполушарной асимметрии, с другой – в определенной степени могут изменяться прижизненно под воздействием культурных, социальных, психологических факторов [14]. Можно встретить мнение, что когнитивные стили устойчивы во времени, характеризуя особенности когнитивной деятельности индивида [15, 16]. Однако имеются обоснованные данные о том, что когнитивные стили формируются прижизненно в процессе активной жизнедеятельности [17]. В [18] дан анализ многочисленных работ о том, что любые когнитивные задачи более эффективно решают именно рефлексивные индивидуумы. Установлены полярные различия между рефлексивными и импульсивными индивидуумами по показателям «эмоциональность» и «активность»: рефлексивные менее эмоциональны и более активны. Импульсивные более эмоциональны и менее активны. Поэтому импульсивные эмоционально проявляют первую спонтанную реакцию в решении задачи, а рефлексивные, обладая большей энергией, прорабатывают дополнительные варианты решения задач вместо того, чтобы интенсивно переживать эмоции [19]. При этом нельзя исключить, что, поскольку лица с импульсивным типом не только принимают решение недостаточно осмысленно, но в целом характеризуются низким самоконтролем [20], они сильнее вовлекаются в интернет-зависимое поведение, чем лица с большей рефлексивностью.

Интернет-зависимость является мощным фактором влияния на когнитивные процессы, в том числе и на уровне мозга [21], а результаты нашего исследования позволяют предположить, что степень ИЗ может так или иначе влиять на когнитивные стили. Это еще больше заостряет проблему интернет-зависимости и требует от специалистов разных профилей активного включения в ее решение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Степень склонности к интернет-зависимому поведению связана с характеристиками когнитивного стиля «импульсивность/рефлексивность». По параметрам теста Дж. Кагана испытуемым с выраженной интернет-зависимостью свойственно меньшее время на принятие решения в когнитивной задаче при

большем количестве ошибок, а «интернет-независимым» – большее время на принятие решение при меньшем количестве ошибок. При этом испытуемые со склонностью к интернет-зависимому поведению занимают промежуточное положение и по параметрам теста Дж. Кагана. Полученные результаты в некоторой степени служат проявлению феномена клипового мышления (быстрого, поверхностного, эмоционального, неаналитического), связывая его как со степенью интернет-зависимости, так и дрейфом в сторону импульсивного когнитивного стиля.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ромашкина Г.Ф., Хузахметов Р.Р. Риски интернет-зависимости: структура и особенности восприятия. *Образование и наука*. 2020;22(8):108–134. DOI: 10.17853/1994-5639-2020-8-108-134.
2. Khudhair A.S. Internet addiction. *Scholars Journal of Medical Case Reports*. 2020;8(4):505–507. DOI: 10.36347/sjmcr.2020.v08i04.025.
3. Korkeila J. Internetiippuvuus – milloin haitalliseen käyttöön pitää puuttua? *Duodecim*. 2012;128(7):741–748.
4. Савкина Т.О., Слободская Е.Р. Интернет и психическое здоровье подростков. *Бюллетень СО РАМН*. 2010;30(6):29–34.
5. Güzel N., Kahveci I., Solak N., Cömert M., Turan F. Internet addiction and its impact on physical health. *Turkish Medical Student Journal*. 2018;5:32–36. DOI: 10.4274/tmsj.2018.05.03.0002.
6. Duong X.L., Liaw S.Y., Augustin J.L. How has internet addiction been tracked over the last decade? A literature review and 3C paradigm for future research. *Int. J. Prev. Med.* 2020;11:175. DOI: 10.4103/ijpvm.IJPVM_212_20.
7. Villella C. Behavioural addictions in adolescents and young adults: results from a prevalence study. *Journal of Gambling Studies*. 2011;27(2):203–214. DOI: 10.1007/s10899-010-9206-0.
8. Widianto L., Griffiths M. 'Internet Addiction': A Critical Review. *International Journal Mental Health Addict.* 2006;4(1):31–51. DOI: 10.1007/s11469-006-9009-9.
9. Эверт Л.С., Терещенко С.Ю., Зайцева О.И., Семенова Н.Б., Шубина М.В. Интернет-зависимость у подростков Центральной Сибири: анализ распространенности и структура потребляемого контента. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(4):189–197. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-4-189-197.
10. Петрова Е.И. Дети и компьютер. *Философские проблемы информационных технологий и киберпространства*. 2012;1(3):133–141.
11. Пендикова И.Г. Клиповое и концептуальное мышление как разные уровни процесса мышления. *Омский научный вестник. Серия «Общество. История. Современность»*. 2016;1:53–56.
12. Березовская И.П. Проблема методологического обоснования концепта «клиповое мышление». *Общество. Коммуникация. Образование*. 2015;2(220):133–138. DOI: 10.5862/JHSS.220.15.
13. Холодная М.А. Психологический статус когнитивных стилей: предпочтения или «другие» способности? *Психологический журнал*. 1996;17(1):61–69.
14. Bleakley A., Park S., Romer D. Internet addiction. Treating and preventing adolescent mental health disorders: what we know and what we don't know (2 ed.). 2017:585–598. DOI: 10.1093/med-psych/9780199928163.003.0028.
15. Шкуратова И.П. Когнитивный стиль и общение. Ростов н/Д: Изд-во РГПУ, 1994: 156.
16. Корнилова Т.В., Скотникова И.Г., Чудина Т.В., Шурина О.И. Когнитивный стиль и факторы принятия решения в ситуации неопределенности. Когнитивные стили; под ред. В.А. Колги. Тезисы научно-практического семинара. Tallin: ТПИ, 1986:99–103.
17. Witkin H.A., Goodenough D.R. Cognitive styles: essence and origins. Field dependence and field independence. *Psychol. Issues*. 1981;51:1–141.
18. Баландина Л.Л. Особенности проявления когнитивного стиля «импульсивность–рефлексивность» и его взаимосвязь с интеллектом и личностными характеристиками дошкольников. *Вестник ПГПУ. Сер. № 1. Психологические и педагогические науки*. 2015;1:55–65.
19. Либин А.В. Дифференциальная психология: На пересечении европейских, российских и американских традиций. М.: Смысл: Per Se, 2000:549.
20. Феофилатова К.Д. Диагностический инструментарий исследования когнитивных стилей. *Вопросы студенческой науки*. 2017;8(8):45–48.
21. Ginige P. Internet addiction disorder. May 24th 2017. URL: <https://www.intechopen.com/books/child-and-adolescent-mental-health/internet-addiction-disorder> (дата обращения: 08.05.2021). DOI: 10.5772/66966.

Информация об авторах

Григорьев Павел Евгеньевич – д-р биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, лаборатория фитореабилитации человека, НБС – ННЦ РАН, пгт Никита; профессор, Гуманитарно-педагогический институт, СевГУ, г. Севастополь; вед. науч. сотрудник, научно-исследовательский отдел физиотерапии, медицинской климатологии и курортных факторов, АНИИ им. И.М. Сеченова, г. Ялта, mhnty@ya.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7390-9109>

Гальченко Анна Сергеевна – ученый секретарь, КРИППО, г. Симферополь, asg.7@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2068-895X>

Поскотинова Лилия Владимировна – д-р биол. наук, доцент, гл. науч. сотрудник, зав. лабораторией биоритмологии, Институт физиологии природных адаптаций, ФИЦКИА УРО РАН, г. Архангельск, liliya200572@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7537-0837>

(✉) **Григорьев Павел Евгеньевич**, mhnty@ya.ru

Поступила в редакцию 11.05.2021;
одобрена после рецензирования 10.06.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.379-008.64:616.633.962.3
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-33-40>

Маркеры почечного повреждения, липидного обмена и карбонильного стресса у пациентов с сахарным диабетом I типа и разным уровнем альбуминурии

Даренская М.А., Чугунова Е.В., Колесников С.И., Гребенкина Л.А., Семенова Н.В., Никитина О.А., Колесникова Л.И.

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (НЦ ПЗСРЧ)
Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение уровня подокаликсина, β -2-микроглобулина, показателей липидного обмена и карбонильного стресса у пациентов с сахарным диабетом (СД) I типа и разным уровнем альбуминурии.

Материалы и методы. Проведено обследование 56 мужчин репродуктивного возраста с СД I типа, разделенных на две группы: 24 пациента с альбуминурией стадии A1 (группа A1) и 32 – с альбуминурией стадии A2 (группа A2). Контрольную группу составили 28 здоровых мужчин. Оценивался уровень почечных маркеров, компонентов липидного обмена и метилглиоксала (МГ) с использованием иммуноферментных, спектрофотометрических и флюорометрических методов.

Результаты. Установлены более высокие значения медиан общего холестерина, триацилглицеридов и липопротеидов очень низкой плотности в обеих группах с СД I типа. В данных группах отмечались также повышенные значения медианы подокаликсина и основного показателя карбонильного стресса – МГ. Проведенный корреляционный анализ в группе A1 показал наличие зависимости уровня скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и креатинина. В группе A2 отмечались связи общепринятых показателей почечного повреждения (соотношения альбумин/креатинин и СКФ) с длительностью заболевания, показателя СКФ с уровнем креатинина и МГ. Уровень подокаликсина в данной группе коррелировал с уровнем β 2-микроглобулина, МГ, показателей липидного обмена; β 2-микроглобулин имел взаимосвязи с параметрами липидного обмена.

Заключение. У мужчин с СД I типа вне зависимости от уровня альбуминурии отмечаются значительно более высокий уровень подокаликсина, увеличенные показатели липидного обмена и МГ, а также наличие тесных взаимосвязей между этими параметрами, что может быть использовано для разработки потенциальных стратегий профилактики и ранней терапии диабетической нефропатии.

Ключевые слова: сахарный диабет I типа, мужчины, альбуминурия, подокаликсин, β -2-микроглобулин, карбонильный стресс, липиды

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственной бюджетной темы ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» «Патофизиологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах» № 121022500180-6.

Соответствие принципам этики. Все участники подписали сформированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НЦ ПЗСРЧ (протокол № 8.2 от 2.11.2018).

✉ Даренская Марина Александровна, marina_darenskaya@inbox.ru

Для цитирования: Даренская М.А., Чугунова Е.В., Колесников С.И., Гребенкина Л.А., Семенова Н.В., Никитина О.А., Колесникова Л.И. Маркеры почечного повреждения, липидного обмена и карбонильного стресса у пациентов с сахарным диабетом I типа и разным уровнем альбуминурии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):33–40. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-33-40>.

Markers of kidney injury, lipid metabolism, and carbonyl stress in patients with type 1 diabetes and different levels of albuminuria

Darenskaya M.A., Chugunova E.V., Kolesnikov S.I., Grebenkina L.A., Semyonova N.V., Nikitina O.A., Kolesnikova L.I.

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems
16, Timiryazeva Str., Irkutsk, 664003, Russian Federation

ABSTRACT

The **aim** of this work was to study the levels of podocalyxin and β -2-microglobulin and parameters of lipid metabolism and carbonyl stress in type 1 diabetes mellitus (T1DM) patients with different levels of albuminuria.

Materials and methods. 56 men of reproductive age with T1DM were divided into two groups: 24 patients with stage A1 albuminuria (group A1) and 32 patients with stage A2 albuminuria (group A2). The control group consisted of 28 healthy men. The levels of renal function markers, lipid metabolism parameters, and methylglyoxal were assessed using enzyme immunoassay and spectrophotometric and fluorometric methods.

Results. Higher values for total cholesterol, triacylglycerol, and very-low-density lipoprotein medians in both groups A1 and A2 were found. In these groups, increased podocalyxin and methylglyoxal medians were revealed. Correlation analysis in the group A1 showed the presence of a relationship between the glomerular filtration rate (GFR) and creatinine. In the group A2, correlations between the generally accepted parameters of kidney injury (the albumin / creatinine ratio and GFR) and the duration of the disease and between GFR and the creatinine and methylglyoxal levels in the blood were identified. The podocalyxin level in this group correlated with the β 2-microglobulin and methylglyoxal levels and lipid metabolism parameters. The level of β 2-microglobulin correlated with the lipid metabolism parameters.

Conclusion. Regardless of the level of albuminuria, men with T1DM had significantly increased levels of podocalyxin, lipid metabolism parameters, and methylglyoxal, as well as strong relationships between these parameters. The data of this study can be used for development of potential strategies for prevention and early treatment of diabetic nephropathy.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, men, albuminuria, podocalyxin, β -2-microglobulin, carbonyl stress, lipids

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out within the state budget theme of the Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems “Pathophysiological mechanisms and genetic and metabolic predictors of maintaining reproductive health and longevity in various age, gender, and ethnic groups” No. 121022500180-6.

Conformity with the principles of ethics. All participants signed an informed consent to take part in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (Protocol No. 8.2 of 02.11.2018).

For citation: Darenskaya M.A., Chugunova E.V., Kolesnikov S.I., Grebenkina L.A., Semyonova N.V., Nikitina O.A., Kolesnikova L.I. Markers of kidney injury, lipid metabolism, and carbonyl stress in patients with type 1 diabetes and different levels of albuminuria. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):33–40. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-33-40>.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) считается крайне актуальной проблемой современности по причине развития многочисленных осложнений. Важное место в их числе принадлежит диабетической нефропатии (ДН), которая приводит к ранней инвалидизации и летальности больных [1, 2]. Частота встречаемости ДН среди пациентов с СД I типа составляет 20,1% [3]. Диабетическая нефропатия представлена комплексом поражений артерий, артериол, клубочков и канальцев почек, часто приводит к развитию диффузного или узелкового гломерулосклероза, а впоследствии – к развитию хронической почечной недостаточности [4].

Диабетическая нефропатия развивается вследствие множества факторов, среди которых выделяют метаболические (гипергликемия, гиперлипидемия) и гемодинамические [2, 4]. Прогрессированию ДН способствуют плохой гликемический контроль и наследственная предрасположенность [1]. Гипергликемия может оказывать негативное влияние на почечные структуры посредством ряда факторов: активацию сорбитолового пути метаболизма глюкозы, увеличение синтеза диацилглицерола, накопление в тканях продуктов неферментативного гликозилирования белков и липидов и т.д. [5, 6]. Классически принято выделять несколько стадий развития ДН, однако, установлено, что изменения в тканях почек у пациентов с СД имеют место уже в условиях нормальной экскреции альбумина с мочой [7]. По данной причине особенно актуальным становится выяснение механизмов, способствующих ранним изменениям почечных структур при СД. В данный момент выделены основные группы новых потенциальных почечных маркеров: тубулярные маркеры, маркеры повреждения подоцитов, факторы роста, иммуновоспалительные факторы, продукты обмена внеклеточного матрикса, позволяющие прогнозировать развитие ДН с высокой специфичностью и чувствительностью [8].

Карбонильный стресс – это состояние, которое сопровождается ростом содержания карбонильных соединений, таких как альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, углеводы и т.д. Большая часть соединений данной природы, это альдегиды – малоновый диальдегид, 4-гидроксинonenаль, глиоксаль, метилглиоксаль (МГ), акролеины и т.д. [9]. В большинстве своем реакции, в которых происходит синтез альдегидов, протекают с участием свободных радикалов либо связаны с использованием продуктов свободно-радикального окисления, что обуславливает тесную причинно-следственную взаимосвязь между

карбонильным и окислительным стрессом [10]. В настоящее время доказано, что карбонильные соединения в условиях СД могут длительно накапливаться в организме. В совокупности с дополнительными патогенетическими механизмами это приводит к развитию серьезных дисрегуляторных процессов в почках [11, 12].

Несмотря на имеющиеся исследования, до сих пор недостаточно знаний о взаимосвязях различных факторов почечного повреждения и показателей карбонильного стресса в условиях развития СД I типа. В связи с этим целью исследования явилось изучение уровня подокаликсина, β -2-микроглобулина, показателей липидного обмена и карбонильного стресса у пациентов с СД I типа и разным уровнем альбуминурии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы данные 56 пациентов с СД I типа молодого репродуктивного возраста (средний возраст $30,25 \pm 8,51$ года), имеющих неудовлетворительный гликемический профиль. Данная группа в соответствии с последней классификацией была разделена на две подгруппы: пациенты с уровнем альбуминурии A1 (первая группа) ($n = 26$, средний возраст $29,38 \pm 9,78$ года) и пациенты с уровнем альбуминурии A2 (вторая группа) ($n = 32$, средний возраст $30,88 \pm 7,54$ года) [13]. По длительности заболевания, уровню гликозилированного гемоглобина (HbA1c), гликемическому профилю средние показатели данных групп не отличались между собой ($p > 0,05$).

Обследование пациентов включало комплексную оценку клинических и лабораторных данных. Производилась оценка гликемического профиля (глюкоза крови натощак, постпрандиальный уровень глюкозы – через 2 ч после еды). Концентрацию HbA1c определяли с помощью метода жидкостной ионообменной высокоэффективной хроматографии на анализаторе D-10 (Bio-Rad, США). При диагностике использовали методы оценки ранних повреждений почек (расчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ), определение содержания альбумина, соотношения альбумин/креатинин в моче). Содержание альбумина и соотношения альбумин/креатинин в моче определялось на биохимическом анализаторе SYNCHRON CX9 PRO (Beckman Coulter, США) иммунотурбидиметрическим методом. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывалась по формуле СКД–EPI (мл/мин/1,73 м²).

Материалом исследования служили сыворотка и моча. Уровень подокаликсина в моче определяли иммуноферментным методом с помощью коммерче-

ского набора Podocalyxin ELISA Kit (США), уровень β -2-микроглобулина в моче – с помощью коммерческого набора Beta-2-microglobulin (БиоХимМак, Россия). Содержание общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХСЛПВП) и триацилглицеридов (ТАГ) в сыворотке крови определяли с использованием коммерческих наборов Bio Systems (Испания). Измерения производили на биохимическом анализаторе SYNCHRON CX9 PRO (BECKMAN COULTER, США). Уровень холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХСЛПОНП) вычисляли с помощью формулы $\text{ХСЛПОНП} = \text{ТАГ}/2,2$; холестерина липопротеидов низкой плотности (ХСЛПНП) по формуле $\text{ХСЛПНП} = \text{ОХС} - (\text{ХСЛПВП} + \text{ХСЛПОНП})$. Содержание показателя карбонильного стресса – МГ в сыворотке крови определяли с помощью коммерческого набора Human Methylglyoxal ELISA Kit (США). Иммуноферментный анализ осуществляли на микропланшетном ридере MultiSkan ELX808 (BioTek, США).

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (г. Иркутск).

Для статистической обработки полученных результатов применялся пакет программ Statistica 8,0 (StatSoft Inc., США). На первом этапе производили определение нормальности распределения признаков (визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка). Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью критерия Фишера (F-test). Далее, вследствие отличия выборки от нормального распределения, использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Для представления результатов приводили описательные статистики: медиану и интерквартильный размах $Me [Q_1-Q_3]$. Для корреляционного анализа использовался метод Спирмена. Критический уровень значимости принимался за 5% ($p = 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ содержания липидов в сыворотке крови у пациентов с СД I типа в группах с различным уровнем альбуминурии представлен в табл. 1.

Согласно полученным данным, в группе A1 зафиксированы более высокие значения медианы ОХС ($p = 0,005$), ТАГ ($p = 0,007$) и ХСЛПОНП ($p = 0,007$) относительно контроля (см. табл. 1). Группа A2 отличалась от контрольных значений также более высокими показателями ОХС ($p = 0,001$), ТАГ ($p = 0,022$), ХСЛПОНП ($p = 0,022$). В отношении

остальных показателей статистически значимых различий в исследуемых группах не выявлено ($p > 0,05$) (см. табл. 1).

Таблица 1

Содержание липидов в сыворотке крови у больных с СД I типа с различным уровнем альбуминурии, $Me [Q_1-Q_3]$			
Показатель, ммоль/л	Контрольная группа	Группа A1	Группа A2
ОХС	4,21 [3,74–4,58]	4,6 [4,15–5,18]*	4,65 [4,15–5,5]*
ТАГ	0,66 [0,47–0,93]	1 [0,8–1,55]*	1,2 [0,8–1,8]*
ХСЛПВП	1,28 [1,00–1,4]	1,39 [1,1–1,5]	1,3 [1–1,7]
ХСЛПНП	2,47 [2,22–2,99]	2,44 [1,96–2,86]	2,37 [1,98–2,9]
ХСЛПОНП	0,3 [0,21–0,42]	0,46 [0,36–0,71]*	0,55 [0,36–0,82]*

* Здесь и табл. 2 статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$).

Далее в группах A1 и A2 измерялись уровни экскреции с мочой маркеров почечного повреждения (рис. 1). Установлены более высокие значения подокаликсина в группах A1 ($p = 0,003$) и A2 ($p = 0,004$). Значимых различий в отношении β 2-микроглобулина не выявлено ($p > 0,05$).

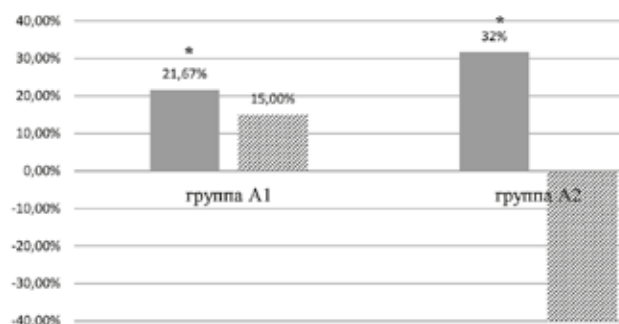


Рис. 1. Уровень экскреции с мочой подокаликсина и β -микроглобулина у больных СД I типа с различным уровнем альбуминурии, %; * статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$). Значения контроля взяты за 0%

В таблице 2 представлены результаты оценки концентрации основного показателя карбонильного стресса – МГ в сыворотке крови у пациентов с СД I типа. Обнаружено, что у пациентов группы A1 в сравнении с контролем отмечаются более высокие значения медианы метилглиоксала ($p = 0,031$). В группе A2 зафиксированы подобные различия ($p < 0,001$) в сравнении с контролем.

Таблица 2

Концентрация МГ, нг/мл, в сыворотке крови у больных с СД I типа и различным уровнем альбуминурии, $Me [Q_1-Q_3]$		
Контрольная группа	Группа A1	Группа A2
2,14 [1,02–3,67]	3,24 [2,6–3,51]*	3,46 [2,9–4,21]*

Корреляционный анализ, проведенный в группе А1, показал наличие единственной взаимосвязи СКФ с креатинином ($r = -0,79$; $p = 0,0001$). Группа А2 характеризовалась взаимосвязями длительности заболевания и соотношения альбумин/креатинин ($r = 0,47$; $p = 0,018$), показателя СКФ с уровнем креатинина в крови ($r = -0,44$; $p = 0,027$) и уровнем МГ ($r = 0,64$; $p = 0,043$). Уровень подокаликсина в данной группе находился в зависимости от уровня другого почечного маркера – $\beta 2$ -микроглобулина ($r = 0,47$; $p = 0,018$), а также от уровня МГ ($r = 0,52$; $p = 0,008$). Кроме того, подокаликсин обнаруживал зависимости с показателями липидного обмена – ОХС ($r = 0,42$; $p = 0,036$), ТАГ ($r = 0,41$; $p = 0,04$), ХСЛПОНП ($r = 0,41$; $p = 0,04$); $\beta 2$ -микроглобулин имел взаимосвязи с ОХС ($r = 0,52$; $p = 0,007$), ТАГ ($r = 0,42$; $p = 0,035$), ХСЛПОНП ($r = 0,42$; $p = 0,035$). В группе А2 отмечались также многочисленные зависимости параметров липидного обмена между собой и с остальными показателями: ОХС – ТАГ ($r = 0,62$; $p = 0,001$), ОХС – ЛПОНП ($r = 0,62$; $p = 0,001$), ТАГ – ХСЛПОНП ($r = -0,6$; $p = 0,002$), ХСЛПОНП – ХСЛПОНП ($r = -0,6$; $p = 0,002$), ХСЛПВП – креатинин ($r = -0,43$; $p = 0,032$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка содержания липидов в сыворотке крови в исследуемых группах показала незначительный рост ОХС, ТАГ и ХСЛПОНП в группах А1 и А2. В настоящее время гиперлипидемия рассматривается как отдельный серьезный фактор прогрессирования ДН вследствие прямой взаимосвязи комплексных липидных нарушений с процессом формирования гломерулосклероза [4, 14]. В нашем исследовании значительных изменений в содержании липидов в обеих группах не наблюдалось, хотя определенная тенденция имеется. В качестве отдельно нефротоксического фактора гиперлипидемия стала рассматриваться совсем недавно, при этом проведена четкая параллель между процессами гломерулосклероза и атеросклерозом сосудов [15]. Выяснено, что окисленные липопротеины низкой плотности, ростовые факторы и цитокины увеличивают синтез компонентов мезангиального матрикса, ускоряя склерозирование клубочков, что способствует прогрессированию ДН [4].

Анализ уровня экскреции с мочой подокаликсина и β -микроглобулина в исследуемых группах показал наличие статистически значимых изменений только в отношении подокаликсина. Нами отмечено, что экскреция его с мочой была повышена в обеих группах относительно контроля, при этом в группе А2 – более интенсивно. Подокаликсин представляет собой специфический белок, экспрессирующийся

на поверхности подоцитов [16]. Экспериментальные исследования на моделях формирования ДН показали, что повреждение подоцитов играет ведущую роль в нарушениях проницаемости фильтрационного барьера и развитии гломерулосклероза, при этом происходит значительное сливание подоцитов в мочевое пространство [17].

В настоящее время убедительно доказана связь между количеством подоцитов в моче и почечными заболеваниями – нефропатией, системным нефритом, фокальным сегментарным гломерулосклерозом и др. [18]. Данный показатель отражает повреждения клубочкового аппарата почек, при этом происходит усиленное выделение подоцитов с мочой [19]. Исследования ряда авторов показали, что подоцитурия развивается у 74% больных с нормоальбуминурией и 54% с микроальбуминурией, с одинаковой частотой при I и II типах СД [20]. Указанные данные свидетельствуют в пользу того, что подоциты при СД повреждаются гораздо раньше нарушений проницаемости почечного фильтра, т.е. проходит две стадии альбуминурии [21]. Таким образом, наши данные подтверждают ранее проведенные исследования о росте этого показателя у больных с ДН [19, 20].

В отношении другого показателя – β -микроглобулина, в обеих группах значимых изменений не выявлено. Данный параметр характеризует повреждение почечных канальцев, и, таким образом, можно констатировать, что ярко выраженных изменений подобного рода у больных выявлено не было.

В отношении показателя карбонильного стресса – МГ у мужчин с СД I типа отмечались повышенные значения как в группе А1, так и в группе А2. Метилглиоксаль относится к карбонильным соединениям, предшественникам гликотоксинов, формирующихся в результате неферментативной реакции Майяра [10, 12, 22]. Так, в условиях хронической гипергликемии отмечается значительный рост содержания внутриклеточной глюкозы, активируются патологические пути ее метаболических превращений наряду с недостаточной утилизацией [6]. Данные процессы совместно с реакциями окислительного стресса приводят к образованию стабильных продуктов Амадори из обратимых нестабильных оснований Шиффа. Продукты Амадори в ходе реакций превращаются во флуоресцентные протеины, гликотоксины, так называемые конечные продукты гликирования (КПГ).

Выяснено, что последние накапливаются, медленно разлагаются и сохраняются в течение длительного времени в сосудистом русле, даже при условии дальнейшей стабилизации уровня глюкозы – механизм «метаболической памяти» [12, 23]. Конечные

продукты гликирования участвуют в сшивке длительно живущих белков, что способствует жесткости сосудистой стенки [23]. Показана их роль в модификации митохондриальных белков, соответственно, нарушении функции митохондрий, гиперпродукции свободных радикалов [10]. В связи с этим МГ рассматривают в качестве важного биомаркера диабетических осложнений из-за его близкой связи с процессами гликирования, дисфункцией β -клеток, инсулинорезистентностью [24]. Установлено, что количество КПП прямо пропорционально связано с уровнем глюкозы в крови, даже умеренное ее повышение приводит к росту КПП.

Метилглиоксаль считается наиболее реакционным среди КПП вследствие его прямого участия в нарушении секреции и функции инсулина, а также процессах передачи сигналов. Имеются данные о том, что собственный рецептор КПП – RAGE, имеющийся на поверхности клеток, может служить важной мишенью терапевтического воздействия при наличии хронической болезни почек у больных СД, его блокада приводила к замедлению прогрессирования сосудистых осложнений [22]. Так, у мышей с нокаутом рецепторов к КПП отмечалось меньше функциональных повреждений почечных структур [23]. Также было выяснено, что увеличение уровня КПП тесно связано с различными структурно-функциональными изменениями, характерными для диабетической нефропатии, в частности с таким показателем, как СКФ [12, 22]. Считают также, что формирование митохондриальных КПП является необратимым феноменом, лежащим в основе механизма «метаболической памяти» через образование активных форм кислорода, что, в свою очередь, может способствовать развитию повреждающих эффектов в ДНК митохондрий и подавлению функционирования дыхательной цепи [24, 25].

Таким образом, повышение концентрации МГ в крови пациентов с СД I типа и начальным уровнем альбуминурии может служить неблагоприятным признаком развития СД, в условиях же А2 – отражением потенциальной роли карбонильного стресса в развитии ДН. При проведении корреляционного анализа в группе с начальным уровнем альбуминурии была обнаружена закономерная взаимосвязь СКФ с креатинином. В условиях развития второй стадии альбуминурии отмечались связи общепринятых показателей почечного повреждения (соотношения альбумин/креатинин и СКФ) с длительностью заболевания. Подокаликсин обнаруживал тесную связь с МГ, что может указывать на весомый вклад гликотоксинов в ме-

ханизмы повреждения почек при развитии альбуминурии.

Данный факт подтверждался и выявленной взаимосвязью метилглиоксала с СКФ. Хотя по средним значениям изменений в отношении β -микроглобулина в группе А2 не отмечалась связь данного показателя с подокаликсином, что свидетельствует о сходстве их действия в разных отделах почечного аппарата. Обращает на себя внимание сходство зависимостей подокаликсина и β -микроглобулина с содержанием липидов (ОХС, ТАГ и ХСЛПОНП), что, вероятно, может быть обусловлено значительным вкладом указанных компонентов в прогрессирование ДН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно констатировать, что у мужчин с СД I типа отмечается увеличение подокаликсина, свидетельствующего о повреждениях клубочкового аппарата почек, а также регистрируется развитие карбонильного стресса. Данные нарушения касаются и стадии А1, когда ярко выраженных изменений функционирования почечных структур еще не происходит. Это подтверждает мнение о том, что даже на ранних стадиях заболевания создаются условия для активизации негативных факторов и прогрессирования диабетических осложнений. Это может быть использовано для разработки потенциальных стратегий профилактики и терапии развития диабетической нефропатии.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Selby N.M., Taal M.W. An updated overview of diabetic nephropathy: diagnosis, prognosis, treatment goals and latest guidelines. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2020;22:3–15. DOI: 10.1111/dom.14007.
2. Рыжикова Ю.А., Ворожцова И.Н., Саприна Т.В., Завадовская В.Д., Меринов А.Б., Кулагина И.В. Характеристика сердечной формы белка, связывающего жирные кислоты, интерлейкинов-6 и -8 как альтернативных маркеров прогрессирования диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа. *Бюллетень сибирской медицины*. 2015;14(5):61–72. DOI: 10.20538/1682-0363-2015-5-61-72.
3. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., Шамхалова М.Ш., Никонова Т.В., Сухарева О.Ю., Пекарева Е.В. и др. Сахарный диабет I типа у взрослых. *Сахарный диабет*. 2020;23(S1):42–112. DOI: 10.14341/DM23S1.
4. Жариков А.Ю., Щекочихина Р.О. Диабетическая нефропатия. Современный взгляд на проблему. *Бюллетень медицинской науки*. 2018;2(10):24–31.
5. Vodošek Hojs N., Bevc S., Ekart R., Hojs R. Oxidative stress markers in chronic kidney disease with emphasis on diabetic nephropathy. *Antioxidants*. 2020;9(10):925. DOI: 10.3390/antiox9100925.

6. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. Окислительный стресс: патогенетическая роль в развитии сахарного диабета и его осложнений, терапевтические подходы к коррекции. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021;171(2):136–149. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-136-149.
7. Шестакова М.В. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: возможности прогнозирования, ранней диагностики и нефропротекции в XXI веке. *Сахарный диабет*. 2016;6:84–88. DOI: 10.17116/terarkh201688684-88.
8. Kolesnikova L.I., Chugunova E.V., Darenkaya M.A., Grebenkina L.A. Modern markers of renal damage in diabetes mellitus *International Journal of Biomedicine*. 2020;10(1):9–15. DOI: 10.21103/Article10(1)_RA1.
9. Давыдов В.В., Божков А.И. Карбонильный стресс как неспецифический фактор патогенеза (обзор литературы и собственных исследований). *Журнал Національної академії медичних наук України*. 2014;20(1):25–34.
10. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Konovalova G.G., Odinkova O.A., Doroshuk N.A., Chazova I.E. Oxidative and carbonyl stress as a factors of the modification of proteins and DNA destruction in diabetes. *Ter. Arkh.* 2018;90(10):46–50. DOI: 10.26442/terarkh201890104-50.
11. Hirakawa Y., Tanaka T., Nangaku M. Mechanisms of metabolic memory and renal hypoxia as a therapeutic target in diabetic kidney disease. *Journal of Diabetes Investigation*. 2017;8(3):261–271. DOI: 10.1111/jdi.12624.
12. Черников А.А., Северина А.С., Шамхалова М.Ш., Шестакова М.В. Роль механизмов «метаболической памяти» в развитии и прогрессировании сосудистых осложнений сахарного диабета. *Сахарный диабет*. 2017;20(2):126–134. DOI: 10.14341/7674.
13. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом; под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. 9-й выпуск (дополненный). *Сахарный диабет*. 2019;22 (S1):212. DOI: 10.14341/DM221S1.
14. Sagoo M.K., Gnudi L. Diabetic nephropathy: an overview. *Diabetic Nephropathy*. 2020;2067:3–7. DOI: 10.1007/978-1-4939-9841-8_1.
15. Lassén E., Daehn I.S. Molecular mechanisms in early diabetic kidney disease: glomerular endothelial cell dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(24):9456. DOI: 10.3390/ijms21249456.
16. Лебедева Н.О., Викулова О.К. Маркеры доклинической диагностики диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом I типа. *Сахарный диабет*. 2012;2:38–45.
17. Shankland S.J. Podocyte's response to injury: role in proteinuria and sclerosis. *Kidney Int.* 2006;69(12):2131–2147. DOI: 10.1038/sj.ki.5000410.
18. Campbell K.N., Tumlin J.A. Protecting podocytes: a key target for therapy of focal segmental glomerulosclerosis. *American Journal of Nephrology*. 2018;47(1):14–29. DOI: 10.1159/000481634.
19. Wang R., Yao C., Liu F. Association between Renal Podocalyxin Expression and Renal Dysfunction in Patients with Diabetic Nephropathy: A Single-Center, Retrospective Case-Control Study. *BioMed Research International*. 2020;2020:7350781. DOI: 10.1155/2020/7350781.
20. Щукина А.А., Бобкова И.Н., Шестакова М.В., Викулова О.К., Зураева З.Т., Михалева О.В. Экскреция с мочой маркеров повреждения подоцитов у больных сахарным диабетом. *Терапевтический архив*. 2015;87(10):62–66. DOI: 10.17116/terarkh2015871062-66.
21. Lioudaki E., Stylianou K.G., Petrakis I., Kokologiannakis G., Passam A., Mikhailidis D.P. et al. Increased urinary excretion of podocyte markers in normoalbuminuric patients with diabetes. *Nephron*. 2015;131(1):34–42. DOI: 10.1159/000438493.
22. Ларина И.И., Северина А.С., Шамхалова М.Ш., Егорова Д.Н., Никанкина Л.В., Сазонова Н.И. и др. Осложнения хронической болезни почек у пациентов с сахарным диабетом I типа после сочетанной трансплантации почки и поджелудочной железы-потенциальная роль окислительного стресса и конечных продуктов гликирования. *Сахарный диабет*. 2019;22(5):405–416. DOI: 10.14341/DM10312.
23. Rabbani N., Thornalley P.J. The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2014;63(1):50–52. DOI: 10.2337/db13-1606.
24. Hirakawa Y., Tanaka T., Nangaku M. Mechanisms of metabolic memory and renal hypoxia as a therapeutic target in diabetic kidney disease. *Journal of Diabetes Investigation*. 2017;8(3):261–271. DOI: 10.1111/jdi.12624.
25. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(4):16–29. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29.

Вклад авторов

Даренская М.А. – концепция и дизайн исследования, статистическая обработка и анализ результатов, написание и редактирование текста. Чугунова Е.В. – обследование пациентов, сбор и обработка клиничко-лабораторных данных, анализ статистических данных, написание текста статьи. Колесников С.И. – концепция и дизайн исследования, анализ результатов, написание и окончательное редактирование текста статьи. Гребенкина Л.А. – сбор и обработка клиничко-лабораторных данных. Семенова Н.В. – анализ результатов, сбор и обработка клиничко-лабораторных данных. Никитина О.А. – получение, сбор и обработка клиничко-лабораторных данных. Колесникова Л.И. – концепция и дизайн исследования, анализ результатов, написание и редактирование текста статьи. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Информация об авторах

Даренская Марина Александровна – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория патофизиологии, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, marina_darenskaya@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Чугунова Елена Владимировна – аспирант, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2546-6320>

Колесников Сергей Иванович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, гл. науч. сотрудник, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Гребенкина Людмила Анатольевна – д-р биол. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатория патофизиологии, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

Семенова Наталья Викторовна – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория патофизиологии, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Никитина Ольга Андреевна – канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория патофизиологии, НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1926-9694>

Колесникова Любовь Ильинична – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, науч. руководитель НЦ ПЗСРЧ, г. Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

(✉) Даренская Марина Александровна, marina_darenskaya@inbox.ru

Поступила в редакцию 10.09.2021;
одобрена после рецензирования 20.09.2021;
принята к публикации 24.12.2021

УДК 616.98:578.834.1]-06:616.153
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-41-47>

Постковидный синдром ассоциирован с повышением внеклеточных пуриновых оснований и нейтрофильных экстраклеточных ловушек в плазме крови

Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ларина В.Н., Рыжих А.А.

Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

РЕЗЮМЕ

Постковидный синдром характеризуется высокой утомляемостью, снижением толерантности к физической нагрузке, болями в мышцах и суставах, наличием психоэмоциональных проблем. В развитии генерализованной реакции организма при вирусном инфицировании большое значение имеют аномальные реакции защитных систем. Мы исследовали нейтрофилы и формируемые ими экстраклеточные ловушки (НЭЛ) совместно с продуктами деградации волокон ДНК (пуриновые азотистые основания, ПАО), а также традиционные клинико-лабораторные показатели.

Цель. Определение ряда лабораторных показателей, а также количества НЭЛ и уровня ПАО в периферической крови больных с постковидным синдромом.

Материалы и методы. В исследование включены амбулаторные пациенты ($n = 21$) в возрасте 18–59 лет (36 [27÷50]). Группу сравнения составили 20 лиц в возрасте 18–59 лет (38,5 [29÷51,5]) без перенесенной коронавирусной инфекции. Всем пациентам проводились сбор жалоб, оценка анамнеза, физикальный осмотр, определение НЭЛ и ПАО в венозной крови.

Результаты. Легкое течение заболевания в анамнезе имелось у 11, среднетяжелое – у 7, тяжелое – у 3 пациентов. Наиболее частыми симптомами в нашей группе обследованных пациентов были слабость, головная боль, боль в эпигастрии, головокружение, боль в суставах. Более редкими симптомами являлись выпадение волос и одышка. Концентрация НЭЛ и ПАО была выше в основной группе, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). Мы выявляли НЭЛ у больных с постковидным синдромом только в нитевидной форме. Концентрация внеклеточных пуриновых азотистых оснований в плазме крови больных с постковидным синдромом была наиболее высокой у больных со среднетяжелым и тяжелым течением острого периода. У больных, перенесших острый период заболевания в легкой форме, концентрация ПАО составляет 7,38 [0,0÷60,7] мг/мл, а у больных со среднетяжелой и тяжелой формой острого периода – 19,15 [0,0÷33,5] и 34,19 [3,35÷70,0] мг/мл соответственно.

Заключение. В периферической крови больных с постковидным синдромом обнаруживаются внеклеточные ПАО в концентрации, способной вызвать вторичную альтерацию клеток. Постковидный синдром сопровождался формированием в периферической крови больных НЭЛ в нитевидной форме.

Ключевые слова: постковидный синдром, внеклеточные пуриновые азотистые основания, нейтрофильные экстраклеточные ловушки, ковид-19, патогенез

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 203 от 21.12.2021).

✉ Казимирский Александр Николаевич, alnica10@mail.ru

Для цитирования: Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ларина В.Н., Рыжих А.А. Постковидный синдром ассоциирован с повышением внеклеточных пуриновых оснований и нейтрофильных экстраклеточных ловушек в плазме крови. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):41–47. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-41-47>.

Post-COVID syndrome is associated with increased extracellular purine bases and neutrophil extracellular traps in the blood plasma

Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Larina V.N., Ryzhikh A.A.

Pirogov Russian National Research Medical University

1, Ostrovityanova Str., 117997, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Post-COVID syndrome is characterized by fatigue, reduced exercise tolerance, muscle and joint pain, and psycho-emotional disorders. In the development of a generalized body response in a viral infection, abnormal defense responses are of great importance. We studied neutrophils, neutrophil extracellular traps (NETs), DNA degradation products (purine nitrogenous bases, PNBs), and traditional biochemical parameters.

Aim. To determine biochemical parameters and the number of NETs and PNBs in the peripheral blood of patients with post-COVID syndrome.

Materials and methods. The study included outpatients ($n = 21$) aged 18–59 years (36 [27 ÷ 50]). The control group consisted of 20 individuals aged 18–59 years (38.5 [29 ÷ 51.5]) without a past medical history of the coronavirus infection. All patients underwent a physical examination, their medical history was assessed, and the level of NETs and PNBs in the venous blood was determined.

Results. 11 patients had a mild form of the disease in their past medical history, 7 – moderate, and 3 – severe. The most common symptoms in the patients were fatigue, headache, epigastric pain, dizziness, and joint pain. Hair loss and dyspnea were less common. The concentration of NETs and PNBs was higher in the patients with post-COVID syndrome than in the control group ($p < 0.05$). We detected NETs in the patients with post-COVID syndrome only in the form of filamentous structures. The concentration of extracellular purine bases in the blood of the patients with post-COVID syndrome was the highest in patients with moderate and severe acute periods. In patients with a mild acute period, the concentration of PNBs was 7.38 [0.0 ÷ 60.7] mg / ml, and in patients with moderate and severe acute periods – 19.15 [0.0 ÷ 33.5] and 34.19 [3.35 ÷ 70.0] mg / ml, respectively.

Conclusion. Extracellular purine bases in concentrations capable of causing secondary alteration of cells are found in the peripheral blood of patients with post-COVID syndrome. Post-COVID syndrome is accompanied by the formation of filamentous NETs in the blood of patients.

Keywords: post-COVID syndrome, extracellular purine bases, neutrophil extracellular traps, COVID-19, pathogenesis

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved the Ethics Committee at the Pirogov Russian National Research Medical University (Protocol No. 203 of 21.12.2021).

For citation: Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Larina V.N., Ryzhikh A.A. Post-COVID syndrome is associated with increased extracellular purine bases and neutrophil extracellular traps in the blood plasma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):41–47. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-41-47>.

ВВЕДЕНИЕ

Постковидный синдром – симптомокомплекс, который наблюдается у 20% людей, перенесших коронавирусную инфекцию (COVID-19). Больные с постковидным синдромом страдают от головных болей, астении, артралгий, последствий поражения внутренних органов (легких, сердца, желудочно-кишечного тракта, кожи) и нейропсихопатологических расстройств. Патологические проявления постковидного синдрома сохраняются в течение 3 мес и более после перенесенной коронавирусной инфекции. Синдром диагностируется клинически с учетом предшествующего инфекционного анамнеза. Некоторые исследователи выделяют «постковид» и «лонг-ковид», считая первый осложнением излеченного COVID-19, а второй – хронической персистенцией вируса SARS-CoV-2 в организме. Патогенез постковидного синдрома неясен и слабо изучен. Этиология постковидного синдрома непосредственно связана с перенесенной коронавирусной инфекцией. Предполагается, что в патогенезе постковидного синдрома могут быть значимы: остаточное воспаление, длительная персистенция вируса SARS-CoV-2 в скрытых очагах, образование аутоантител и социальная изоляция.

Вместе с тем есть некоторые основания считать, что проявления постковидного синдрома связаны с повышенной концентрацией внеклеточных пуриновых азотистых оснований (ПАО) и формированием нейтрофильных экстраклеточных ловушек (НЭЛ), приводящим к развитию иммуно-тромботических нарушений.

Цель исследования состояла в сопоставлении клинико-лабораторных показателей, количества нейтрофильных экстраклеточных ловушек, внеклеточных ПАО в периферической крови больных с постковидным синдромом в зависимости от степени тяжести перенесенной коронавирусной инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В открытое сравнительное исследование включены 21 амбулаторный пациент в возрасте 18–59 лет (36 [27÷50]). Критерии включения: возраст 18–59 лет, лица мужского и женского пола, подтвержденный диагноз COVID-19 в анамнезе; тяжелое, среднетяжелое, легкое течение COVID-19; период времени – не ранее 1 мес, но не позднее 12 нед (3 мес) с момента появления первых симптомов COVID-19. Критерии исключения: возраст 60 лет и старше; крайне тяжелое течение COVID-19; наличие хронических заболеваний, несовместимых с жизнью или ожидаемая продолжительность жизни менее 1 года; бессимптомные носители инфекции (или имевшие контакт,

но не заболевшие). Группу сравнения (контроль) составили 20 лиц в возрасте 18–59 лет (38,5 [29÷51,5]) без перенесенной коронавирусной инфекции, обратившиеся к врачу-терапевту поликлиники для прохождения диспансеризации.

Всем пациентам проводились сбор жалоб, оценка анамнеза, физикальный осмотр. Диагноз COVID-19 в анамнезе подтверждался при наличии ранее проведенного положительного результата лабораторного исследования на наличие РНК SARS-CoV-2 с применением методов амплификации нуклеиновых кислот или антигена SARS-CoV-2 с применением иммунохроматографического анализа вне зависимости от клинических проявлений или при положительном результате на антитела класса иммуноглобулин (Ig) A, IgM и (или) IgG у пациентов с клинически подтвержденной инфекцией COVID-19. Для оценки выраженности проявлений заболевания использовали принятые критерии.

Легкое течение инфекции характеризовалось наличием у пациента температуры тела не выше 38 °С, кашля, слабости, боли в горле. Среднетяжелое течение: повышение температуры тела выше 38 °С, частота дыхательных движений более 22/мин, одышка при физических нагрузках, типичные для вирусного поражения изменения при компьютерной томографии (КТ) или рентгенографии легких (объем поражения минимальный или средний; КТ 1–2), насыщение крови кислородом (SpO_2) менее 95%, повышение уровня С-реактивного белка выше 10 мг/л. Тяжелое течение: при частоте дыхательных движений более 30/мин, $SpO_2 \leq 93\%$, $PaO_2/FiO_2 \leq 300$ мм рт. ст., наличие нестабильной гемодинамики (систолическое артериальное давление менее 90 мм рт. ст. или диастолическое артериальное давление менее 60 мм рт. ст., диурез менее 20 мл/ч). Объем поражения легких значительный или субтотальный (КТ 3–4). Данные о степени тяжести течения заболевания были получены на основании истории болезни пациентов, выписных эпикризов и амбулаторных карт.

Биохимические показатели крови больных и пациентов из группы сравнения определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Olympus 5800 (JP, Olympus Corporation, США) по стандартным методикам с использованием реагентов производителя на базе клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ Москвы «ДКЦ № 1 ДЗМ». Исследование было одобрено 21.12.2021 на заседании этического комитета при РНИМУ им. Н.И. Пирогова № 203. От каждого пациента было получено информированное согласие на добровольное участие в исследовании. Исследование проводилось на базе ГБУЗ «Диагностический клинический центр № 1 Департамента здравоохранения города Москвы» на клинической базе кафедры

поликлинической терапии, а также на кафедре патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России.

Помимо традиционных клинических лабораторных исследований в работе были использованы два новых лабораторных метода: определение количества НЭЛ и уровня ПАО в плазме крови.

Определение содержания нейтрофильных экстраклеточных ловушек

Получение клеточных фракций. В исследовании использовали клеточные фракции нейтрофилов. Венозную кровь (10 мл) больных помещали в силиконизированную пробирку с ЭДТА для предотвращения свертывания. Для выделения нейтрофилов из венозной крови, обработанной ЭДТА, кровь разводили в 2 раза натрий-фосфатным буферным раствором, рН 7,4, и наслаивали на двойной градиент плотности стерильных растворов фиколла-верографина. Плотность верхнего слоя градиента составляла 1,077, нижнего – 1,190. После центрифугирования (1 600 об/мин, 30 мин) на границе между градиентами появлялось кольцо гранулоцитов с чистотой 98–100%, эритроциты при этом осаждались на дно пробирки. Кольцо нейтрофильных гранулоцитов отбирали, переносили в пробирки для центрифугирования, дважды отмывали от примесей фиколла буферным раствором, используя центрифугирование для осаждения клеток (1 200 об/мин, 15 мин). Стерильно выделенные нейтрофилы переносили в среду RPMI-1640 и использовали в экспериментах по культивированию. Жизнеспособность выделенных нейтрофилов составляла не менее 95%, которую определяли в тесте с 0,1%-м раствором трипанового синего.

Иммунофлуоресцентное окрашивание нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Для обнаружения и подсчета НЭЛ использовали флуоресцентную микроскопию. Методика является авторской, и подробно представлена в заявке на Патент РФ № 2021104936. Результаты выражали в процентах как отношение количества НЭЛ к общему количеству нейтрофилов. Для выявления НЭЛ использовали флуоресцентный краситель Syber Green (Евроген, Россия) специфически связывающийся с двухцепочечной ДНК.

Определение пуриновых азотистых оснований

Метод основан на реакции взаимодействия ПАО с азотнокислым серебром с образованием окрашенного соединения. Плазму крови больных и пациентов из группы сравнения подвергали высокооборотному центрифугированию 20 000g в течение 30 мин и хранили при –26 °С. Экстракцию пуриновых азотистых оснований из плазмы крови проводили с помо-

щью хлороформа. Для этого к 0,5 мл плазмы крови добавляли 2 мл хлороформа и подвергали обработке на виброплатформе в течение 1 ч при комнатной температуре. Хлороформ (1 мл) с растворенными в нем ПАО отбирали, и пробы высушивали в вакуумном испарителе. Сухой осадок, содержащий пуриновые азотистые основания, растворяли в 3 мл 10%-го раствора NaOH и добавляли 500 мкл 5%-го раствора AgNO₃, приготовленного на 10%-м водном растворе аммиака. В результате реакции развивалось светло-коричневое окрашивание. Пробы фотометрировали при длине волны 610 нм. Для построения калибровочной кривой использовали аденин (Sigma, США). Калибровочный график был линейен в диапазоне 0–10 мг/мл.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакетов программ Statistica 12.0 (StatSoft, Inc., США). Описательная статистика представлена в виде непрерывных количественных данных: в виде среднего значения и стандартной ошибки ($M \pm m$) при нормальном распределении, в виде медианы и межквартильного размаха ($Me [25\div 75]$), если распределение отличалось от нормального. Сравнение количественных признаков проводили по ранговому *U*-критерию Манна – Уитни и данным дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наиболее частыми симптомами в нашей группе обследованных пациентов были слабость, головная боль, боль в эпигастрии, головокружение, боль в суставах. Более редкими симптомами – выпадение волос и одышка. В подобном исследовании у группы постковидных больных выявили наиболее часто встречающиеся симптомы: слабость, миалгии, головные боли и симптомы вегетативных нарушений [1]. Авторы предполагают, что эта симптоматика наиболее характерна для постковидного синдрома, она не требует специфического лечения и, возможно, связана с микроангиопатией и повреждением эндотелия.

В группе больных с постковидным синдромом мы регистрировали достоверное увеличение активности ферментов аланинаминотрансферазы, гамма-глутамилтранспептидазы и щелочной фосфатазы в 1,7; 2,1 и 3,7 раза соответственно. Найденные изменения свидетельствуют о развитии механизмов гепатотоксичности, но не позволяют получить полноценные представления о патогенезе постковидного синдрома.

Наиболее значительные изменения у больных с постковидным синдромом мы регистрировали при исследовании НЭЛ и ПАО плазмы крови.

Исследование НЭЛ у больных с постковидным синдромом показывает, что они формируются в виде тонких одиночных нитей значительной длины. Размеры нитей ДНК превышают несколько десятков клеточных диаметров. Особенность нейтрофильных экстраклеточных ловушек у больных с постковидным синдромом состоит в том, что сетевидную структуру эти волокна ДНК не формируют и к захвату с последующей ретракцией апоптозирующих клеток не способны (рис. 1–3).

В наших предыдущих исследованиях мы установили зависимость морфологической структуры НЭЛ от вида воспаления. Формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек в виде одиночных нитей ядерной ДНК (см. рис. 2, 3) свидетельствует о развитии асептического воспалительного процесса у больных.

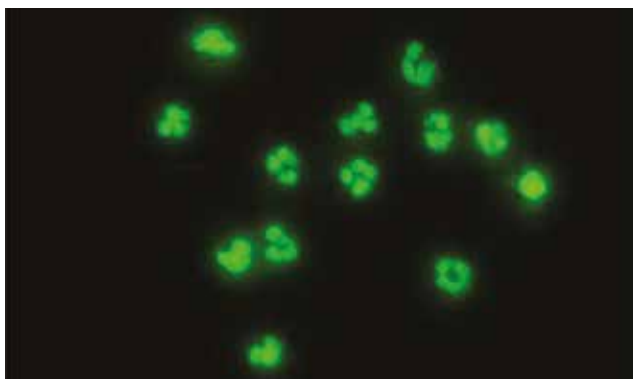


Рис. 1. Интактные нейтрофилы здоровых доноров

Численность НЭЛ у больных с постковидным синдромом в целом невелика, но постоянно воспроизводится на протяжении весьма длительного промежутка времени (3 мес и более). Результаты по количественному определению содержания НЭЛ у больных с постковидным синдромом в зависимости от тяжести перенесенного заболевания приведены в таблице.



Рис. 2. Начальные этапы формирования НЭЛ при постковидном синдроме; выброс одиночной нити ядерной ДНК из клеточного ядра; инкубация нейтрофилов 30 мин

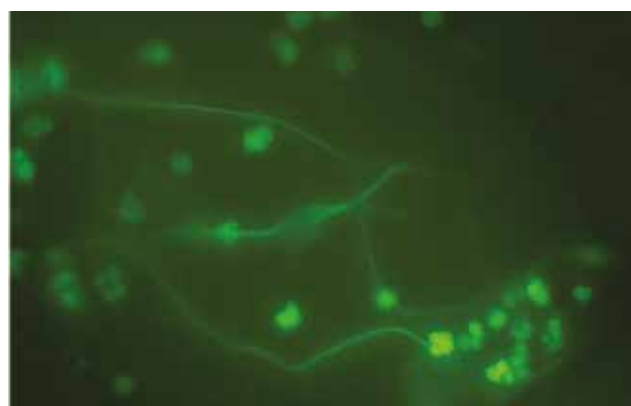


Рис. 3. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки при постковидном синдроме; инкубация нейтрофилов 4 ч

Наши исследования показали, что численность НЭЛ в постковидном периоде была увеличена у больных, перенесших коронавирусную инфекцию в среднетяжелой форме, по сравнению с больными с легким течением заболевания в среднем в 2,6 раза. При этом у больных с тяжелым течением заболевания в анамнезе нейтрофильные экстраклеточные ловушки вообще не определялись (см. таблицу).

Таблица

Нейтрофильные экстраклеточные ловушки и внеклеточные пуриновые азотистые основания у больных с постковидным синдромом, перенесших острый период заболевания в легкой, среднетяжелой и тяжелой форме, <i>Me</i> [25÷75], <i>M</i> ± <i>m</i>				
Показатель	Группа сравнения, <i>n</i> = 20	Больные с постковидным синдромом, <i>n</i> = 21		
		Легкая форма, <i>n</i> = 11	Среднетяжелая форма, <i>n</i> = 7	Тяжелая форма, <i>n</i> = 3
Нейтрофильные экстраклеточные ловушки, %	0,00	0,00 [0,00÷1,31]* 0,61 ± 0,23	0,00 [0,00÷0,56]* 1,61 ± 1,52	0,00
Внеклеточные пуриновые азотистые основания, мг/мл	0,00	7,38 [0,0÷60,7]* 23,27 ± 8,9	19,15 [0,0÷33,5]* 22,89 ± 8,36	34,19 [3,35÷70,0]* 35,84 ± 19,25

**p* < 0,05 по сравнению с группой контроля (по данным дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса).

Мы предполагаем, что формирование НЭЛ в нитевидной форме у больных с постковидным синдромом является одной из причин существенного увеличения концентрации внеклеточных пуриновых

азотистых оснований в плазме крови. Тонкие нити ДНК разрушаются под действием ДНКаз, локализованных на хроматине. Особенность ядерных ДНКаз – повышение их уровня активации при деспирализации

ции хроматина, которое происходит при формировании сетей нейтрофильных ловушек. Взаимодействие ДНКаз с деконденсированным хроматином ведет к накоплению нуклеотидов в межклеточном пространстве. Эктоферменты CD39 и CD73, локализованные на клетках крови и эндотелия, катализируют гидролиз нуклеотидов до азотистых оснований и могут вызывать увеличение концентрации внеклеточных пуриновых азотистых оснований. Исследования сыворотки крови пациентов с COVID-19 показали повышенный уровень внеклеточной ДНК, а также специфические маркеры НЭЛ [2].

Получены данные, что на клетках крови больных повышена активность ферментов, катализирующих гидролиз внеклеточных нуклеотидов до свободных азотистых оснований [3]. Наши результаты показывают, что концентрация внеклеточных пуриновых азотистых оснований в плазме крови больных с постковидным синдромом была увеличена пропорционально тяжести перенесенного заболевания (см. таблицу, рис. 4).

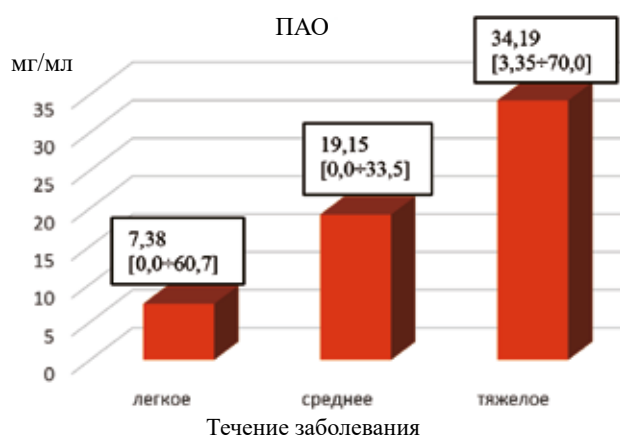


Рис. 4. Внеклеточные пуриновые азотистые основания (ПАО) у больных с постковидным синдромом, перенесших заболевание в легкой, среднетяжелой и тяжелой форме, мг/мл, Ме [25÷75]

ОБСУЖДЕНИЕ

Молекулярные индукторы запуска формирования НЭЛ в настоящее время неизвестны. Однако установлено, что этот процесс сопровождается и, возможно, инициируется компонентами патогенных микроорганизмов, активированными тромбоцитами, белками системы комплемента, аутоантителами, «провоспалительными» цитокинами. НЭЛ принимают участие в тромбообразовании и окклюзии микроциркуляторного русла за счет активации контактного пути свертывания крови, посредством электростатических взаимодействий между гистоновыми белками и фосфолипидами тромбоцитов, разрушения антитромбина III НЭЛ-нейтрофильными эластазами, индукции

синтеза интерлейкина 1 β . Активация последнего и тромбоцитов приводит к усилению формирования НЭЛ, а увеличение содержания его компонентов (внеклеточная ДНК, комплекс ДНК-миелопероксидаза, цитруллинированный гистон H3) в сыворотках пациентов с COVID-19 коррелирует с тяжестью заболевания и развитием тромботических нарушений [2, 4, 5].

Проводя настоящее исследование, мы выявляли НЭЛ у больных с постковидным синдромом только в нитевидной форме. Никаких иных морфологических вариантов НЭЛ у обследуемых больных не обнаружено. При этом у больных с тяжелым течением заболевания НЭЛ отсутствуют. При этом концентрация внеклеточных ПАО в плазме крови больных с постковидным синдромом была увеличена пропорционально повышению тяжести заболевания. У больных, перенесших коронавирусную инфекцию в тяжелой форме, в постковидном периоде НЭЛ отсутствуют, но мы предполагаем, что нитевидные сети из волокон ДНК продуцируют иные клетки крови. Поэтому увеличение концентрации внеклеточных ПАО у больных с постковидным синдромом пропорционально повышению тяжести перенесенного заболевания представляется весьма закономерным и непротиворечивым.

Внеклеточные пуриновые азотистые основания токсичны для организма, однако механизм их повреждающего действия неизвестен. Экспериментальные модели на животных с хроническим адениновым питанием показали, что происходит быстрое развитие заболевания почек с обширным тубулоинтерстициальным фиброзом, атрофией канальцев, образованием кристаллов и выраженной кальцификацией сосудов, а также сердечно-сосудистых нарушений [6–9].

Ишемия миокарда значительно увеличивает активность эктоферментов CD39 и CD73, локализованных на поверхности тромбоцитов, катализирующих внеклеточный гидролиз адениловых нуклеотидов до аденина, у больных после перенесенного инфаркта миокарда. В результате у больных повышается уровень внеклеточного аденина и тропонина [10].

Мы наблюдали стойкое увеличение концентрации внеклеточных пуриновых оснований у больных с постковидным синдромом (более 3 мес) и предполагаем, что они являются эндогенным источником повреждающего воздействия в патогенезе постковидного периода (факторами вторичной альтерации), особенно у лиц с сонливостью, болью в суставах, головной болью, слабостью и выпадением волос. Мы считаем, что в основе астенического синдрома, который сохранялся более чем у половины пациен-

тов трудоспособного возраста в постковидном периоде, лежит стойкая и продолжительная повышенная продукция внеклеточных ПАО, действующих в качестве повреждающего фактора. Результаты нашего исследования актуализируют уточнение причин существенного длительного повышения концентрации внеклеточных ПАО при постковидном синдроме.

ВЫВОДЫ

1. В периферической крови больных с посткоронавирусным синдромом обнаруживаются внеклеточные пуриновые азотистые основания в концентрации, способной вызвать вторичную альтерацию клеток.

2. Постковидный синдром сопровождается формированием в периферической крови больных нейтрофильных экстраклеточных ловушек в нитевидной форме.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Davido B., Seang S., Tubiana R., de Truchis P. Post-COVID-19 chronic symptoms: a postinfectious entity? *Clin. Microbiol. Infect.* 2020;26(11):1448–1449. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.07.028.
2. Zuo Y., Yalavarthi S., Shi H., Gockman K., Zuo M., Madison J.A. et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight.* 2020;5(11):e138999. DOI: 10.1172/jci.insight.138999.
3. Ahmadi P., Hartjen P., Kohsar M., Kummer S., Schmiedel S., Bockmann J.H. et al. Defining the CD39/CD73 axis in SARS-CoV-2 infection: the CD73-phenotype identifies polyfunctional cytotoxic lymphocytes. *Cells.* 2020;9(8):1750. DOI: 10.3390/cells9081750.
4. Насонов Е.Л., Бекетова Т.В., Решетняк Т.М., Лиля А.М., Ананьева Л.П., Лисицина Т.А. и др. Коронавирусная болезнь 2019 (COVID-19) и иммуновоспалительные ревматические заболевания: на перекрестке проблем тромбовоспаления и аутоиммунитета. *Научно-практическая ревматология.* 2020;58(4):353–367. DOI: 10.47360/1995-4484-2020-353-367.
5. Bautista-Becerril B., Campi-Caballero R., Sevilla-Fuentes S., Hernández-Regino L.M., Hanono A., Flores-Bustamante A. et al. Immunothrombosis in COVID-19: Implications of neutrophil extracellular traps. *Biomolecules.* 2021;11(5):694. DOI: 10.3390/biom11050694.
6. Molnar J.J., Riede U.N., Widmer A., Rohr H.P. Adenine-induzierte Leberparenchymzellschädigung [Adenine induced liver parenchymal cell injury]. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 1970;54:524–530. (In Germ.).
7. Riede U.N., Widmer A.E., Bianchi L., Molnar J., Rohr H.P. Ultrastrukturell-morphometrische Untersuchungen an der Rattenleberparenchymzelle nach akuter Adeninintoxikation [Ultrastructural-morphometric study on rat liver parenchymal cells in acute adenine poisoning]. *Pathol. Eur.* 1971;6(1):1–18. (In Germ.).
8. Diwan V., Brown L., Gobe G.C. Adenine-induced chronic kidney disease in rats. *Nephrology (Carlton).* 2018;23(1):5–11. DOI: 10.1111/nep.13180.
9. Dos Santos I.F., Sheriff S., Amlal S., Ahmed R.P.H., Thakar C.V., Amlal H. Adenine acts in the kidney as a signaling factor and causes salt- and water-losing nephropathy: early mechanism of adenine-induced renal injury. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2019;316(4):F743–F757. DOI: 10.1152/ajprenal.00142.2018.
10. Lavall M.C., Bagatini M.D., Thomé G.R., Bonfanti G., Moretto M.B., De Oliveira L.Z. et al. Extracellular hydrolysis of adenine nucleotides and nucleoside adenosine is higher in patients with ST elevation than non-ST elevation in acute myocardial infarction. *Clin. Lab.* 2015;61(7):761–767. DOI: 10.7754/clin.lab.2014.141136.

Вклад авторов

Порядин Г.В., Ларина В.Н. – концепция и дизайн исследования. Рыжих А.А., – сбор и обработка материала. Казимирский А.Н. – подготовка иллюстративного материала, написание текста статьи. Панина М.И. – статистическая обработка материала. Салмаси Ж.М. – редактирование.

Информация об авторах

Казимирский Александр Николаевич – д-р биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, отдел молекулярных технологий, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, alnica10@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3079-4089>

Салмаси Жан Мустафаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, profjms@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8524-0019>

Порядин Геннадий Васильевич – чл.-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, poryadin_GV@rsmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2010-3296>

Панина Марина Ивановна – д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, pan-mar@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7651-0037>

Ларина Вера Николаевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой поликлинической терапии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, larinav@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7825-5597>

Рыжих Алина Александровна – аспирант, кафедра поликлинической терапии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, alina.alinamedic@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0673-5775>

(✉) **Казимирский Александр Николаевич**, alnica10@mail.ru

Поступила в редакцию 17.01.2022;
одобрена после рецензирования 04.03.2022;
принята к публикации 10.03.2022

УДК 616.921.5-036.11:616.21-002-056.43]-08
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-48-59>

Интерфероны альфа и гамма, пидотимод и тилорон в лечении острых респираторных инфекций у пациентов с аллергическим ринитом: проспективное когортное клиничко-иммунологическое исследование

Калюжин О.В.¹, Понежева Л.О.¹, Турапова А.Н.², Нуртазина А.Ю.¹, Быков А.С.¹, Караулов А.В.¹

¹Первый Московский государственный медицинский университет (МГМУ) им. И.М.Сеченова (Сеченовский Университет)

Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2

²Центральный научно-исследовательский институт (ЦНИИ) эпидемиологии

Россия, 111123, Россия, г. Москва, ул. Новогиреевская, 3а

РЕЗЮМЕ

Цель – сравнить клиническую эффективность и влияние на выработку и рецепцию интерферонов (ИФН) препаратов с иммуноопосредованным противовирусным действием, потенцирующих иммунный ответ 1-го типа (Т1), в лечении острых респираторных инфекций (ОРИ) у пациентов с аллергическим ринитом.

Материалы и методы. Больные ОРИ ($n = 146$) с сезонным аллергическим ринитом в стадии ремиссии распределены на четыре когорты. Помимо симптоматической терапии пациенты получали либо 2 000 МЕ ИФН- γ в каждый носовой ход 5 раз/сут; либо ректальные свечи, содержащие 10^6 МЕ ИФН- $\alpha 2b$ и антиоксиданты (АО), 2 раза/сут и гель с ИФН- $\alpha 2b$ и АО интраназально 3 раза/сут; либо 400 мг пидотимода *per os* 2 раза/сут; либо 125 мг тилорона *per os* в 1, 2, 4 и 6-е сут. Выраженность клинических проявлений ОРИ определяли ежедневно по сумме 10-балльных оценок 15 симптомов. Концентрации ИФН- α и ИФН- γ в сыворотке крови и способность клеток крови вырабатывать эти цитокины *ex vivo* спонтанно и при стимуляции вирусом болезни Ньюкасла или фитогемагглютинином изучали с помощью иммуноферментного анализа. Доли циркулирующих лимфоцитов, экспрессирующих субъединицу-2 рецептора ИФН I типа (CD118) или α -цепь рецептора ИФН- γ (CD119), определяли методом проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Симптомы ОРИ во всех когортах регрессировали в целом сходным образом. Однако пидотимод с 5-х сут лечения купировал симптомы эффективнее других препаратов, а на фоне приема тилорона регрессия проявлений ОРИ задерживалась в первые 2–3 сут, после чего симптомы быстро угасали. Обнаружено исходное снижение индуцированной продукции ИФН- γ у пациентов, подлежащих лечению пидотимодом, и тенденция к уменьшению этого показателя в других когортах. После лечения индуцированная выработка ИФН- γ во всех группах не отличалась от таковой у здоровых доноров. Не установлено существенной динамики и отличий между группами по долям CD118⁺- и CD119⁺-лимфоцитов, за исключением снижения количества CD118⁺-клеток на фоне приема тилорона. Лечение ИФН- $\alpha 2b$ с АО вызывало незначительную тенденцию к увеличению доли CD119⁺- и CD118⁺-лимфоцитов.

Заключение. Препараты, поляризующие иммунный ответ в направлении Т2→Т1, являются полезной опцией в лечении ОРИ у больных с аллергическим ринитом.

Ключевые слова: острые респираторные инфекции, интерферон гамма, интерферон альфа-2b, антиоксиданты, пидотимод, тилорон, рецепторы интерферонов, иммунный ответ 1-го типа

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим ЦНИИ эпидемиологии (протокол № 79 от 15.12.2017).

Для цитирования: Калюжин О.В., Понежева Л.О., Турапова А.Н., Нуртазина А.Ю., Быков А.С., Караулов А.В. Интерфероны альфа и гамма, пидотимод и тилорон в лечении острых респираторных инфекций у пациентов с аллергическим ринитом: проспективное когортное клинико-иммунологическое исследование. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):48–59. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-48-59>.

Interferons alpha and gamma, pidotimod, and tilorone in the treatment of acute respiratory infections in patients with allergic rhinitis: a prospective, cohort clinical and immunological study

Kalyuzhin O.V.¹, Ponezheva L.O.¹, Turapova A.N.², Nurtazina A.Yu.¹, Bykov A.S.¹, Karaulov A.V.¹

¹*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)
8/2, Trubetskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation*

²*Central Research Institute of Epidemiology
3a, Novogireevskaya Str., Moscow, 111123, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To compare the clinical efficacy and influence on interferon (IFN) production / sensing of drugs with immune-mediated antiviral effects, which potentiate type 1 (T1) immune responses, in the treatment of acute respiratory infections (ARI) in patients with allergic rhinitis.

Materials and methods. 146 ARI patients with remission of seasonal allergic rhinitis were divided into 4 cohorts. In addition to symptomatic therapy, patients received either 2,000 IU of IFN γ in each nasal passage 5 times a day; or rectal suppositories containing 10⁶ IU of IFN- α 2b and antioxidants (AO) twice a day, and a gel with IFN- α 2b and AO intranasally 3 times a day; or 400 mg of pidotimod *per os* twice a day; or 125 mg of tilorone *per os* on days 1, 2, 4, and 6. The severity of ARI was determined daily as the sum of 10-point scores for 15 symptoms. Serum concentrations of IFN α and IFN γ and the ability of blood cells to produce these cytokines *ex vivo* spontaneously and upon stimulation with Newcastle disease virus or phytohemagglutinin were studied using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The proportions of circulating lymphocytes expressing type I IFN receptor subunit 2 (CD118) or IFN γ receptor α -chain (CD119) were determined by flow cytometry.

Results. ARI symptoms in all cohorts generally regressed in a similar way. However, from day 5 of the treatment, pidotimod relieved symptoms more effectively than other drugs. In patients treated with tilorone, the regression of ARI manifestations was delayed in the first two to three days, followed by rapid symptom reduction. An initial decrease in the induced production of IFN γ was found in patients treated with pidotimod, and a tendency to a decrease in this parameter was noted in other cohorts. The induced production of IFN γ after the treatment in all groups did not differ from that in healthy donors. No significant changes and differences in the proportions of CD118⁺ and CD119⁺ lymphocytes were found between the cohorts, except for a decrease in the number of CD118⁺ cells after the treatment with tilorone. In patients treated with IFN- α 2b + AO, the proportions of CD119⁺ and CD118⁺ lymphocytes tended to increase slightly.

Conclusion. Drugs that promote the development of T1 over T2 immune responses are a useful option for treating ARI in patients with allergic rhinitis.

Keywords: acute respiratory infections, interferon gamma, interferon alpha-2b, antioxidants, pidotimod, tilorone, interferon receptors, type 1 immune responses

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Central Research Institute of Epidemiology (Protocol No. 79 of 15.12.2017).

For citation: Kalyuzhin O.V., Ponezheva L.O., Turapova A.N., Nurtazina A.Yu., Bykov A.S., Karaulov A.V. Interferons alpha and gamma, pidotimod, and tilorone in the treatment of acute respiratory infections in patients with allergic rhinitis: a prospective, cohort clinical and immunological study. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):48–59. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-48-59>.

ВВЕДЕНИЕ

Лечение острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) во многом остается объектом дискуссий ученых и врачей. Подавляющее большинство используемых и разрабатываемых этиотропных и патогенетических лекарственных средств в этом плане далеки от статуса «золотого стандарта», особенно когда речь идет о терапии ОРВИ у больных сопутствующими аллергическими заболеваниями дыхательных путей. Аллергические болезни и респираторные инфекции имеют ряд общих и (или) взаимоусиливающих звеньев патогенеза. Гистамин, лейкотриены, простагландины, многие цитокины и хемокины являются медиаторами как аллергического, так и инфекционного воспаления [1–5].

Развитие аллергического ринита и наиболее распространенных фенотипов других аллергических заболеваний дыхательных путей связано с преобладанием второго типа (Т2) иммунного ответа [6, 7]. Вместе с тем риновирус человека, респираторно-синциальный вирус (РСВ) и некоторые другие возбудители ОРВИ являются Т2-поляризаторами иммунных реакций [8, 9]. Риновирусы человека серотипов А и В используют для входа в клетку молекулу адгезии ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) [10], повышение экспрессии которой является важным звеном патогенеза респираторных аллергических заболеваний [11, 12]. Кроме того, риновирусы сами усиливают экспрессию ICAM-1 [13]. Это далеко не полный перечень механизмов, за счет которых респираторные вирусы могут провоцировать или усугублять аллергическое воспаление, а аллергическое заболевание дыхательных путей – облегчать инфицирование и создавать условия для более тяжелого или атипичного течения ОРВИ [14]. У больных аллергическим ринитом в стадии ремиссии сохраняются минимальные признаки персистирующего Т2-воспаления, что делает их более чувствительными к неспецифическим раздражителям [15] и *a priori* должно отражаться на характере течения ОРВИ.

Цель работы – сравнить клиническую эффективность и влияние на показатели выработки и рецепции интерферонов (ИФН) I и II типов нескольких иммуностимуляторов и препаратов с иммуноопосре-

дованным противовирусным действием, зарегистрированных в России, в лечении острых респираторных инфекций (ОРИ) у пациентов с сопутствующим аллергическим ринитом в стадии ремиссии.

Выбор препаратов как объектов настоящего исследования был основан на их доказанной или предполагаемой способности переключать баланс преобладающего иммунного ответа: Т2→Т1. Интерферон γ в лекарственной форме для назального применения выбран как ключевой медиатор Т1-иммунных реакций и стимулятор клеточной противовирусной защиты [16]. ИФН- $\alpha 2b$ в топической и ректальной формах, дополнительно включающих антиоксиданты, привлек внимание не только как важнейший фактор врожденного противовирусного иммунитета, но и как молекула, потенцирующая выработку ИФН- γ и подавляющая продукцию Т2-цитокинов [17, 18].

Доказана эффективность пидотимода в предотвращении респираторных инфекций [19], в том числе у больных аллергическими заболеваниями дыхательных путей [20]. Этот синтетический дипептид стимулировал Т-клеточные иммунные реакции, подавлял Т2-воспаление и увеличивал соотношение ИФН- γ /интерлейкин-4 в сыворотке крови пациентов с респираторной аллергией [21, 22].

Более 50 лет известна способность тилорона индуцировать выработку ИФН I типа [23]. Относительно недавно доказано, что этот препарат усиливает (модулирует) выработку ИФН- γ , ИФН- λ и некоторых других цитокинов у интактных животных и в условиях экспериментального гриппа *in vivo* [24, 25] и вызывает Т1-поляризацию иммунного ответа [26].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В осенне-зимние эпидемические сезоны 2016–2019 гг. на базах Городской поликлиники № 180 Департамента здравоохранения города Москвы, научно-консультативного клиничко-диагностического центра и клинического отдела инфекционной патологии Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Роспотребнадзора под наблюдением находились 146 амбулаторных больных ОРИ с сопутствующим сезонным аллергическим ринитом в стадии ремиссии. Исследования

проведены в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» в редакции 52-й сессии Генеральной Ассамблеи ВМА (2000) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 г. № 266.

Критерии включения в исследование: клиническая картина ОРВИ не позднее 48 ч от появления первых симптомов; состояние на диспансерном учете по поводу сезонного аллергического ринита, верифицированного не менее 2 лет назад; стадия ремиссии аллергического ринита; уровень иммуноглобулинов Е (IgE) в сыворотке крови не менее 100 МЕ/мл; возраст 18–65 лет; согласие на участие в научном исследовании и добровольное подписание информированного согласия.

Критерии не включения в исследование: прием противовирусных и иммуномодулирующих препаратов в течение 1 мес до обращения; наличие осложнений ОРВИ на момент первичного визита; аутоиммунные заболевания; хронические заболевания сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта и эндокринной системы, требующие приема лекарственных препаратов в период исследования; хроническая обструктивная болезнь легких; туберкулез; ВИЧ-инфекция; наркотическая зависимость; повышенная чувствительность к компонентам препаратов – объектов исследования.

Критерии исключения из исследования: проявившаяся в ходе исследования аллергическая или другая нежелательная реакция на исследуемые препараты; несоблюдение кратности и схемы приема препаратов; отказ пациента от продолжения участия в исследовании.

Из включенных в исследование пациентов сформированы четыре когорты (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика включенных в исследование больных						
Показатель		Группы больных				Статистически значимые различия
Условный номер группы		1	2	3	4	
Вариант лечения		ИФН-γ	ИФН-α + АО	Пидотимод	Тилорон	—
Число пациентов		60	27	28	31	
Возраст, лет, $Me (Q_1-Q_3; Min-Max)$		29 (26–38; 19–58)	46 (40–50; 27–62)	44 (40–50; 27–62)	29 (27–39; 18–57)	*
Пол	Мужчины, $n (%)$	36 (60)	15 (56)	14 (50)	12 (39)	—
	Женщины, $n (%)$	24 (40)	12 (44)	14 (50)	19 (61)	
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч, $Me (Q_1-Q_3; Min-Max)$		6 (5–12; 2–25)	6 (4–9; 2–40)	10 (4–14; 1–24)	7 (2–5; 1–29)	—
Число лейкоцитов в крови, $\times 10^3/\text{мкл}$, $Me (Q_1-Q_3; Min-Max)$		6,7 (4,9–9,1; 3,1–13,1)	6,4 (5–7,7; 3,4–13,9)	6,5 (5,8–8,1; 3,1–12,8)	7,1 (5,7–9,8; 4,3–16,7)	—
Доля лимфоцитов среди лейкоцитов крови, %, $Me (Q_1-Q_3; Min-Max)$		36 (30–40; 11–48)	37 (30–44; 17–64)	36 (29–38; 14–64)	36 (30–40; 11–48)	—
Концентрация IgE в сыворотке крови, МЕ/мл, $Me (Q_1-Q_3; Min-Max)$		297 (173–450; 102–822)	231 (159–417; 101–621)	218 (180–304; 100–598)	230 (185–394; 105–725)	—
Число пациентов с выявленными вирусами-возбудителями ОРИ, $n (%)$	Риновирусы	15 (25)	7 (26)	7 (25)	6 (19)	—
	Вирус гриппа А	19 (32)	10 (37)	9 (32)	10 (32)	—
	Вирус гриппа В	0	0	0	1 (3)	—
	Вирусы парагриппа 1–4	4 (7)	1 (4)	1 (4)	1 (3)	—
	РСВ	4 (7)	2 (7)	2 (7)	2 (6)	—
	Аденовирусы	5 (8)	2 (7)	1 (4)	4 (13)	—
	Коронавирусы	0	0	0	1 (1)	—
	Не выявлены	13 (22)	6 (22)	8 (29)	6 (19)	—

Примечание. РСВ – респираторно-синцитиальный вирус.

* $p_{1,2,3,4} < 0,001$ (критерий Краскела – Уоллиса); $p_{1,2} < 0,001$, $p_{1,3} < 0,001$, $p_{2,4} < 0,001$, $p_{3,8} < 0,001$ (критерий Данна).

В 1-й когорте (группа «ИФН-γ») пациенты в составе комплексного лечения получали по 2 000 МЕ человеческого рекомбинантного ИФН-γ (НПП Фармаклон, Россия) в 2 каплях водного раствора в каждый носовой ход 5 раз/сут в течение 7 сут. Во

2-й когорте (группа «ИФН-α + антиоксиданты (АО)») больные получали ректальные свечи, содержащие 1 млн МЕ ИФН-α2b, 0,055 г альфа-токоферола ацетата и 0,0081 г аскорбиновой кислоты (Ферон, Россия), 2 раза/сут, а также полоску геля длиной 0,4–

0,5 см, 1 г которого содержал 36 000 МЕ ИФН- α 2b, 0,055 г альфа-токоферола ацетата, 0,00128 г бензойной кислоты и 0,001 г лимонной кислоты моногидрата (Ферон, Россия), 3 раза/сут в каждый носовой ход в течение 7 сут. В 3-й когорте (группа «Пидотимод») пациентам назначали пидотимод (Доппель Фармацеутици С.Р.Л., Италия) по 400 мг *per os* 2 раза/сут в течение 10 сут. В 4-й когорте (группа «Тилорон») больные получали тилорон (Нижфарм, Россия) по 125 мг *per os* в 1, 2, 4 и 6-е сут. Помимо указанных средств пациенты получали симптоматическое лечение (ирригационные процедуры, деконгестанты, парацетамол при температуре выше 38,5 °C).

Всем пациентам проведено комплексное обследование, включающее сбор анамнеза болезни, объективный осмотр, общий анализ крови, определение уровня IgE в сыворотке крови, верификацию возбудителей респираторной инфекции, исследование системы интерферонов и их рецепторов, при необходимости инструментальные исследования (компьютерная томография пазух носа, рентгенография органов грудной клетки, электрокардиограмма). Взятие крови и образцов из носоглотки для лабораторных исследований проводили в первые 48 ч от дебюта заболевания до начала лечения и на 7-е сут лечения. Все пациенты находились под наблюдением до полного выздоровления.

Основным критерием сравнения эффективности разных вариантов лечения была регрессия клинических проявлений ОРИ, общую выраженность которых определяли как сумму оценок по 10-балльной шкале каждого из указанных ниже симптомов. Гипертермию оценивали объективно: температура тела ≥ 37 °C – 1 балл; еще по 1 баллу за каждые дополнительные 0,2 °C повышения температуры; температура $\geq 38,8$ °C – 10 баллов. Субъективно оценивали еще 14 симптомов: слабость, снижение аппетита, заложенность носа, выделения из носа, зуд в носу, першение в горле, боль в горле, охриплость, кашель, чихание, миалгия, головная боль, боль в груди, резь в глазах. Результаты оценки клинических проявлений ОРИ фиксировали ежедневно в течение 7 сут в специально разработанном индивидуальном дневнике, в котором пациенты также должны были регистрировать возможные нежелательные явления.

Для идентификации возбудителей ОРИ в мазке-соскобе из носоглотки использовали метод полимеразной цепной реакции с помощью диагностических тест-систем «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» и «АмплиСенс Influenza virus A/B-FL» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Общий анализ крови осуществляли с помощью гематологического

анализатора (Becman-Coulter, США) с определением стандартного набора показателей.

Способность клеток крови вырабатывать ИФН- α и ИФН- γ *ex vivo* при стимуляции штаммом Канзас вируса болезни Ньюкасла (ВБН) или фитогемагглютинином (ФГА) (ПанЭко, Россия), соответственно, а также без указанных стимулов проводили методом С.С. Григорян и соавт. [27], как описано ранее [28]. Концентрацию ИФН- α и ИФН- γ в надосадочной жидкости клеточных культур и сыворотке крови определяли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа, используя наборы eBioscience (США) с автоматической обработкой микропланшетным ридером Anthos 2020 (Anthos Labtec Instruments GmbH, Австрия) при длине волны 450 нм с коррекцией 620 нм.

Определение доли циркулирующих лимфоцитов, экспрессирующих субъединицу-2 рецептора ИФН- α/β (CD118) и субъединицу-1 (α -цепь) рецептора ИФН- γ (CD119), в периферической крови проводили методом проточной цитофлуориметрии на цитометре EPICS XL (Beckman Coulter, США) с использованием конъюгатов антител CD118-PE (Beckman Coulter, США), CD119-PE (eBioscience, США) и лизирующего раствора BD FACS (Becton Dickinson, США), как описано ранее [29]. В качестве условной нормы лабораторных показателей использованы данные исследований биологических образцов, взятых у 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с объединенной выборкой обследованных больных.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 18 (StatSoft Inc., США). Парные сравнения независимых и зависимых выборок по количественным характеристикам проводили с помощью критериев Манна – Уитни и Вилкоксона. Для множественного сравнения независимых выборок по количественным показателям использовали критерии Краскела – Уоллиса и Данна. Независимые группы по номинальным признакам сравнивали с помощью критерия χ^2 . Все количественные данные в таблицах и на рисунке представлены как $Me (Q_1 - Q_3; Min - Max)$, где Me – медиана, Q_1 – нижний квартиль, Q_3 – верхний квартиль; Min – минимум, Max – максимум. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. При $0,05 \leq p < 0,1$ констатировали тенденцию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сформированные когорты пациентов не различались по этиологии ОРИ, длительности инфекции при обращении, уровню IgE в сыворотке крови, скорости оседания эритроцитов, числу лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови. Группы были

в целом сопоставимы по полу, небольшое преобладание женщин в когорте «Тилорон» не приводило к статистически значимым гендерным различиям между группами (см. табл. 1). Во всех когортах доминировала сенсibilизация к аллергенам пыльцы березы как причина сезонного аллергического ринита, находящегося в стадии ремиссии в период исследования. Вместе с тем в группах «ИФН- $\alpha 2b$ + АО» и «Пидотимод» пациенты были старше, чем в когортах «ИФН- γ » и «Тилорон». Также установлена межгрупповая гетерогенность по исходной выраженности клинических проявлений ОРВИ, обусловленная более высокой суммой баллов ключевых симптомов болезни в когорте пациентов, подлежащих лечению тилороном, в сравнении с группами больных, которым назначали ИФН- γ и пидотимод (рис. 1). Большая сумма баллов в группе «Тилорон» была обусловлена главным образом высокой степенью миалгии, головной боли, снижения аппетита, слабости, рези в глазах. По другим симптомам ОРВИ группы существенно не различались.

Все включенные в исследование больные хорошо перенесли лечение. Ни одного случая нежела-

тельных явлений не установлено. Выбывших (исключенных) из исследования пациентов не было.

Уже на 2-е сут лечения во всех группах наблюдали статистически значимое снижение суммы баллов клинических проявлений ОРВИ. Вместе с тем тяжесть болезни в когорте пациентов, получавших тилорон, в это время оставалась на более высоком уровне в сравнении с другими группами (рисунок, табл. 2).

Таблица 2 (приложение к рисунку)

Статистически значимые межгрупповые различия		
Срок исследования, сут	$p_{1,2,3,4}$ (критерий Краскела – Уоллиса)	Критерий Данна
1	0,008	$p_{1-4} = 0,039, p_{3-4} = 0,008$
2	0,001	$p_{1-4} = 0,047, p_{2-4} = 0,045, p_{3-4} = 0,001$
3	<0,001	$p_{2-4} = 0,032, p_{3-4} = 0,002$
5	<0,001	$p_{1-3} < 0,001, p_{1-4} = 0,002, p_{2-3} < 0,001$
7	<0,001	$p_{1-2} < 0,001, p_{1-3} < 0,001, p_{2-3} < 0,001, p_{3-4} < 0,001$

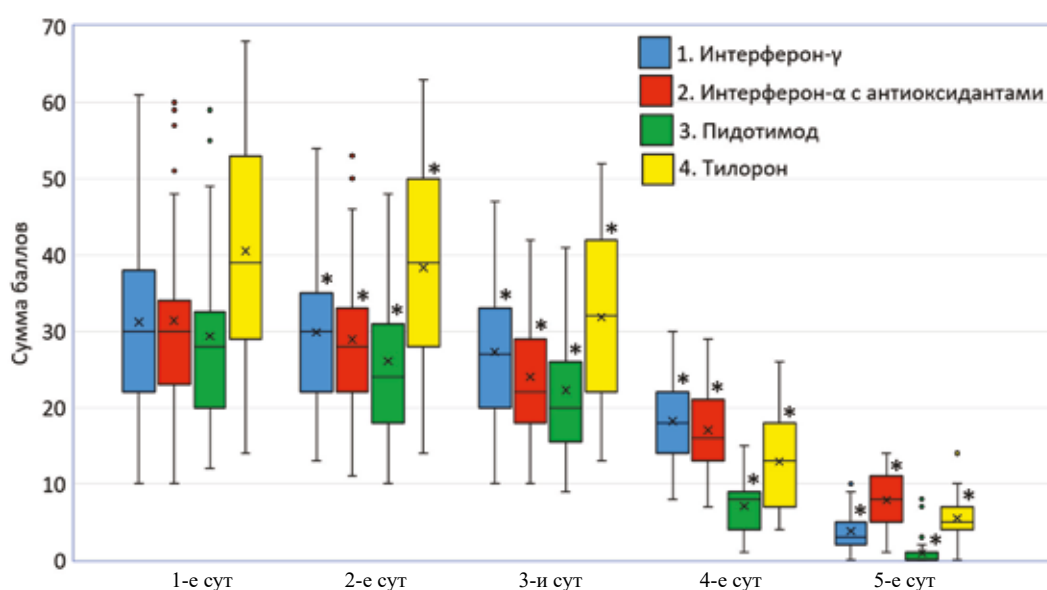


Рисунок. Динамика регрессии клинических проявлений ОРВИ у пациентов с сопутствующим аллергическим ринитом, получавших разные варианты противовирусной терапии: $\times$ – средние, точки – выбросы, $Me (Q_1-Q_3; Min-Max)$. * $p < 0,01$ в сравнении с показателями в первый день исследования (критерий Вилкоксона).

В дальнейшем основные симптомы заболевания в совокупности неуклонно регрессировали примерно с одинаковой скоростью на фоне всех вариантов лечения. На 5-е сут исследования сумма клинических баллов у больных в группе «Тилорон» была ниже, чем таковая в когорте «ИФН- γ », а группа «Пидотимод» выходила в лидеры по скорости регрессии ос-

новных симптомов ОРВИ. К 7-м сут лечения на фоне применения пидотимода сумма баллов стремилась к 0 и была статистически значимо ниже, чем в каждой из других трех групп, в которых, несмотря на стремительное снижение выраженности симптомов, остаточные проявления ОРВИ все же сохранялись более явно (см. рис.).

Поскольку фармакологическая активность всех исследуемых препаратов в значительной степени связана с сигналами ИФН I и II типов, мы изучили, как в результате разных вариантов лечения изменялись концентрации ИФН- α и ИФН- γ в сыворотке крови, способность клеток крови вырабатывать эти цитокины *ex vivo*, а также определили долю лимфоцитов периферической крови, экспрессирующих рецепторы ИФН I и II типов.

Выявлена тенденция к повышению концентрации ИФН- α в сыворотке крови большинства больных ОРИ до начала лечения, а в группе пациентов, подлежащих лечению ИФН- α с АО, – статистически значимое увеличение этого показателя в сравнении с таковым у здоровых доноров. Когорты больных были исходно неоднородны между собой по этому критерию за счет того, что уровень ИФН- α в группах «ИФН- γ » и «Пидотимод» был ниже, чем в группе «ИФН- α + АО». После лечения концентрация ИФН- α в сыворотке крови существенно снижалась у пациентов всех групп и варьировала в диапазоне, сходном с условной нормой (табл. 3).

Содержание ИФН- α и ИФН- γ в надосадочной жидкости нестимулированных культур клеток периферической крови в подавляющем большинстве (более 75%) случаев было ниже уровня детекции как у здоровых доноров, так и у больных ОРИ. Также чувствительности использованной тест-системы не хватило для выявления ИФН- γ в сыворотке крови более чем 80% больных и здоровых (данные не представлены).

ВБН-индуцированная продукция ИФН- α клетками крови *in vitro* в группах «ИФН- γ », «ИФН- α + АО» и «Тилорон» была исходно выше, чем у здоровых доноров. В когорте «Пидотимод» наблюдали лишь тенденцию к увеличению этого показателя. Существенных межгрупповых различий до лечения не выявили. После лечения индуцированная выработка ИФН- α во всех группах снижалась, при этом была выше в группе «ИФН- γ », чем в когорте «Тилорон», на уровне математически подтвержденной тенденции (см. табл. 3).

До лечения обнаружено снижение продукции ИФН- γ , индуцированной ФГА, в группе «Пидотимод», и тенденция к уменьшению этого показателя в других когортах больных. После лечения индуцированная выработка ИФН- γ увеличивалась до уровня, сходного с условной нормой, однако это повышение имело статистическую значимость только в группах «ИФН- α + АО» и «Пидотимод». Математически подтвержденных межгрупповых различий как до, так и после лечения не выявили (см. табл. 3).

Доля лимфоцитов, экспрессирующих субъединицу-2 рецептора ИФН I типа (CD118), в периферической крови во всех группах больных исходно была выше условной нормы. После лечения в группе «Тилорон» наблюдали снижение этого показателя, который тем не менее оставался на уровне выше такового у здоровых доноров. В других когортах относительное количество CD118⁺-лимфоцитов не изменялось.

При определении доли лимфоцитов, экспрессирующих α -цепь рецептора ИФН- γ (CD119), не установлено отличий ни между группами больных, ни между каждой из них и условной нормой. Также не выявлено значительной динамики во всех когортах. Вместе с тем отметим небольшой восходящий тренд (не достигающий уровня статистически подтвержденной тенденции) доли CD119⁺, а также CD118⁺-лимфоцитов в группе «ИФН- α + АО» (см. табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Более высокая исходная выраженность симптомов ОРИ в группе больных, получавших тилорон, затрудняет сравнение клинической эффективности этого препарата с таковой других вариантов лечения. Однако именно в группе «Тилорон» наблюдали задержку регрессии симптомов в первые 2–3 сут лечения, после чего клинические проявления ОРИ достаточно быстро угасали. Вероятно, это связано с тем, что тилорон при первом (1-е сут) и втором (2-е сут) приемах мог действовать как индуктор выработки не только ИФН всех типов, но и других, главным образом провоспалительных, цитокинов. Последующие дозы препарата, принятые на 4-е и 6-е сут, наоборот, могли вызывать временную гипореактивность клеток – продуцентов ИФН и провоспалительных цитокинов, что обеспечивало быстрое купирование симптомов, отражающих местный и системный воспалительный ответ. В целом особенности динамики клинических проявлений ОРИ на фоне приема тилорона подтверждают гипотезу о механизмах клинической эффективности тилорона, сформулированную ранее [30], и согласуются с результатами недавнего исследования противовирусной и цитокин-модулирующей активности этого препарата на модели гриппа *in vivo* [25].

Условное лидерство пидотимода в купировании симптомов ОРИ, проявившееся с 5-х сут исследования, можно отчасти связать с несколько меньшей исходной тяжестью заболевания в группе больных, получавших этот иммуностимулятор. Тем не менее факт высокой эффективности пидотимода интересен, потому что он по основным механизмам фармакологического действия существенно дальше от классических противовирусных средств, чем другие

Таблица 3

Изменение показателей выработки и рецепции ИФН I и II типов у больных ОРВИ с сопутствующим аллергическим ринитом, получавших разные варианты лечения, $Me (Q_1-Q_3; Min-Max)$										
Показатель	Здоровые доноры (условная норма)	Срок исследования и вариант терапии						Статистическая значимость различий (множественные сравнения)#		Статистическая значимость различий (парные сравнения)#
		До лечения			После лечения					
		ИФН- γ	ИФН- α + АО	Пидо-тимод	Тилорон	ИФН- γ	ИФН- α + АО	Пидо-тимод	Тилорон	
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Концентрация ИФН- α в сыворотке крови, пг/мл	0 (0-3,5; 0-19,2)	0 (0-6,6; 0-37,8)	6,8 (2,2-9,9; 0-18,1)*	1,5 (0-5,6; 0-32,5)	0 (0-6,5; 0-37,9)	0 (0-1; 0-16)	0 (0-2; 0-6)	0 (0-1,8; 0-12,6)	0 (0-1; 0-8)	$P_{1-5} = 0,002$; $P_{2-6} < 0,001$; $P_{3-7} = 0,016$; $P_{4,8} = 0,023$
Индукцированная ВБН продукция ИФН- α <i>in vitro</i> , пг/мл	171 (75-259; 20-310)	252 (129-446; 0-670)*	213 (111-398; 8-600)*	183 (124-335; 4-647)	199 (108-328; 0-600)*	159 (104-252; 20-475)	151 (74-242; 20-271)	114 (46-182; 0-287)	143 (79-190; 29-407)	$P_{1-2} = 0,044$; $P_{2,3} = 0,066$
Индукцированная ФГА продукция ИФН- γ <i>in vitro</i> , пг/мл	150 (56-227; 6-416)	72 (21-172; 0-745)	48 (12-123; 0-879)	29 (16-82; 0-879)*	79 (27-173; 0-1369)	108 (22-188; 0-891)	174 (22-453; 0-1364)	158 (19-444; 0-1365)	129 (22-429; 0-1385)	$P_{1-5} < 0,001$; $P_{2-6} = 0,006$; $P_{3-7} = 0,004$; $P_{4,8} = 0,012$
Доля CD118 ⁺ лимфоцитов в крови, %	76 (68-85; 60-92)	90 (83-92; 63-97)*	91 (88-93; 78-94)*	94 (84-95; 74-98)*	92 (88-93; 77-94)*	89 (83-93; 68-97)*	92 (89-93; 81-97)*	89 (86-92; 76-96)*	89 (82-92; 66-95)*	$P_{2-6} = 0,03$; $P_{3-7} = 0,003$
Доля CD119 ⁺ лимфоцитов в крови, %	85 (80-90; 61-96)	85 (80-90; 6-96)	83 (79-89; 43-96)	88 (85-94; 60-96)	85 (80-87; 72-94)	85 (80-91; 75-97)	86 (84-90; 80-93)	87 (80-90; 58-93)	84 (81-89; 69-95)	$P_{1-3} = 0,015$ $P_{1,2,3,4} = 0,024$
										-

Примечание. АО – антиоксиданты, ВБН – вирус болезни Ньюкасла, ФГА – фитогемагглютинин, # – величина p указана только в случаях, когда $p < 0,1$. * $p < 0,05$ в сравнении с показателями здоровых доноров (критерий Манна – Уитни).

препараты сравнения, использованные в настоящей работе. В отличие от пидотимода, тилорон, обладающий иммуноопосредованным противовирусным действием, а также ИФН- γ и ИФН- $\alpha 2b$ с антиоксидантами, которые систематизируются по анатомо-терапевтическо-химической классификации лекарственных средств как иммуностимуляторы, рассматриваются экспертами обычно в одном ряду с противовирусными препаратами прямого действия в контексте этиотропной терапии вирусных инфекций. Но именно пидотимод, эффективность которого в комплексном лечении аллергического ринита [31], астмы [22], а также в профилактике ОРВИ [19] была доказана ранее, в рамках настоящего исследования оказывал выраженный терапевтический эффект в острую фазу респираторной инфекции у аллергиков.

Вероятно, применение системно действующего иммуностимулятора, сдвигающего баланс преобладающего иммунного ответа в направлении $T2 \rightarrow T1$, была важнее в плане ускорения купирования симптомов ОРВИ для больных с сопутствующим аллергическим ринитом, чем использование препаратов с более выраженным противовирусным действием. Синтетический дипептид пидотимод, как и некоторые иммуномодуляторы бактериального происхождения, обладает иммунорегуляторным (противовоспалительным, или иммунодемпфирующим) действием [32]. В этой связи представляется перспективным продолжение исследований этого препарата не только как стимулятора противинфекционной защиты, но и как средства комплексного лечения аллергического ринита и других заболеваний, сопровождающихся персистирующим воспалением в дыхательных путях.

В группах больных, получавших интраназально ИФН- γ или комбинацию топической и ректальной лекарственных форм ИФН- $\alpha 2b$ с АО, наблюдали сходную динамику регрессии клинических проявлений ОРВИ. Этот результат любопытен, так как локально использованный ИФН- γ – ключевой медиатор $T1$ -ответа с провоспалительной активностью [33] – был сопоставим по клинической эффективности с комбинацией системной и топической форм ИФН- $\alpha 2b$ – цитокина с более выраженным противовирусным действием и, кроме того, противовоспалительным потенциалом [34]. Это еще одно косвенное подтверждение большого значения $T2 \rightarrow T1$ -поляризации иммунного ответа для регрессии клинических проявлений ОРВИ у больных с сопутствующим аллергическим ринитом.

После того, как ИФН- $\alpha 2$ или иной вид ИФН I типа связывает две субъединицы соответствующего рецептора на поверхности клетки-мишени и

инициирует биохимические каскады, направленные на защиту от вирусов, происходит интернализация комплекса «лиганд – рецептор» путем эндоцитоза. Этот комплекс, находясь в эндосоме, некоторое время продолжает оказывать биологические (антипролиферативные, иммуномодулирующие) эффекты и лишь затем подвергается лизосомальной деградации [35]. Однако сигналы, ведущие к выработке ИФН-стимулированных виростатических белков, посылаются главным образом через рецептор ИФН I типа при его локализации на поверхности клетки. Способность разных видов ИФН I типа увлекать рецептор внутрь клетки коррелирует со степенью аффинности лиганд-рецепторного взаимодействия [36]. ИФН- $\alpha 2$ характеризуется высоким сродством к рецептору ИФН I типа [37], уступая в этом плане только ИФН- β [38].

Взаимодействие ИФН- γ с рецептором в конечном итоге также приводит к интернализации и внутриклеточной деградации комплекса лиганд-рецептор [39]. ИФН- γ снижает в клетках-мишенях экспрессию своего рецептора и по независимым от эндоцитоза механизмам [40]. ИФН I типа также способен подавлять экспрессию рецепторов ИФН- γ как в результате блокировки транскрипции гена α -цепи этого рецептора [41], так и вторично за счет стимуляции выработки ИФН- γ [17], ведущей к упомянутым выше лиганд-индуцированным механизмам снижения чувствительности к ИФН- γ .

Указанные особенности передачи сигналов ИФН I и II типов теоретически могли привести к тому, что на фоне применения системно действующего ИФН- $\alpha 2b$ временно снижалось бы число рецепторов обоих типов ИФН на плазмолемме разных клеток, в том числе циркулирующих лимфоцитов. Это могло бы снизить эффективность природных противовирусных механизмов, зависящих от ИФН I и II типов. Результаты настоящей работы дезавуируют такое предположение. Именно в когорте «ИФН- α + АО», но не в других группах, в последний день 7-суточного лечения выявлен восходящий тренд доли лимфоцитов, экспрессирующих субъединицу-2 рецептора ИФН I типа и α -цепь рецептора ИФН- γ . Это можно объяснить рециркуляцией интернализованных рецепторов [39] и (или) наличием ранее не установленных механизмов позитивной обратной связи, приводящих к восстановлению числа рецепторов после лиганд-индуцированного снижения их плотности на поверхности клеток-мишеней. Полученные результаты согласуются с данными о том, что именно ИФН- $\alpha 2b$, но не ИФН- β , стимулирует рециркуляцию интернализованной субъединицы-2 рецептора ИФН I типа на клеточную поверхность [42].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлена в целом сходная клиническая эффективность ИФН-γ в назальной форме, ИФН-α с АО в ректальной и назальной формах, пидотимода и тилорона в лечении ОРВИ у пациентов с аллергическим ринитом. Результаты настоящей работы позволяют сделать вывод о том, что лекарственные средства, способные поляризовать иммунный ответ в направлении Т2→Т1, являются полезной опцией для лечения ОРВИ у больных с сопутствующими аллергическими заболеваниями дыхательных путей. В этом контексте выбор всех исследованных в настоящей работе препаратов следует признать обоснованным. Из полученных данных выкристаллизовывается рациональный вектор разработки новых эффективных средств для патогенетического (этиотропного) лечения ОРВИ у пациентов с респираторной аллергией – поиск природных и синтетических фармакологических веществ, обладающих одновременно противовирусными и Т1-поляризующими свойствами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Gentile D.A., Fireman P., Skoner D.P. Elevations of local leukotriene C4 levels during viral upper respiratory tract infections. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2003;91(3):270–274. DOI: 10.1016/S1081-1206(10)63529-6.
- Graham A.C., Temple R.M., Obar J.J. Mast cells and influenza a virus: association with allergic responses and beyond. *Front. Immunol.* 2015;6:238. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00238.
- Nijkamp F.P., Sitsen J.M. Leukotrienes, allergy and inflammation. *Pharm. Weekbl. Sci.* 1982;4(6):165–171. DOI: 10.1007/BF01959134.
- Skoner D.P., Gentile D.A., Fireman P., Cordero K., Doyle W.J. Urinary histamine metabolite elevations during experimental influenza infection. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2001;87(4):303–306. DOI: 10.1016/S1081-1206(10)62244-2.
- Ricciotti E., FitzGerald G.A. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011;31(5):986–1000. DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.207449.
- Kubo M. Innate and adaptive type 2 immunity in lung allergic inflammation. *Immunol. Rev.* 2017;278(1):162–172. DOI: 10.1111/imr.12557.
- Scadding G.K., Scadding G.W. Innate and adaptive immunity: ILC2 and Th2 cells in upper and lower airway allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2021;9(5):1851–1857. DOI: 10.1016/j.jaip.2021.02.013.
- Norlander A.E., Peebles R.S. Jr. Innate type 2 responses to respiratory syncytial virus infection. *Viruses.* 2020;12(5):521. DOI: 10.3390/v12050521.
- Rajput C., Han M., Ishikawa T., Lei J., Goldsmith A.M., Jazaeri S. et al. Rhinovirus C infection induces type 2 innate lymphoid cell expansion and eosinophilic airway inflammation. *Front. Immunol.* 2021;12:649520. DOI: 10.3389/fimmu.2021.649520.
- Basnet S., Palmenberg A.C., Gern J.E. Rhinoviruses and their receptors. *Chest.* 2019;155(5):1018–1025. DOI: 10.1016/j.chest.2018.12.012.
- Wang S.Z., Ma F.M., Zhao J.D. Expressions of nuclear factor-kappa B p50 and p65 and their significance in the up-regulation of intercellular cell adhesion molecule-1 mRNA in the nasal mucosa of allergic rhinitis patients. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2013;270(4):1329–1334. DOI: 10.1007/s00405-012-2136-y.
- Wegner C.D., Gundel R.H., Reilly P., Haynes N., Letts L.G., Rothlein R. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science.* 1990;247(4941):456–459. DOI: 10.1126/science.1967851.
- Papi A., Johnston S.L. Rhinovirus infection induces expression of its own receptor intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) via increased NF-kappaB-mediated transcription. *J. Biol. Chem.* 1999;274(14):9707–9720. DOI: 10.1074/jbc.274.14.9707.
- Zhou B., Niu W., Liu F., Yuan Y., Wang K., Zhang J. et al. Risk factors for recurrent respiratory tract infection in pre-school-aged children. *Pediatr. Res.* 2021;90(1):223–231. DOI: 10.1038/s41390-020-01233-4.
- Canonica G.W., Compalati E. Minimal persistent inflammation in allergic rhinitis: implications for current treatment strategies. *Clin. Exp. Immunol.* 2009;158(3):260–271. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2009.04017.x.
- Schroder K., Hertzog P.J., Ravasi T., Hume D.A. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *J. Leukoc. Biol.* 2004;75(2):163–189. DOI: 10.1189/jlb.0603252.
- Brinkmann V., Geiger T., Alkan S., Heusser C.H. Interferon alpha increases the frequency of interferon gamma-producing human CD4+ T cells. *J. Exp. Med.* 1993;178(5):1655–1663. DOI: 10.1084/jem.178.5.1655.
- Wenner C.A., Güler M.L., Macatonia S.E., O'Garra A., Murphy K.M. Roles of IFN-gamma and IFN-alpha in IL-12-induced T helper cell-1 development. *J. Immunol.* 1996;156(4):1442–1447.
- Niu H., Wang R., Jia Y.T., Cai Y. Pidotimod, an immunostimulant in pediatric recurrent respiratory tract infections: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Int. Immunopharmacol.* 2019;67:35–45. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.11.043.
- Vargas Correa J.B., Espinosa Morales S., Bolaños Ancona J.C., Farfán Ale J.A. Pidotimod en infección respiratoria recurrente en el niño con rinitis alérgica, asma o ambos padecimientos [Pidotimod in recurring respiratory infection in children with allergic rhinitis, asthma, or both conditions]. *Rev. Alerg. Mex.* 2002;49(2):27–32. (In Span.).
- Ferrario B.E., Garuti S., Braidó F., Canonica G.W. Pidotimod: the state of art. *Clin. Mol. Allergy.* 2015;13(1):8. DOI: 10.1186/s12948-015-0012-1.
- Manti S., Parisi G.F., Papale M., Leonardi S. Pidotimod in allergic diseases. *Minerva Pediatr.* 2020;72:358–363. DOI: 10.23736/S0026-4946.20.05967-8.
- Krueger R.E., Mayer G.D. Tilorone hydrochloride: an orally active antiviral agent. *Science.* 1970;169:1213–1214. DOI: 10.1126/science.169.3951.1213.
- Григорян С.С., Исаева Е.И., Бакалов В.В., Осипова Е.А., Бевз А.Ю., Простяков И.В. и др. Амиксин – индукция интерферонов альфа, бета, гамма и лямбда в сыворотке крови и легочной ткани. *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение.* 2015;2:93–99.

25. Калюжин О.В., Исаева Е.И., Ветрова Е.Н., Чернышова А.И., Понежева Л.О., Караулов А.В. Влияние тилорона на динамику вирусной нагрузки и содержания интерферонов и интерлейкина-1 β в лёгочной ткани и сыворотке крови мышей с экспериментальным гриппом. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021;171(6):724–728. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-6-724-728.
26. Понежева Л.О., Исаева Е.И., Ветрова Е.Н., Григорян С.С., Чернышова А.И., Калюжин О.В. и др. Влияние тилорона на вирусную нагрузку и баланс цитокинов, отражающих 1-й и 2-й типы иммунного ответа, в легочной ткани мышей с экспериментальным гриппом. Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: сборник трудов XIII ежегодного всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (24–26 мая 2021 г.; Москва). М.: Медицинское Маркетинговое Агентство, 2021:231.
27. Григорян С.С., Майоров И.А., Иванова А.М., Ершов Ф.И. Оценка интерферонов статуса по пробам цельной крови. *Вопросы вирусологии*. 1988;4:433–436.
28. Калюжин О.В., Понежева Ж.Б., Купченко А.Н., Шувалов А.Н., Гусева Т.С., Паршина О.В. и др. Клиническая и интерферон-модулирующая эффективность комбинации ректальной и топической форм интерферона- $\alpha 2b$ при острых респираторных инфекциях. *Терапевтический архив*. 2018;90(11):48–54. DOI: 10.26442/terarkh201890114-54.
29. Калюжин О.В., Понежева Ж.Б., Семенова И.В., Хохлова О.Н., Серебровская Л.В., Гусева Т.С. и др. Субпопуляции лимфоцитов, уровень интерферонов и экспрессия их рецепторов у больных хроническими гепатитами В и С: зависимость от вида вирусов и степени фиброза печени. *Терапевтический архив*. 2017;89(11):14–20. DOI: 10.17116/terarkh201789114-20.
30. Калюжин О.В. Тилорон как средство выбора для профилактики и лечения острых респираторных вирусных инфекций. *Лечащий врач*. 2013;10:43–48.
31. Brindisi G., Zicari A.M., Schiavi L., Gori A., Conte M.P., Marazzato M. et al. Efficacy of Pidotimod use in treating allergic rhinitis in a pediatric population. *Ital. J. Pediatr.* 2020;46(1):93. DOI: 10.1186/s13052-020-00859-8.
32. Feleszko W., Rossi G.A., Krenke R., Canonica G.W., Van Gerven L., Kalyuzhin O. Immunoactive preparations and regulatory responses in the respiratory tract: potential for clinical application in chronic inflammatory airway diseases. *Expert Rev. Respir. Med.* 2020;14(6):603–619. DOI: 10.1080/17476348.2020.1744436.
33. Mühl H., Pfeilschifter J. Anti-inflammatory properties of pro-inflammatory interferon-gamma. *Int. Immunopharmacol.* 2003;3(9):1247–1255. DOI: 10.1016/S1567-5769(03)00131-0.
34. Billiau A. Anti-inflammatory properties of type I interferons. *Antiviral. Res.* 2006;71(2-3):108–116. DOI: 10.1016/j.antiviral.2006.03.006.
35. Kumar K.G., Tang W., Ravindranath A.K., Clark W.A., Croze E., Fuchs S.Y. SCF(HOS) ubiquitin ligase mediates the ligand-induced down-regulation of the interferon-alpha receptor. *EMBO J.* 2003;22(20):5480–5490. DOI: 10.1093/emboj/cdg524.
36. Thomas C., Moraga I., Levin D., Krutzik P.O., Podoplelova Y., Trejo A. et al. Structural linkage between ligand discrimination and receptor activation by type I interferons. *Cell.* 2011;146(4):621–32. DOI: 10.1016/j.cell.2011.06.048.
37. Lavoie T.B., Kalie E., Crisafulli-Cabatu S., Abramovich R., DiGioia G., Moolchan K. et al. Binding and activity of all human alpha interferon subtypes. *Cytokine*. 2011;56(2):282–289. DOI: 10.1016/j.cyto.2011.07.019.
38. Wilmes S., Beutel O., Li Z., Francois-Newton V., Richter C.P., Janning D. et al. Receptor dimerization dynamics as a regulatory valve for plasticity of type I interferon signaling. *J. Cell. Biol.* 2015;209(4):579–593. DOI: 10.1083/jcb.201412049.
39. Celada A., Schreiber R.D. Internalization and degradation of receptor-bound interferon-gamma by murine macrophages. Demonstration of receptor recycling. *J. Immunol.* 1987;139(1):147–153.
40. Crisler W.J., Eshleman E.M., Lenz L.L. Ligand-induced IFN-NGR1 down-regulation calibrates myeloid cell IFN γ responsiveness. *Life Sci. Alliance*. 2019;2(5):e201900447. DOI: 10.26508/lsa.201900447.
41. Rayamajhi M., Humann J., Penheiter K., Andreasen K., Lenz L.L. Induction of IFN- α enables *Listeria monocytogenes* to suppress macrophage activation by IFN- γ . *J. Exp. Med.* 2010;207(2):327–337. DOI: 10.1084/jem.20091746.
42. Marijanovic Z., Ragimbeau J., van der Heyden J., Uzé G., Pellegrini S. Comparable potency of IFN $\alpha 2$ and IFN β on immediate JAK/STAT activation but differential down-regulation of IFNAR2. *Biochem. J.* 2007;407(1):141–151. DOI: 10.1042/BJ20070605.

Вклад авторов

Калюжин О.В. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Понежева Л.О., Турапова А.Н., Нуртазина А.Ю. – сбор данных для анализа, написание текста статьи. Быков А.С., Караулов А.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Калюжин Олег Витальевич – д-р мед. наук, профессор, кафедра клинической иммунологии и аллергологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, kalyuzhin@list.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3628-2436>

Понежева Лиана Оскаровна – аспирант, кафедра клинической иммунологии и аллергологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, ponejevaliana@gmail.com, <http://orcid.org/000-0001-9459-8143>

Турапова Александра Николаевна – мл. науч. сотрудник, клинический отдел инфекционной патологии, ЦНИИ эпидемиологии, г. Москва, alyaspid@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2893-0854>

Нуртазина Асель Юсуповна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра клинической иммунологии и аллергологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, asel26nurtazina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2337-3307>

Быков Анатолий Сергеевич – д-р мед. наук, профессор, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, bykov_a_s@staff.sechenov.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8099-6201>

Караулов Александр Викторович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, drkaraulov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

(✉) **Калюжин Олег Витальевич**, kalyuzhin@list.ru

Поступила в редакцию 16.11.2021;
одобрена после рецензирования 20.12.2021;
принята к публикации 24.12.2021

УДК 616-006.6-085.27.099

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-60-66>

Оценка цитотоксической активности и токсичности производного трополонов с потенциальным противоопухолевым действием

Кит О.И.¹, Минкин В.И.^{2,3}, Лукбанова Е.А.¹, Саяпин Ю.А.³, Гусаков Е.А.², Ситковская А.О.¹, Филиппова С.Ю.¹, Комарова Е.Ф.^{1,4}, Волкова А.В.¹, Ходакова Д.В.¹, Миндарь М.В.¹, Лазутин Ю.Н.¹, Енгибарян М.А.¹, Колесников В.Е.¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63

²Научно-исследовательский институт физической и органической химии (НИИ ФОХ), Южный федеральный университет (ЮФУ)
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/2е

³Южный научный центр (ЮНЦ) Российской академии наук (РАН)
Россия, 344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Чехова, 41

⁴Ростовский государственный медицинский университет (РостГМУ)
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

РЕЗЮМЕ

Цель – исследование токсичности 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. Для синтеза 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона использован метод расширения о-хинонового цикла в процессе реакции между 5-нитро-2,6,8-триметил-4-хлорхинолином и 3,4,5,6-тетрахлор-1,2-бензохиноном при кипячении в диоксане. Эксперимент *in vitro* проведен на клеточной линии рака легкого человека A549. Оценку жизнеспособности клеток проводили при помощи МТТ-колориметрического теста по уменьшению оптической плотности опытных проб по сравнению с контрольными. Исследование острой токсичности проведено на 20 самках мышей линии Balb/c Nude. Исследуемое соединение вводили однократно перорально в форме суспензии в 1%-м крахмальном геле в трех дозах: 0,0055 (1-я группа), 0,055 (2-я группа) и 0,55 мг/г (3-я группа). Контрольная группа (4-я) получала плацебо.

Результаты. Получен 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон по ранее разработанному методу, его строение установлено данными ядерно-магнитного резонанса ¹H и инфракрасной и масс-спектрометрии. Выход составил 19,8 г (52%), температура плавления 205–207 °С, ярко-желтые кристаллы (бензол). Ингибирующая концентрация IC₅₀ 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона была равна 0,21 ± 0,01 мкМ, что оказалось статистически значимо меньше (*p* < 0,05) ингибирующей концентрации IC₅₀ цисплатина равной 3,84 ± 0,23 мкМ. В результате исследования *in vivo* не выявлено токсического действия трополона при однократном введении в дозах 0,0055; 0,055 и 0,55 мг/г.

Заключение. Показано, что 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон проявляет цитотоксическую активность в отношении клеточной линии A549 в более низкой ингибирующей концентрации IC₅₀, чем цисплатин, широко применяющийся в лечении злокачественных новообразований, в том числе рака легкого. Нерастворимость в воде 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона и отсутствие его токсического действия в исследованных нами режимах определяют границы его использования для дальнейшего изучения кумулятивных и противоопухолевых эффектов.

Ключевые слова: трополоны, противоопухолевый эффект, культура клеток немелкоклеточного рака легкого человека A549, МТТ-тест

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания «Изучение противоопухолевой активности фармакологических субстанций *in vivo* и *in vitro*» (№ 121031100253-3).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено биоэтической комиссией НМИЦ онкологии (протокол № 1/61 от 19.02.2019).

Для цитирования: Кит О.И., Минкин В.И., Лукбанова Е.А., Саяпин Ю.А., Гусаков Е.А., Ситковская А.О., Филиппова С.Ю., Комарова Е.Ф., Волкова А.В., Ходакова Д.В., Миндарь М.В., Лазутин Ю.Н., Енгибарян М.А., Колесников В.Е. Оценка цитотоксической активности и токсичности производного трополонов с потенциальным противоопухолевым действием. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):60–66. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-60-66>.

Evaluation of the cytotoxic activity and toxicity of a tropolone derivative with a potential antitumor effect

Kit O.I.¹, Minkin V.I.^{2,3}, Lukbanova E.A.¹, Sayapin Yu.A.³, Gusakov E.A.², Sitkovskaya A.O.¹, Filippova S.Yu.¹, Komarova E.F.^{1,4}, Volkova A.V.¹, Khodakova D.V.¹, Mindar M.V.¹, Lazutin Yu.N.¹, Engibaryan M.A.¹, Kolesnikov V.E.¹

¹National Medical Research Center of Oncology
63, 14th Liniya, Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

²Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Southern Federal University
194/2, Stachki Av., Rostov-on-Don, 344090, Russian Federation

³Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences
41, Chekhova Av., Rostov-on-Don, 344006, Russian Federation

⁴Rostov State Medical University
29, Nakhichevskiy Av., Rostov-on-Don, 344022, Russian Federation

ABSTRACT

The aim. To study the toxicity of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone *in vitro* and *in vivo*.

Materials and methods. 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone was synthesized using a method for expanding the *o*-quinone cycle during the reaction between 5-nitro-2,6,8-trimethyl-4-chloroquinoline and 3,4,5,6-tetrachloro-1,2-benzoquinone while boiled in dioxane. An *in vitro* experiment was carried out in the human A549 cell line. Cell viability was assessed using the MTT colorimetric assay by reducing the optical density of the experimental samples compared with the control ones. Acute toxicity was studied on 20 BALB/c Nude male mice. The test compound was administered once orally as a suspension in 1% starch gel at three doses: 0.0055 (group 1), 0.055 (group 2) and 0.55 mg / g (group 3). The control group (group 4) received a placebo.

Results. We synthesized a new compound, 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone. Its structure was established by ¹H nuclear magnetic resonance (NMR), infrared (IR) spectroscopy, and mass spectrometry. The yield was 19.8 g (52%), the melting point was 205–207 °C, bright yellow crystals (benzene) were observed. The half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone was 0.21 ± 0.01 μM, which was significantly lower (*p* < 0.05) than the IC₅₀ of cisplatin (3.84 ± 0.23). Following the *in vivo* experiment, no toxic effect of tropolone was detected when administered once at a dose of 0.0055, 0.055, and 0.55 mg / g.

Conclusion. 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone demonstrated cytotoxic effects on the A549 cell line at a lower IC₅₀ than cisplatin which is widely used in treatment of cancers, including lung cancer. Insolubility of 2-(6,8-dimethyl-5-nitro-4-chloroquinoline-2-yl)-5,6,7-trichloro-1,3-tropolone in water and the absence of its toxic effect in the studied modes determine the scope of its application for further study of cumulative and antitumor effects.

Keywords: tropolones, antitumor effect, human non-small-cell lung cancer A549 cell line, MTT assay

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out within the state assignment “The study of antitumor effects of pharmaceutical ingredients *in vivo* and *in vitro*” (No. 121031100253-3).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Bioethics Committee at the National Medical Research Center of Oncology (Protocol No. 1/61 of 19.02.2019).

For citation: Kit O.I., Minkin V.I., Lukbanova E.A., Sayapin Yu.A., Gusakov E.A., Sitkovskaya A.O., Filippova S.Yu., Komarova E.F., Volkova A.V., Khodakova D.V., Mindar M.V., Lazutin Yu.N., Engibaryan M.A., Kolesnikov V.E. Evaluation of the cytotoxic activity and toxicity of a tropolone derivative with a potential antitumor effect. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):60–66. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-60-66>.

ВВЕДЕНИЕ

Рак в современном обществе занимает лидирующие позиции среди тяжелых заболеваний, часто приводящих к летальным исходам [1, 2]. Кроме того, низкая эффективность и невысокая избирательность цитотоксических препаратов, применяющихся в клинической практике, сочетаются с множеством побочных действий [3] и узким коридором эффективных доз [4]. Одним из ключевых факторов улучшения прогноза течения злокачественных новообразований является применение эффективных методов лечения [5]. Поэтому актуальной проблемой на сегодняшний день остается разработка и исследование новых противоопухолевых средств, сочетающих высокую цитотоксическую активность с минимальными побочными эффектами.

Наряду с известными химиопрепаратами, ряд ученых и медиков предлагают использовать в качестве лекарственных средств некоторые производные подофиллотоксина, дитерпены, алкалоиды [6]. Перспективную группу веществ, проявляющих широкий спектр биологической активности, в том числе и противоопухолевой, составляют ароматические небензоидные соединения – трополоны [7, 8]. Наиболее изученными их представителями являются β-туяплицин (хиноктиол), колхицин и колхамин. Существует ряд подходов к синтезу трополонов, позволяющих получить широкий спектр веществ с разнообразными биологическими свойствами, такими как антиоксидантные, противовоспалительные, антивирусные, антибактериальные, противогрибковые, противоопухолевые [6, 9].

Наиболее близким по структуре к рассматриваемому в данной работе соединению является 2-[7-ацетил-9,11-ди(трет-бутил)-4-метил-5-хлорбензо[b][1,4]оксазепино[7,6,5-de]-хинолин-2-ил]-5,6,7-трихлор-1,3-трополон, обладающий цитотоксической активностью в отношении опухолевых клеток молочной железы MCF-7 10, культуры клеток рака легких Lu и печени Нер-G2, а также опухолевых эпители-

альных клеток KB [7]. Также производные 2-хинолин-2-ил-1,3-трополонов показали активность против различных линий раковых клеток легких (A549 и H441), яичников (OVCAR-3 и OVCAR-8), толстой кишки (HCT 116) и поджелудочной железы (Panc-1) в диапазоне IC₅₀ до 5 μM [10].

Целью настоящей работы является исследование токсичности 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона *in vitro* и *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемое соединение. 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон имеет структурную формулу, представленную на рис. 1.

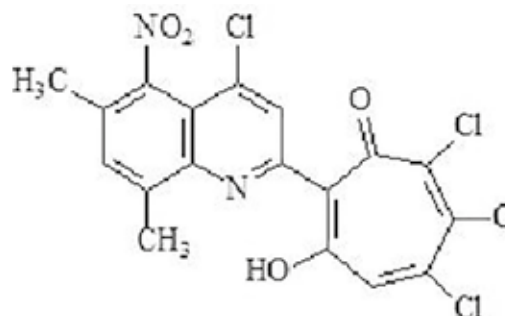


Рис. 1. Структурная формула 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона

Соединение **1** (2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон) синтезировано методом расширения о-хинонового цикла [11]. При этом реакция протекала между 5-нитро-2,6,8-триметил-4-хлорхинолином (**2**) и 3,4,5,6-тетрахлор-1,2-бензохиноном (**3**) при кипячении в диоксане (рис. 2).

Исследование цитотоксической активности. Эксперимент проведен на клеточной линии немелкоклеточного рака легкого человека A549. Оценку жизнеспособности клеток проводили при помощи МТТ-колориметрического теста. Клетки культивировали в 96-луночном планшете в стандартных

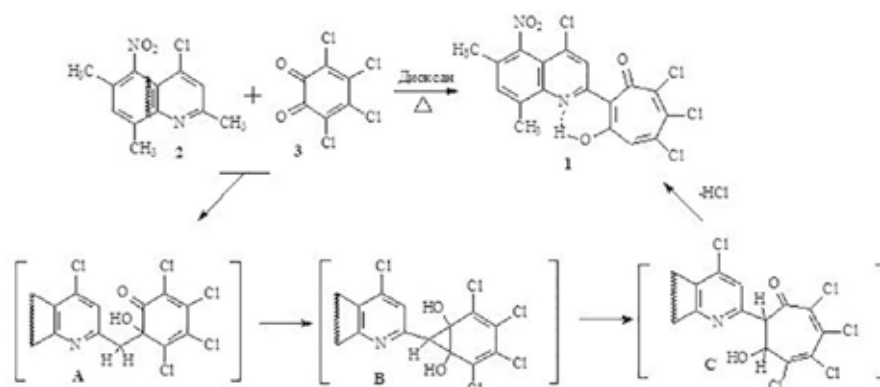


Рис. 2. Синтез 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона

стерильных условиях: температура 37 °С, 5%-й CO₂, питательная среда DMEM, 10%-й FBS. Исследуемое вещество, препарат сравнения (цисплатин) и растворитель (DMSO) добавляли в концентрации 0,004–2,226 мкМ. Клетки продолжали инкубировать в тех же условиях в течение 72 ч, после чего к ним добавляли по 20 мкл рабочего раствора МТТ. Затем продолжали инкубацию в течение еще 2 ч. Образовавшиеся в результате МТТ-теста кристаллы формазана растворяли в DMSO и измеряли при помощи ридера для микропланшетов Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США) оптическую плотность (средняя длина волны 492 нм) [12].

Исследование острой токсичности. Для исследования острой токсичности использовали 20 самок мышей линии Balb/c Nude массой тела 25,5–27,5 г, которые были распределены на четыре группы по пять животных в каждой. Исследование проведено на самках в связи с тем, что они считаются более чувствительными к воздействию веществ по сравнению с самцами (ГОСТ 32296-2013). Исследование одобрено биоэтической комиссией НМИЦ онкологии (протокол № 1/61 от 19.02.2019).

В связи с тем, что эксперимент проводился с использованием линейных животных, руководствуясь правилами 3R, было использовано по пять особей в каждой группе. Это представлялось возможным для статистического анализа данных [13]. Исследование острой токсичности трополона проводилось на мышах линии Balb/c Nude, поскольку данное соединение с потенциальным противоопухолевым эффектом может исследоваться на ксенографтах, созданных на иммунодефицитных мышах, которые считаются более чувствительными к воздействию [14, 15].

Исследуемое соединение вводили однократно перорально в форме суспензии в 1%-м крахмальном геле в трех дозах: 0,0055 (1-я группа), 0,055 (2-я группа) и 0,55 мг/г (3-я группа). Выбор максимальной дозы был ограничен нерастворимостью исследуемого соединения в воде. Контрольная группа (4-я) получала 1%-й крахмальный гель. После введе-

ния вещества в течение 14 сут проводили ежедневный осмотр животных, массу тела определяли на 7-е и 14-е сут. Для оценки дозозависимых эффектов трополона использовали следующие показатели: выживаемость, отклонения в состоянии здоровья при ежедневном наблюдении, динамика массы тела, при некропии – отклонения от нормы состояния кожных покровов и видимых слизистых оболочек, размер, форма, цвет, структура и расположение внутренних органов, наличие выпотов в естественных полостях и выделений из естественных отверстий (ГОСТ Р 56701-2015). Эвтаназию животных проводили на 14-е сут эксперимента методом дислокации шейных позвонков.

Статистический анализ данных. Для расчета ингибирующей концентрации при исследовании цитотоксической активности соединения в опытных лунках рассчитывали процент жизнеспособных клеток относительно лунок положительного контроля, жизнеспособность клеток в которых принимали за 100%. При помощи метода пробит-анализа вычислили логарифм концентрации в точке 50%-й жизнеспособности клеток, после чего рассчитали концентрацию полумаксимального ингибирования роста клеток (IC₅₀) [16]. При статистическом анализе результатов оценивали средние значения и стандартные отклонения, а также использовали критерий Вилкоксона – Манна – Уитни, критерий Краскела – Уоллиса с постобработкой тестом Данна. Для статистического анализа результатов использовали программное обеспечение GraphPad Prism 5.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При оценке цитотоксичности 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон в отношении культуры клеток A549 определена ингибирующая концентрация IC₅₀, которая составила 0,21 ± 0,01 мкМ, что оказалось статистически значимо меньше ингибирующей концентрации IC₅₀ цисплатина равной 3,84 ± 0,23 мкМ (статистически значимые отличия по отношению

к группе контроля, $p < 0,05$, критерий Краскела – Уоллиса, широко используемый в клинической практике) [17].

В эксперименте по исследованию острой токсичности 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона при его однократном введении в дозах 0,0055 (1-я группа), 0,055 (2-я группа) и 0,55 мг/г (3-я группа) выживаемость составила 100%, что не позволило выявить летальную дозу. Воздействие же более высокими дозами исследуемого вещества оказалось невозможным в связи с тем, что в данном случае объем сухой дисперсной фазы превышал объем жидкой дисперсной фазы, а вещество оказалось нерастворимым в воде. Отклонений в состоянии здоровья при ежедневном наблюдении в течение 14 сут во всех четырех группах животных также не было выявлено.

При некропии у большинства мышей не отмечалось патологических изменений. Во 2-й группе у двух мышей наблюдались одиночные очаговые кровоизлияния в средней доле печени до 1 мм в диаметре. В 3-й группе у двух животных была выявлена гиперемия печени и у одной особи – очаговое кровоизлияние в легких. Патологические изменения, обнаруженные в ходе некропии у ряда подопытных мышей, могут быть следствием токсического действия трополона либо же являться результатом проведения процедуры эвтаназии.

Изучение динамики массы тела мышей при однократном воздействии трополона показало незначительное снижение данного показателя к концу периода наблюдений только у одной особи из 3-й группы. У остальных животных, напротив, наблюдалось увеличение массы тела к концу эксперимента на 0,5–2 г по сравнению с исходными значениями. При этом наиболее выраженным такое увеличение было в контрольной и 1-й группах, в которых мыши получали исследуемое соединение в минимальной дозе 0,0055 мг/г. Динамика массы тела животных в этих группах статистически значимо отличалась от таковой в 3-й группе, включавшей мышей, получивших вещество в максимальной исследованной дозе 0,55 мг/г (таблица).

Таблица

Изменение массы тела мышей Balb/c Nude на 14-е сут после однократного приема 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона, $M \pm m$	
Группа	Увеличение массы, г
Первая, $n = 5$	$1,6 \pm 0,11^a$
Вторая, $n = 5$	$1,3 \pm 0,29$
Третья, $n = 5$	$0,8 \pm 0,38^{*a}$
Контрольная, $n = 5$	$1,7 \pm 0,14^a$

Примечание. Отличается от значений, $p < 0,01$: * в контрольной группе; ^a в 1-й группе; ^b в 3-й группе; критерий Вилкоксона – Манна – Уитни.

Вышеизложенные межгрупповые различия могут быть связаны с метаболическими и иными сдвигами в организме мышей под влиянием изучаемого вещества.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ряде исследований продемонстрирована высокая противоопухолевая эффективность трополонов в сочетании с их минимальным воздействием на нормальные ткани и низкой токсичностью, что делает данную группу соединений перспективной [18]. В настоящее время наиболее изученным трополоном является хиноктиол (β -туяплицин), проявляющий высокую противоопухолевую активность по отношению к различным культурам опухолевых клеток [19, 20].

L.-H. Li и соавт. определили жизнеспособность опухолевых клеток A549 при воздействии хиноктиола, составляющую $52,7 \pm 3,6$ и $34,7 \pm 5,2$ при воздействии в течение 48 ч в концентрациях 5 и 10 мкМ соответственно, а также $28,9 \pm 1,1$ и $18,2 \pm 7,2$ при воздействии в течение 72 ч в концентрациях 5 и 10 мкМ соответственно [21]. В исследованиях H. Wakabayashi и соавт. показано, что ингибирующие концентрации (IC_{50}) синтезированных соединений из группы трополонов 7-бром-2-(4-гидроксианамино)-тропона и 4-изопропил-2-(2-гидроксианамино)-тропона в отношении культур клеток плоскоклеточной карциномы ротовой полости человека HSC-2, HSC-3, HSC-4 варьировали в зависимости от времени инкубации (24, 48, 72 и 96 ч) от 31 до 450 мкМ, что оказалось значительно выше по сравнению с IC_{50} синтезированного нами трополона [22]. Полученные нами результаты соответствуют данным других исследователей и могут свидетельствовать о высокой противоопухолевой эффективности нового соединения – 7-бром-2-(4-гидроксианамино)-тропона и 4-изопропил-2-(2-гидроксианамино)-тропона.

Существует ряд исследований, в которых продемонстрировано объяснение высокой противоопухолевой эффективности хиноктиола. Так, L.-H. Li и соавт. подтвердили, что в клетках рака легких хиноктиол вызывает аутофагию, остановку клеточного цикла в S-фазе и старение, а также ингибирует пролиферацию клеток. Таким образом, хиноктиол, как, вероятно, и другие вещества из группы трополонов, может выступать в качестве эффективного противоракового соединения благодаря индукции повреждения ДНК, аутофагии, остановки клеточного цикла и старения [21].

Если сравнивать острую токсичность синтезированного нами соединения с другими веществами-аналогами, то можно отметить его минимальное токсическое действие на организм лабораторных животных. Так, LD_{50} для γ -туяплицина, β -долабрина и хиноктиола составила 277, 232 и 191 мг/кг соответ-

ственно [23]. У. Morita и соавт. определили LD₅₀ для 4-ацетилтрополона, хиноктиола, β-долабрина, γ-туяплицина и α-туяплицина, составляющую 335,2; 191; 232; 277 и 256 мг/кг соответственно [24]. В нашем же исследовании острая токсичность 7-бром-2(4-гидроксианамино)-тропона и 4-изопропил-2-(2-гидроксианамино)-тропона не выявлена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При проведении МТТ-теста показано, что 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополон проявляет цитотоксическую активность в отношении клеточной линии немелкоклеточного рака легкого человека A549, при этом ингибирующая концентрация IC₅₀ предлагаемого соединения оказалась ниже таковой для цисплатины.

Нерастворимость в воде 2-(6,8-диметил-5-нитро-4-хлорхинолин-2-ил)-5,6,7-трихлор-1,3-трополона обусловила ограничение диапазона его исследованных доз, что не позволило в рамках исследования острой токсичности определить летальную дозу и, соответственно, определить класс токсичности. Отсутствие выраженных признаков токсического действия трополона при однократном введении в дозах 0,0055; 0,055 и 0,55 мг/г определяет границы его использования для дальнейшего изучения кумулятивных и противоопухолевых эффектов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Sayapin Yu.A., Bang D.N., Komissarov V.N., Dorogan I.V., Makarova N.I., Bondareva I.O. et al. Synthesis, structure, and photoisomerization of derivatives of 2-(2-quinolyl)-1,3-tropolones prepared by the condensation of 2-methylquinolines with 3,4,5,6-tetrachloro-1,2-benzoquinone. *Tetrahedron*. 2010;66(45):8763–8771. DOI: 10.1016/j.tet.2010.08.077.
- Кит О.И., Франциянц Е.М., Меньшенина А.П., Миосеенко Т.И., Ушакова Н.Д., Попова Н.Н., Якунин А.В. Роль плазмолитической и ксенонтерапии в коррекции острых последствий хирургической менопаузы у больных раком шейки матки. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2016;117:472–486.
- Бурнашева Е.В., Шатохин Ю.В., Снежко И.В., Мацуга А.А. Поражение почек при противоопухолевой терапии. *Нефрология*. 2018;22(5):17–24. DOI: 10.24884/1561-6274-2018-22-5-17-24.
- Coburn J.M., Kaplan D.L. Engineering biomaterial-drug conjugates for local and sustained chemotherapeutic delivery. *Bioconjug Chem*. 2015;26(7):1212–1223. DOI: 10.1021/acs.bioconjugchem.5b00046.
- Владимирова Л.Ю., Сторожакова А.Э., Калабанова Е.А., Вереникина Е.В., Кабанов С.Н., Светитская Ю.В. и др. Опыт применения бевацизумаба в поддерживающей терапии у больных раком яичников. *Южно-Российский онкологический журнал*. 2020;1(3):67–74. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-3-7.
- Максимов А.Ю., Лукбанова Е.А., Саяпин Ю.А., Гусаков Е.А., Гончарова А.С., Лизенко И.В. и др. Противоопухолевая активность алкалоидов трополонового ряда *in vitro* и *in vivo*. *Современные проблемы науки и образования*. 2020;2:169–169. DOI: 10.17513/spno.29722.
- Зыонг Нгиа Банг, Саяпин Ю.А., Хоанг Лам, Нгуен Данг Дык, Комиссаров В.Н. Синтез и цитотоксическая активность производных [бензо[б][1,4]оксазепино[7,6,5-de]хинолин-2-ил]-1,3-трополонов. *Химия гетероциклических соединений*. 2015;51(3):291–294. DOI: 10.1007/s10593-015-1697-2.
- Посон П.Л. Химия трополонов и трополонов; пер. с англ. А.С. Хохлова; под ред. чл.-корр. АН СССР М.М. Шемякина. М.: Изд-во иностр. лит., 1956:204.
- Kantorowski E.J., Kurth M.J. Expansion to seven-membered rings. *Tetrahedron*. 2000;56(26):4317–4353. DOI: 10.1016/S0040-4020(00)00218-0.
- Gusakov E.A., Topchu I.A., Mazitova A.M., Dorogan I.V., Bulatov E.R., Serebriiskii I.G. et al. Design, synthesis and biological evaluation of 2-quinolyl-1,3-tropolone derivatives as new anti-cancer agents. *RSC Advances*. 2021;11(8):4555–4571. DOI: 10.1039/d0ra10610k.
- Минкин В.И., Кит О.И., Гончарова А.С., Лукбанова Е.А., Саяпин Ю.А., Гусаков Е.А. и др. Средство, обладающее цитотоксической активностью в отношении культуры клеток немелкоклеточного рака легких А 549. Патент РФ. RU 2741311 C1. Заявка № 2020123736 от 17.07.2020.
- Berridge M.V., Herst P.M., Tan A.S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*. 2005;11:127–152. DOI: 10.1016/S1387-2656(05)11004-7.
- Russell W.M.S., Birch R.L. The principles of humane experimental technique. Methuen, London; 1959: 258.
- Szadvari I., Krizanov O., Babula P. Athymic nude mice as an experimental model for cancer treatment. *Physiol. Res*. 2016;65(4):441–453. DOI: 10.33549/physiolres.933526.
- Fu W., Lei C., Liu S., Cui Y., Wang C., Qian K. et al. CAR exosomes derived from effector CAR-T cells have potent antitumor effects and low toxicity. *Nat. Commun*. 2019;10(1):4355. DOI: 10.1038/s41467-019-12321-3.
- Методы исследования цитотоксичности при скрининге лекарственных препаратов: учеб.-метод. пособие к практическим занятиям по курсу «Методы скрининга физиологически активных веществ»; А.Г. Иксанова, О.В. Бондарь, К.В. Балакин. Казань: Казанский университет, 2016:40.
- Jayakumar T., Liu C.-H., Wu G.-Y. et al. Hinokitiol inhibits migration of A549 lung cancer cells via suppression of MMPs and induction of antioxidant enzymes and apoptosis. *Int. J. Mol. Sci*. 2018;19(4):939. DOI: 10.3390/ijms19040939.
- Li J., Falcone E.R., Holstein S.A., Anderson A.C., Wright D.L., Wieme A.J. Novel α-substituted tropolones promote potent and selective caspase-dependent leukemia cell apoptosis. *Pharmacol. Res*. 2016;113(PtA):438–448. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.09.020.
- Van Vuuren J.L., Visser H.G., Schutte-Smith M. Crystal structure of 2-(methyl-amino)-tropone. *Acta Crystallogr. E Crystallogr. Commun*. 2019;75(Pt8):1128–1132. DOI: 10.1107/S2056989019009502.
- Kurek J., Kwaśniewska-Sip P., Myszkowski K., Cofta G.,

- Barczyński P., Murias M., Kurczab R., Śliwa P., Przybylski P. Antifungal, anticancer, and docking studies of colchicine complexes with monovalent metal cation salts. *Chem. Biol. Drug Des.* 2019;94(5):1930–1943. DOI: 10.1111/cbdd.13583.
21. Li L.-H., Wu P., Lee J.-Y., Li P.-R., Hsieh W.-Y., Ho C.-C. et al. Hinokitiol induces DNA damage and autophagy followed by cell cycle arrest and senescence in gefitinib-resistant lung adenocarcinoma cells. *PLoS One.* 2014;9(8):e104203. DOI: 10.1371/journal.pone.0104203.
22. Wakabayashi H., Narita T., Suga A. Hormetic response of cultured normal and tumor cells to 2-aminotropone derivatives. *In Vivo.* 2010;24(1):39–44.
23. Matsumura E., Morita Y., Date T. Cytotoxicity of the hinokitiol-related compounds, γ -thujaplicin and β -dolabrin. *Biol. Pharm. Bull.* 2001;24(3):299–302. DOI: 10.1248/bpb.24.299
24. Morita Y., Matsumura E., Tsujibo H. Biological activity of 4-acetyltropolone, the minor component of *Thujopsis dolabrata* Sieb. et Zucc. hondai Mak. *Biol. Pharm. Bull.* 2002;25(8):981–985. DOI: 10.1248/bpb.25.981.

Благодарности

Выражаем благодарность Олеся Андреевне Оссовской за перевод текста рукописи на английский язык.

Вклад авторов

Кит О.И. – разработка дизайна исследования, интерпретация и анализ результатов. Минкин В.И. – концепция и дизайн исследования, синтез вещества. Лукбанова Е.А. – интерпретация и анализ результатов, написание рукописи. Саяпин Ю.А. – синтез вещества, написание рукописи. Гусаков Е.А. – проведение ядерного магнитного резонанса ^1H , инфракрасной и масс-спектрометрии, анализ результатов. Ситковская А.О. – проведение МТТ-теста, редактирование рукописи. Филиппова С.Ю. – работа с культурой клеток, проведение МТТ-теста. Комарова Е.Ф. – концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи. Волкова А.В. – проведение пробит-анализа. Ходакова Д.В. – статистический анализ. Миндарь М.В. – написание рукописи. Лазутин Ю.Н. – редактирование рукописи. Енгибарян М.А. – техническое редактирование рукописи. Колесников В.Е. – написание текста, оформление библиографии.

Информация об авторах

Кит Олег Иванович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, генеральный директор НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, onko-sekretar@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3061-6108>

Минкин Владимир Исаакович – академик РАН, науч. руководитель НИИ ФОХ, ЮФУ; науч. руководитель направления, член Президиума ЮНЦ РАН, г. Ростов-на-Дону, viminkin@sfedu.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6096-503X>

Лукбанова Екатерина Алексеевна – науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, katya.samarskaja@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3036-6199>

Саяпин Юрий Анатольевич – канд. хим. наук, зав. лабораторией физической и органической химии, ЮНЦ РАН, г. Ростов-на-Дону, sayapinscience@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-3180-1762>

Гусаков Евгений Александрович – канд. хим. наук, науч. сотрудник, НИИ ФОХ, ЮФУ, г. Ростов-на-Дону, gusakovevgeniy@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7593-1334>

Ситковская Анастасия Олеговна – зав. лабораторией клеточных технологий, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, grankina.anastasia@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6035-1756>

Филиппова Светлана Юрьевна – науч. сотрудник, лаборатория клеточных технологий, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, filsv@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4558-5896>

Комарова Екатерина Федоровна – д-р биол. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии; зав. кафедрой биомедицины, РостГМУ, г. Ростов-на-Дону, katitako@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7553-6550>

Волкова Анастасия Владимировна – мл. науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, volkovaav58@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7823-3865>

Ходакова Дарья Владиславовна – мл. науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, socstail.moxuto@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3753-4463>

Миндарь Мария Вадимовна – мл. науч. сотрудник, испытательный лабораторный центр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, m.v.mindar@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-8734-9210>

Лазутин Юрий Николаевич – канд. мед. наук, врач-онколог, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, onko-sekretar@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6655-7632>

Енгибарян Марина Александровна – д-р мед. наук, врач-онколог, заведующая отделением, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, mar457@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7293-2358>

Колесников Владимир Евгеньевич – д-р мед. наук, врач-онколог, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, onko-sekretar@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9979-4095>

(✉) Лукбанова Екатерина Алексеевна, katya.samarskaja@yandex.ru

Поступила в редакцию 23.05.2021;
одобрена после рецензирования 30.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021



УДК 616-056.7:576.311.344]-039-079.4:004.8
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-67-73>

Компьютерная система для дифференциальной диагностики лизосомных болезней накопления на основе методов искусственного интеллекта

Кобринский Б.А.¹, Благодослов Н.А.¹, Демикова Н.С.^{2,3}, Николаева Е.А.³,
Коталевская Ю.Ю.⁴, Меликян Л.П.³, Зиновьева Ю.М.⁴

¹Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» (ФИЦ ИУ) Российской академии наук (РАН)

Россия, 119333, г. Москва, ул. Вавилова, 44

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования (РМАНПО)

Россия, 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

³Научно-исследовательский клинический институт (НИКИ) педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 125412, г. Москва, ул. Талдомская, 2

⁴Медико-генетический центр (МГЦ), Московский областной научно-исследовательский клинический институт (МОНКИ) им. М.Ф. Владимирского
Россия, 129110 г. Москва, ул. Щепкина, 61/2

РЕЗЮМЕ

Цель – повышение эффективности диагностики наследственных лизосомных болезней накопления с использованием интеллектуальной компьютерной системы поддержки принятия решений.

Материалы и методы. В качестве материала для клинической апробации компьютерной диагностической системы использованы описания 35 клинических случаев из литературы и данные 52 пациентов из электронных медицинских карт (в деперсонифицированном виде). Методы инженерии знаний использовались для извлечения, структуризации и формализации знаний из текстов и у экспертов. Литературные источники включали онлайн-базы данных и публикации (русско- и англоязычные). На этой основе для каждой клинической формы лизосомных болезней были сформированы текстологические карты, информация которых корректировалась экспертами. Затем формировались матрицы, включающие факторы уверенности (коэффициенты) для манифестации, выраженности и релевантности признаков по каждой из возрастных групп (до 1 года, от 1 года до 3 лет включительно, от 4 до 6 лет включительно, 7 лет и старше). База знаний экспертной системы реализована на онтологической сети и включает модель заболевания с эталонными вариантами клинических форм. Принятие решений осуществляется с использованием продукционных правил.

Результаты. Разработана экспертная компьютерная система поддержки принятия клинических решений на долабораторном этапе дифференциальной диагностики лизосомных болезней накопления. Результатом ее работы является ранжированный перечень диагностических гипотез, отражающий степень их соответствия эталонным описаниям клинических форм болезней в базе знаний. Проведена апробация системы на случаях из литературных источников и на данных пациентов из электронных медицинских карт. Критерием для оценки эффективности распознавания болезни было включение верифицированного диагноза в перечень из пяти гипотез, выдаваемых системой. По итогам проведенной апробации точность составила 87,4%.

Заключение. Экспертная система для диагностики наследственных болезней показала достаточно высокую эффективность на этапе формирования дифференциально-диагностического ряда на долабораторном этапе, что позволяет говорить о возможности ее использования в клинической практике.

✉ Благодослов Николай Алексеевич, nblagodoslov@frccsc.ru

Ключевые слова: наследственные заболевания, орфанные болезни, лизосомные болезни накопления, дифференциальная диагностика, экспертная система, поддержка принятия решений, факторы уверенности

Конфликт интересов и вклад авторов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках финансирования государственного задания «Системы искусственного интеллекта, извлечение знаний и анализ текстов 2019–2023» (№ 0063-2019-0001).

Соответствие принципам этики. Для публикации результатов оригинальной работы использовались деперсонифицированные ретроспективные данные из электронных медицинских карт.

Для цитирования: Кобринский Б.А., Благодосклонов Н.А., Демикова Н.С., Николаева Е.А., Коталевская Ю.Ю., Меликян Л.П., Зиновьева Ю.М. Компьютерная система для дифференциальной диагностики лизосомных болезней накопления на основе методов искусственного интеллекта. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):67–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-67-73>.

An artificial intelligence computer system for differential diagnosis of lysosomal storage diseases

Kobriniskii B.A.¹, Blagosklonov N.A.¹, Demikova N.S.^{2,3}, Nikolaeva E.A.³, Kotalevskaya Y.Y.⁴, Melikyan L.P.³, Zinovieva Y.M.⁴

¹Federal Research Center “Computer Science and Control”, the Russian Academy of Sciences
44, Vavilova Str., Moscow, 119333, Russian Federation

²Russian Medical Academy for Continuing Professional Education
2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, 125993, Russian Federation

³Veltishchev Research Clinical Institute for Pediatrics,
Pirogov Russian National Research Medical University
2, Taldomskaya Str., Moscow, 125412, Russian Federation

⁴Medical Genetic Center of the Moscow Regional Clinical Research Institute (MONIKI)
61/2, Shchepkina Str., Moscow, 129110, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To improve the efficiency of diagnosis of hereditary lysosomal storage diseases using an intelligent computer-based decision support system.

Materials and methods. Descriptions of 35 clinical cases from the literature and depersonalized data of 52 patients from electronic health records were used as material for clinical testing of the computer diagnostic system. Knowledge engineering techniques have been used to extract, structure, and formalize knowledge from texts and experts. Literary sources included online databases and publications (in Russian and English). On this basis, for each clinical form of lysosomal diseases, textological cards were created, the information in which was corrected by experts. Then matrices were formed, including certainty factors (coefficients) for the manifestation, severity, and relevance of signs for each age group (up to 1 year, from 1 to 3 years inclusive, from 4 to 6 years inclusive, 7 years and older). The knowledge base of the expert system was implemented on the ontology network and included a disease model with reference variants of clinical forms. Decision making was carried out using production rules.

Results. The expert computer system was developed to support clinical decision-making at the pre-laboratory stage of differential diagnosis of lysosomal storage diseases. The result of its operation was a ranked list of hypotheses, reflecting the degree of their compliance with reference descriptions of clinical disease forms in the knowledge base. Clinical testing was carried out on cases from literary sources and patient data from electronic health records. The criterion for assessing the effectiveness of disease recognition was inclusion of the verified diagnosis in the list of five hypotheses generated by the system. Based on the testing results, the accuracy was 87.4%.

Conclusion. The expert system for the diagnosis of hereditary diseases has shown fairly high efficiency at the stage of compiling a differential diagnosis list at the pre-laboratory stage, which allows us to speak about the possibility of its use in clinical practice.

Keywords: hereditary diseases, orphan diseases, lysosomal storage diseases, differential diagnosis, expert system, decision support, certainty factors

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was carried out within the state assignment “Artificial intelligence systems, knowledge extraction, and text analysis 2019–2023” (No. 0063-2019-0001).

Conformity with the principles of ethics. To publish the results of the original work, depersonalized retrospective data from electronic health records were used.

For citation: Kobrinskii B.A., Blagosklonov N.A., Demikova N.S., Nikolaeva E.A., Kotalevskaya Y.Y., Melikyan L.P., Zinovieva Y.M. An artificial intelligence computer system for differential diagnosis of lysosomal storage diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):67–73. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-67-73>.

ВВЕДЕНИЕ

Лизосомные болезни накопления (ЛБН) [1, 2], включающие мукополисахаридозы (МПС), муколипидозы (МЛП), ганглиозидозы (ГЗ) и другие формы, относятся к классу наследственной патологии и характеризуются накоплением специфического субстрата. Заболевание начинается с рождения и носит прогрессивный характер, что обуславливает нарастание выраженности фенотипических признаков с возрастом [3]. Значение максимально ранней диагностики этих заболеваний особенно возросло в последний период в связи с появлением ферментозаместительной терапии [4–7]. При фармакологической компенсации дефицитного фермента происходит остановка в развитии патологических проявлений, однако редукции произошедших ранее изменений не наступает.

В то же время диагностика ЛБН у детей на ранних сроках манифестации заболевания бывает крайне затруднительна, что обусловлено высокой вариабельностью клинических проявлений. Поэтому в различных источниках встречаются противоречивые описания, личный опыт врача в работе с такими пациентами весьма ограничен, в то время как для раннего подозрения о наличии у ребенка редкого заболевания требуются знания о незначительных проявлениях. Однако неспецифические начальные симптомы приводят к тому, что у большого числа пациентов диагноз не устанавливается в течение длительного времени или имеет место ошибка диагностики [8]. Так, в Нидерландах время постановки диагноза для пациентов с МПС не изменилось между 1988 и 2017 гг. и существует большая задержка

между первым визитом к врачу по поводу симптомов болезни и окончательным диагнозом [9]. Однако большое число сходных по фенотипическим проявлениям болезней затрудняет для врача сопоставление признаков пациента с описаниями в клинических рекомендациях, монографиях, статьях, информационных базах.

В то же время можно выделить паттерны признаков, создающие определенный «портрет» заболевания. Для ускорения и повышения точности идентификации орфанных болезней возможно использование компьютерных систем поддержки принятия решений на основе методов искусственного интеллекта. Среди ранее эффективно применявшихся и существующих в настоящее время программ можно отметить российскую «ДИАГЕН» [10], французскую GENDIAG [11], австралийскую POSSUM [12], британскую Face2Gene [13], немецкую Ada DX [14]. Все они в той или иной степени используют экспертные знания, хотя принципы их построения отличаются.

Показано, что такие системы могут повысить вероятность распознавания редких болезней на ранних стадиях. В то же время существует ряд причин, которые серьезно затрудняют эксплуатацию зарубежных программных продуктов. Это:

- частичное несоответствие принятой отечественной терминологии;
- особенности этнического разнообразия, которые накладываются на фенотипические проявления заболеваний;
- требования по защите персональных данных пациентов, так как часть зарубежных систем реализованы в виде облачных приложений на иностранных серверах.

Кроме того, важным аспектом является интерпретация предлагаемых системой диагностических решений. Отсутствие или формальное объяснение не способствует пониманию предлагаемых диагностических гипотез. Это определяет актуальность разработки отечественной компьютерной системы для диагностики наследственных заболеваний.

Цель настоящей работы – повышение эффективности идентификации генетических болезней на основе использования интеллектуальной системы поддержки принятия клинических решений, формирующей узкий дифференциально-диагностический ряд на долабораторном этапе обследования пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При разработке компьютерной системы для дифференциальной диагностики ЛБН основной задачей было сформировать базу знаний. Для этого вначале был проведен анализ литературных источников: монографии и журнальные публикации на русском и английском языках с особым упором на описания случаев из практики, отечественные клинические рекомендации, специализированные зарубежные онлайн-базы данных по проблемной области. Они послужили первичным материалом для формирования базы знаний компьютерной системы. Знания, полученные из литературных источников, структурировались с помощью специально разработанной формы – текстологической карты [15], в которой фиксировался не только факт обнаружения признака, но также срок его манифестации, выраженность и указываемая авторами частота встречаемости для конкретного диагноза. Эти структурированные описания заболеваний, агрегирующие знания из множества источников, были в последующем использованы экспертами при формировании симптомокомплексов, описывающих дифференцируемые ЛБН.

Эксперты выделили релевантные фенотипические признаки и указали факторы уверенности, характеризующие их меру доверия к проявлению симптомов в определенном возрасте. Некоторые проявления были представлены более общими понятиями, например, такими как кардиопатия, ввиду встречаемости различных признаков, характеризующих морфологические или функциональные изменения. Были выделены четыре возрастные группы, в которых отмечается манифестация и (или) изменение модальности (диагностической значимости или релевантности) и выраженности признаков при ЛБН: 1-й год жизни, 1–3 года включительно, 4–6 лет включительно, 7 лет и старше. Каждый признак сопровождается тремя экспертными оценками: коэффициентами модальности, факторами уверенности

для манифестации и выраженности. Таким образом, методы инженерии знаний использовались для извлечения, структуризации и формализации знаний, на основе которых формировалась база знаний экспертной системы [16].

Материалом для проведения клинической апробации системы явились описания клинической картины 87 пациентов с верифицированными диагнозами. Выборка включала 35 клинических случаев из литературы (МПС – 27, МЛП – 3, ГЗ – 5) и деперсонифицированные формализованные выписки 52 пациентов (МПС – 46, МЛП – 6) из отделения врожденных и наследственных заболеваний НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева РНИМУ им. Н.И. Пирогова и Медико-генетического центра МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Разработана интеллектуальная (экспертная) система «ГенДиЭС» для поддержки принятия решений на долабораторном этапе диагностики ЛБН. Правила базы знаний реализованы с применением онтологического подхода. В решателе системы использованы продукционные правила, которые могут содержать признаки, не отнесенные экспертами к диагностически значимым для рассматриваемой гипотезы. Наличие таких признаков в модели не отвергает диагноз, но приводит к понижению ранга такой гипотезы в дифференциальном ряду. Модель интегральной оценки [17] позволяет в комплексе учитывать экспертные оценки к модальности, манифестации и выраженности признаков, обеспечивая сравнение нового объекта с эталонными вариантами известных клинических форм. На основе выявленных у пациента признаков в модели осуществляются расчеты для определения сходства нового случая с эталонными описаниями ЛБН. Результатом является формирование дифференциально-диагностического ряда.

Решатель системы «ГенДиЭС» включает несколько шагов, необходимых в процессе выдвижения и подтверждения гипотез. На первом шаге идет отбор диагнозов, для которых в описании пациента отсутствуют признаки «против» или признаки, отмеченные экспертами как противоречащие группе или подгруппе заболеваний. Примером такого рода признаков является симптом «вишневой косточки» на глазном дне, который сразу позволяет исключить группу МПС. На втором шаге оставшиеся потенциально возможные у пациента диагнозы упорядочиваются по количеству признаков, «не относящихся» к гипотезе, – по возрастанию – от нуля и далее с шагом в единицу. Признаком, «не относящимся» к гипотезе, является такой, который не входит как диагностиче-

ски значимый в перечень для конкретной клинической формы, но и не был указан как признак-отрицание. На третьем шаге осуществляется формирование ряда интегральных оценок экспертных факторов уверенности признаков для конкретного случая в соответствии с выдвинутыми диагностическими гипотезами. Затем персональные интегральные оценки сравниваются с эталонными интегральными оценками клинических форм ЛБН и осуществляется расчет процента сходства. В соответствии с этим гипотезы ранжируются, начиная с наиболее сходного варианта. Этот ранжированный перечень из пяти первых гипотез подается на выход системы. Однако, по желанию врача, данный перечень может быть расширен.

В качестве объяснения для каждой выдвинутой гипотезы врач получает информацию о признаках пациента, сгруппированных, в зависимости от их важности, по следующим категориям: главные, необходимые, второстепенные. Отдельно пользователю предоставляется информация о признаках, отмеченных у пациента, но не включенных экспертами в симптомокомплекс данного заболевания в системе «ГенДиЭС». Также врач получает перечень признаков, характерных для данной клинической формы, но не отмеченных им у пациента. Это позволяет направить внимание врача на поиск дополнительных признаков у пациента, наличие которых могло бы повысить уверенность в данном диагнозе.

По итогам апробации экспертной системы на 87 случаях МПС, МЛП и ГЗ точность включения диагнозов в узкий дифференциально-диагностический ряд составила 87,4%, т.е. в 76 случаях верный диагноз (соответствующий верифицированному) был в числе первых пяти гипотез на долабораторном этапе диагностики.

Не менее важен анализ 11 ошибочных диагностических гипотез с использованием системы «ГенДиЭС», которые распределились по клиническим формам следующим образом: МПС III типа – 3, МПС IV типа – 5, МПС VI типа – 1, МПС VII типа – 1, МЛП III типа – 1. Из девяти пациентов с диагнозом МПС III типа (синдром Санфилиппо) в трех случаях (возраст: 4 года, 7 лет 3 мес, 7 лет 8 мес) эта клиническая форма не была указана среди первых пяти возможных гипотез, что объясняется отсутствием в эталонных описаниях следующих признаков: скафоцефалия, килевидная грудная клетка, кифосколиоз, деформация суставов кисти. В пяти случаях МПС IV типа (синдром Моркио) правильная диагностическая гипотеза оказалась за пределами первых пяти вследствие наличия в описаниях клинической картины у всех пациентов спленомегалии, также отсутствующей в эталонном описании. Пациенты с диа-

гнозом МПС IV типа были в возрасте: 2 года 3 мес, 6 лет 11 мес, 8 лет, 8 лет 9 мес, 9 лет 2 мес. У пациента с МПС VI типа в возрасте 1 года 1 мес наблюдалась ранняя манифестация грубых черт лица и поясничного гиперлордоза, а также наличие нехарактерного признака – воронкообразной грудной клеткой. У пациента с МПС VII типа в возрасте 6 мес уже присутствовали признаки, которые обычно проявляются значительно позже: гипертрихоз, помутнение роговицы, гепатомегалия, спленомегалия, кардиопатия.

Отмеченные фенотипические особенности по данным литературных источников, включая клинические рекомендации, встречаются крайне редко или отсутствуют. У пациента 5 лет 8 мес с диагнозом МЛП III типа верная гипотеза не вошла в ограниченный перечень диагнозов, в то время как на первом месте была гипотеза о наличии у пациента фенотипически очень сходного МЛП II типа.

В то же время следует отметить, что во всех 11 случаях диагнозы, соответствующие верифицированным, были в списке ранжированных гипотез, но ниже пятого места. Они представлены в дифференциально-диагностическом ряду из 10 возможных диагнозов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наследственные ЛБН характеризуются сходством фенотипических проявлений, но различия в сроках манифестации, выраженности и диагностической значимости признаков могут помочь в идентификации этих заболеваний на долабораторном этапе диагностики. Однако редкость этой патологии в практике врача-педиатра не дает ему возможности помнить особенности и различные комбинации проявлений для отдельных клинических форм в зависимости от возраста пациента [18].

Помощь в повышении точности и своевременности постановки диагноза могут оказать компьютерные системы поддержки принятия решений. На этапе предварительной (долабораторной) диагностики они позволяют сформировать дифференциально-диагностический ряд. В разных системах это поле гипотез различно. В ранее использовавшихся российской системе «ДИАГЕН» [10] и французской GENDIAG [11] врачу предлагался упорядоченный ограниченный перечень из трех–пяти диагностических гипотез. В новой немецкой системе Ada DX [14] верный диагноз среди пяти наиболее подходящих вариантов заболевания имеет место в 53,8% случаев, а в качестве наиболее подходящего варианта заболевания – в 37,6% случаев. В противовес этому британская система Face2Gene [13] выводит все возможные гипотезы, дополняя их вероятностными оценками.

Опираясь на отечественный и зарубежный опыт, при создании системы «ГенДиЭС» было решено формировать перечень из пяти выдаваемых врачу гипотез с возможностью расширения до 10 и более. Однако расширение дифференциально-диагностического ряда будет приводить к включению менее вероятных диагнозов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная экспертная система «ГенДиЭС» для поддержки принятия решений на долабораторном этапе диагностики лизосомных болезней накопления продемонстрировала эффективность в 87,4% случаев при формировании узкого дифференциально-диагностического ряда из пяти гипотез. Предложенный подход к извлечению знаний, сопровождаемых экспертными оценками, и реализованная математическая модель интеллектуальной системы показали свою эффективность и возможность применения в клинической практике. Система является открытой и позволяет расширять базу знаний для диагностики других наследственных заболеваний.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Platt F.M., d'Azzo A., Davidson B.L. et al. Lysosomal storage diseases. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018;4(1):27. DOI: 10.1038/s41572-018-0025-4.
2. Goyal M., Gupta A. Lysosomal storage disorders: clinical, biochemical and molecular profile from Rare disease centre, India. *Ann. Indian Acad. Neurol.* 2021;24(5):686–692. DOI: 10.4103/aian.AIAN_1009_20.
3. Назаренко Л.П., Назаренко М.С. Особенности раннего проявления лизосомных болезней накопления. *Медицинская генетика*. 2013;12(9):20–24.
4. Carbajal-Rodríguez L.M., Pérez-García M., Rodríguez-Herrera R., Rosales H.S., Olaya-Vargas A. Long-term evolution of mucopolysaccharidosis type I in twins treated with enzyme replacement therapy plus hematopoietic stem cells transplantation. *Heliyon*. 2021;7(8):e07740. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e07740.
5. Николаева Е.А., Семякина А.Н. Современные возможности лечения наследственных заболеваний у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2018;63(4):6–14. DOI: 10.21508/1027-4065-2018-63-4-6-14.
6. Gabrielli O., Clarke L.A., Ficcadenti A., Santoro L., Zampini L., Volpi N., Coppa G.V. 12 year follow up of enzyme-replacement therapy in two siblings with attenuated mucopolysaccharidosis I: the important role of early treatment. *BMC Medical Genetics*. 2016;17:19. DOI: 10.1186/s12881-016-0284-4.
7. Mohammad S.S., Paget S.P., Dalre R.C. Current therapies and therapeutic decision making for childhood-onset movement disorders. *Movement Disorders*. 2019;34(5):637–656. DOI: 10.1002/mds.27661.
8. Colmenares-Bonilla D., Colin-Gonzalez Ch., Gonzalez-Segoviano A., Garcia E.E., Vela-Huerta M.M., Lopez-Gomez F.G. Diagnosis of mucopolysaccharidosis based on history and clinical features: evidence from the Bajío region of Mexico. *Cureus*. 2018;10(11):e3617. DOI: 10.7759/cureus.3617.
9. Kuiper G.-A., Meijer O.L.M., Langereis E.J., Wijburg F.A. Failure to shorten the diagnostic delay in two ultra-orphan diseases (mucopolysaccharidosis types I and III): potential causes and implications. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2018;13(1):2. DOI: 10.1186/s13023-017-0733-y.
10. Кобринский Б.А. Компьютерная поддержка врачебных решений в педиатрии: регистр и диагностическая система по наследственным болезням. *Вестник ВОИВТ*. 1991;(1):20–25.
11. Gouvernet J., Caraboenf M., Ayme S. GENDIAG: A computer assisted facility in medical genetics based on belief functions. *Methods of Information in Medicine*. 1985;24(4):177–180.
12. Fryer A. POSSUM (pictures of standard syndromes and undiagnosed malformations). *Journal of Medical Genetics*. 1991;28(1):66–67. DOI: 10.1136/jmg.28.1.66-a.
13. Allanson J.E., Cunniff C., Hoyme H.E., McGaughan J., Muenke M., Neri G. Elements of morphology: standard terminology for the head and face. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2009;149A(1):6–28. DOI: 10.1002/ajmg.a.32612.
14. Ronicke S., Hirsch M.C., Türk E., Larionov K., Tientcheu D., Wagner A.D. Can a decision support system accelerate rare disease diagnosis? Evaluating the potential impact of Ada DX in a retrospective study. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2019;14(1):69. DOI: 10.1186/s13023-019-1040-6.
15. Kobrinskii B.A., Demikova N.S., Blagosklonov N.A. Knowledge engineering in construction of expert systems on hereditary diseases. Artificial Intelligence. 16th Russian Conference, RCAI 2018, Moscow, Russia, September 24–27, 2018, Proceedings. 2018;934:35–45. DOI: 10.1007/978-3-030-00617-4_4.
16. Гаврилова Т.А., Кудрявцев Д.В., Муромцев Д.И. Инженерия знаний. Модели и методы. СПб: Лань, 2021:324.
17. Blagosklonov N.A., Kobrinskii B.A. Model of integral evaluation of expert knowledge for the diagnosis of lysosomal storage diseases. *CEUR Workshop Proceedings*. 2020; 2648:250–264.
18. Байдакова Г.В., Бобрынина В.О., Бочков Н.П., Воскобоева Е.Ю., Гинтер Е.К., Голихина Т.А. и др. Наследственные болезни: Национальное руководство: краткое издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017:464.

Благодарности

Авторы выражают признательность сотрудникам Института автоматики и процессов управления ДВО РАН д-ру техн. наук, профессору Валерии Викторовне Грибовой и канд. техн. наук Елене Арефьевне Шалфеевой за участие в экспериментах по диагностике лизосомных болезней накопления на платформе IACPaaS.

Вклад авторов

Кобринский Б.А. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация результатов, окончательное утверждение для публикации рукописи, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Благосклонов Н.А. – разработка дизайна исследования, анализ данных и интерпретация результатов, подготовка текста рукописи. Демикова Н.С. – анализ и интерпретация результатов, обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Николаева Е.А., Коталевская Ю.Ю. – сбор данных и подготовка текста рукописи. Меликян Л.П., Зиновьева Ю.М. – сбор данных.

Информация об авторах

Кобринский Борис Аркадьевич – д-р мед. наук, зав. отделом «Систем интеллектуальной поддержки принятия решений», ФИЦ ИУ РАН, г. Москва, kba_05@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3459-8851>

Благосклонов Николай Алексеевич – мл. науч. сотрудник, отдел «Систем интеллектуальной поддержки принятия решений», ФИЦ ИУ РАН, г. Москва, nblagosklonov@frccsc.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5293-8469>

Демикова Наталия Сергеевна – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, РНИМУ им. Н.И. Пирогова; зав. кафедрой медицинской генетики, РМАНПО, г. Москва, ns_d@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0623-0301>

Николаева Екатерина Александровна – д-р мед. наук, руководитель отдела клинической генетики, НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, enikolaeva@pedklin.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7146-7220>

Коталевская Юлия Юрьевна – канд. мед. наук, зав. консультативным отделением, врач-генетик, МГЦ, МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, kotalevskaya@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8405-8223>

Меликян Люся Петросовна – науч. сотрудник, отдел клинической генетики, НИКИ педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, melikian.l@pedklin.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2029-9890>

Зиновьева Юлия Михайловна – врач-генетик, МГЦ, МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, juliaz85@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0237-3148>

(✉) **Благосклонов Николай Алексеевич**, nblagosklonov@frccsc.ru

Поступила в редакцию 14.01.2022;
одобрена после рецензирования 11.02.2022;
принята к публикации 10.03.2022

УДК 616.12-008.313.2:575.174.015.3:577.112
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-74-81>

Сопряженность экспрессии кальций-транспортирующих белков саркоплазматического ретикулума с их полиморфными вариантами генов и структурно-функциональным состоянием сердца пациентов с фибрилляцией предсердий

Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., Муслимова Э.Ф., Арчаков Е.А., Баталов Р.Е.

Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследовать взаимосвязь между экспрессией Ca^{2+} -транспортирующих белков саркоплазматического ретикулума, полиморфными вариантами их генов и структурно-функциональным состоянием сердца пациентов с фибрилляцией предсердий (ФП).

Материалы и методы. В исследование включили пациентов с ФП. Больным проведена радиочастотная абляция, во время которой была взята биопсия миокарда. Пациентам проводили эхокардиографию (ЭхоКГ) до оперативного вмешательства. У больных определены полиморфные варианты rs1860561 гена *ATP2A2* и rs6684209, rs7521023 гена *CASQ2* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и уровень экспрессии белков SERCA2a и CASQ2 в миокарде методом иммуноблоттинга.

Результаты. Для носителей генотипов GG rs1860561 гена *ATP2A2* и CC rs6684209 гена *CASQ2* характерны значительно более высокие экспрессии соответствующих белков. С помощью кластерного анализа были выявлены группы пациентов по уровню экспрессии SERCA2a и CASQ2: 1 – пациенты с низким содержанием белков; 2 – с высоким содержанием белков. По клинко-анамнестическим показателям пациенты отобранных групп оказались практически однородны. У пациентов с высоким уровнем SERCA2a величины конечного систолического и диастолического объемов левого желудочка (ЛЖ) были значительно больше, чем таковые у больных с низким уровнем этого белка. Скорости раннего (пик E) и позднего диастолического наполнения (пик A) ЛЖ были статистически значительно ниже в группе с высоким уровнем экспрессии SERCA2a. Сравнительный анализ данных ЭхоКГ пациентов, распределенных по уровню экспрессии CASQ2 в миокарде, не выявил значимых различий между группами.

Заключение. Генотипы rs1860561 гена *ATP2A2* и rs6684209 гена *CASQ2* могут модулировать уровень экспрессии SERCA2a и CASQ2. Экспрессия SERCA2a сопряжена с функционально-структурными показателями сердца пациентов с ФП.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, Ca^{2+} -АТФаза саркоплазматического ретикулума, кальсеквестрин, полиморфные варианты генов, эхокардиография

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках темы фундаментальных научных исследований по государственному заданию № АААА-А15-115123110026-3 (исследование полиморфизмов генов *ATP2A2* и *CASQ2*) и гранта РНФ 20-75-00003 (изучение белков SERCA2a и CASQ2).

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 139 от 18.11.2015).

Для цитирования: Кондратьева Д.С., Афанасьев С.А., Муслимова Э.Ф., Арчаков Е.А., Баталов Р.Е. Сопряженность экспрессии кальций-транспортирующих белков саркоплазматического ретикулума с их полиморфными вариантами генов и структурно-функциональным состоянием сердца пациентов с фибрилляцией предсердий. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):74–81. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-74-81>.

Relationship of the expression of calcium-handling proteins in the sarcoplasmic reticulum with polymorphic variants of their genes and with structural and functional parameters of the heart in patients with atrial fibrillation

Kondratieva D.S., Afanasiev S.A., Muslimova E.F., Archakov E.A., Batalov R.E.

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To investigate the relationship between the expression of Ca^{2+} handling proteins of the sarcoplasmic reticulum, polymorphic variants of their genes, and structural and functional parameters of the heart in patients with atrial fibrillation (AF).

Materials and methods. The study included patients with AF. The patients underwent radiofrequency ablation, during which a myocardial biopsy was taken. The patients underwent echocardiography (EchoCG) before surgery. Polymorphic variants rs1860561 of the *ATP2A2* gene and rs6684209 and rs7521023 of the *CASQ2* gene were determined in the patients by real-time polymerase chain reaction (PCR), and the level of expression of SERCA2a and CASQ2 proteins in the myocardium was detected by immunoblotting.

Results. Carriers of the GG genotype at rs1860561 of the *ATP2A2* gene and CC genotype at rs6684209 of the *CASQ2* gene were characterized by significantly higher expression of the corresponding proteins. Using cluster analysis, we identified groups of patients by the level of SERCA2a and CASQ2 expression: group 1 – patients with low protein content; group 2 – patients with high protein content. According to clinical and anamnestic parameters, the patients in the selected groups were homogeneous. In patients with high SERCA2a levels, the end systolic and diastolic volumes of the left ventricle (LV) were significantly higher than those in patients with low levels of this protein. The rates of early (peak E) and late left ventricular diastolic filling (peak A) were significantly lower in the group with high SERCA2a expression. A comparative analysis of EchoCG data of patients distributed by the level of CASQ2 expression in the myocardium did not reveal significant differences between the groups.

Conclusion. The polymorphic variant rs1860561 of the *ATP2A2* gene and rs6684209 of the *CASQ2* gene can modulate the level of SERCA2a and CASQ2 expression. SERCA2a expression is associated with the functional and structural parameters of the heart in patients with AF.

Keywords: atrial fibrillation, Ca^{2+} -ATPase of the sarcoplasmic reticulum, calsequestrin, polymorphic variants of genes, echocardiography

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The work was carried out within the basic research theme under the state assignment No. AAAA-A15-115123110026-3 (study of polymorphisms of the *ATP2A2* and *CASQ2* genes) and RNF 20-75-00003 grant (study of the SERCA2a and CASQ2 proteins).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 139 of 18.11.2015).

For citation: Kondratieva D.S., Afanasiev S.A., Muslimova E.F., Archakov E.A., Batalov R.E. Relationship of the expression of calcium-handling proteins in the sarcoplasmic reticulum with polymorphic variants of their genes and with structural and functional parameters of the heart in patients with atrial fibrillation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):74–81. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-74-81>.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия рост распространенности фибрилляции предсердий (ФП) среди населения развитых стран мира увеличился в 2–3 раза [1]. По данным Фремингемского исследования, пациенты с ФП имеют в 1,5–2 раза более высокий риск годовой смертности по сравнению с общей популяцией [2]. Несмотря на значительные успехи в исследовании механизмов ФП, существующие стандарты лечения ФП имеют ограниченную эффективность [3]. Установлено, что молекулярные механизмы триггерной активности кардиомиоцитов обусловлены нарушением внутриклеточного гомеостаза ионов кальция [4]. Одним из ключевых функциональных белков, обеспечивающих транспорт ионов кальция в клетке, является Ca^{2+} -АТФаза (SERCA2a) саркоплазматического ретикулула (СР). Этот белок осуществляет обратный захват ионов кальция из миоплазмы в СР [5]. За связывание ионов кальция внутри СР отвечает белок кальсеквестрин (CASQ2). Кроме этого, CASQ2 влияет на стабильность структуры рианодиновых рецепторов СР [6]. Это дает основание говорить о вовлеченности CASQ2 в развитие диастолической утечке ионов кальция.

Значимость функционального состояния SERCA2a и CASQ2 в механизмах формирования и поддержания ФП показана как в экспериментальных [7, 8], так и в клинических исследованиях [9, 10]. Вместе с тем наличие ФП ассоциировано как с низким, так и с более высоким содержанием SERCA2a в миокарде [9, 10]. Такое различие в результатах может быть обусловлено особенностями рассматриваемых выборок пациентов и, в частности, носительством разных вариантов генов этих белков. Действительно, установлено, что гены, кодирующие SERCA2a и CASQ2, имеют устойчивые полиморфные варианты, что может влиять на функциональные характеристики этих белков. Обнаружено, что носительство варианта rs1860561 гена Ca^{2+} -АТФазы (*ATP2A2*) может быть ассоциировано с меньшим риском жизнеугрожающих аритмий [11]. Участие CASQ2 в провоцировании внезапной остановки сердца вследствие желудочковых аритмий может быть ассоциировано с вариантом rs7521023 гена *CASQ2* [12]. Однако известных данных недостаточно для ответа на вопрос о наличии ассоциации этих белков и их генов со структурными и функциональными особенностями сердца пациентов с ФП.

Цель работы – оценить сопряженность экспрессии Ca^{2+} -АТФазы и кальсеквестрина, а также носительства полиморфных вариантов (rs1860561) гена *ATP2A2* и (rs7521023, rs6684209) гена *CASQ2* со

структурно-функциональным состоянием сердца пациентов с фибрилляцией предсердий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выполнено наблюдательное поперечное одномоментное неконтролируемое исследование. В работу включены 45 пациентов с ФП. Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией и одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Медиана возраста пациентов составляла 43 [39; 48] года. Длительность анамнеза ФП была 3 [2,0–4,0] года. В качестве антиаритмической терапии пациенты получали: амиодарон – 11 (24%), соталол – 6 (13%), пропафенон – 11 (24%), бета-блокаторы – 7 (16%) и аллапинин – 2 (4%).

На момент госпитализации антикоагулянтную терапию принимали 26 (58%), а антиагрегантную – 7 (16%) пациентов. Частота встречаемости гипертонической болезни была 31% ($n = 14$), а ишемической болезни сердца – 9% ($n = 4$). При поступлении в клинику пациентам проведено общеклиническое обследование, регистрация электрокардиограммы в 12 стандартных отведениях, трансторакальная и чреспищеводная эхокардиография (ЭхоКГ). Пациенты, включенные в исследование, имели хроническую сердечную недостаточность 0–II функционального класса согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA). Критерии исключения: хроническая сердечная недостаточность III–IV функционального класса (NYHA), патология клапанов сердца, а также системные, онкологические, острые и хронические воспалительные заболевания.

Для оценки внутрисердечной гемодинамики пациентам выполнили ЭхоКГ в М- и 2D-режимах из стандартных позиций на аппарате En Visor CHD Philips (Нидерланды). Гипертрофию левого желудочка имели 24 (15,0%) пациента, ФВ ЛЖ – 65 [61; 67]%.

Пациентам выполнена радиочастотная абляция, во время которой для исключения миокардита вирусной природы были взяты биопсии миокарда (верхушка правого желудочка (ВПЖ), выводной отдел правого желудочка и межжелудочковая перегородка). Показанием для выполнения биопсии являлось наличие ФП неустановленной этиологии. Осложнений после взятия биопсий у пациентов не было.

Часть биопсии ВПЖ (1–2 мг) была использована для определения содержания SERCA2a и CASQ2 методом иммуноблоттинга. Ткань гомогенизировали (Bullet Blender, Next Advance Inc., США) в лизирующем буфере. Мембраны клеток разрушали при помощи ультразвука (Sonopuls, Bandelin). Гомогената

ты центрифугировали 25 мин при 16 000 g и 4 °С. Разделение белков осуществляли в полиакриламидном геле. Методом полусухого электроблоттинга (BlueBlot SD, SERVA) выполняли перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану. Использовали первичные моноклональные антитела для SERCA2a (1 : 2 000) и CASQ2 (1 : 2 000) и вторичные антитела, конъюгированные с щелочной фосфатазой. Для детекции белков применяли BCIP/NBT. Количество общего белка в образце определяли на спектрофотометре при 280 нм с поправкой на наличие нуклеиновых кислот (260 нм) (NanoVueTM, Thermo Fisher Scientific). Содержание таргетных белков рассчитывали относительно экспрессии белка бета-актина. Все реактивы, использованные в работе, производства Sigma-Aldrich (США).

Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов крови пациентов согласно протоколу производителя (Promega, США). Определяли полиморфные варианты rs1860561 (110345436G>A в интроне) гена Ca^{2+} -АТФазы (*ATP2A2*). Для гена CASQ2 (*CASQ2*) выявляли полиморфные варианты: rs6684209 (115707991C>T в интроне) и rs7521023 (115700759G>A в 3'-UTR). Исследование проводили с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ДТ-96, ДНК-Технология, Россия). Для амплификации ДНК использовали праймеры и сигнальные зонды (FAM и HEX) (ТестГен, Россия). Распределение частот генотипов проверяли на соответствие равновесию Харди – Вейнберга при помощи критерия χ^2 Пирсона.

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft

Инс., США). Нормальность распределения выборки оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Различия между группами оценивали по *U*-критерию Манна – Уитни. Качественные данные представлены частотой встречаемости в абсолютных значениях и процентах. Различия между группами для качественных данных определяли с помощью χ^2 Пирсона или точного теста Фишера. Однородные данные выявляли методом кластерного анализа. Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Определение белков SERCA2a и CASQ2 в миокарде пациентов показало, что рассматриваемая выборка неоднородна по уровню экспрессии этих белков. Так, медиана содержания SERCA2a в общей выборке составила 0,667 [0,334; 1,38], а медиана количества CASQ2 была 0,506 [0,324; 0,858]. Учитывая высокий уровень разброса значений экспрессии белков среди исследуемых пациентов, был использован метод кластерного анализа для определения возможных однородных кластеров. В результате выявлено два кластера, значимо различающихся между собой на каждый исследуемый белок. В соответствии с этим общая выборка пациентов была разделена по уровню экспрессии белков SERCA2a и CASQ2 на две группы: первая группа – пациенты с низким содержанием белков; вторая группа – с высоким содержанием белков (рис. 1).

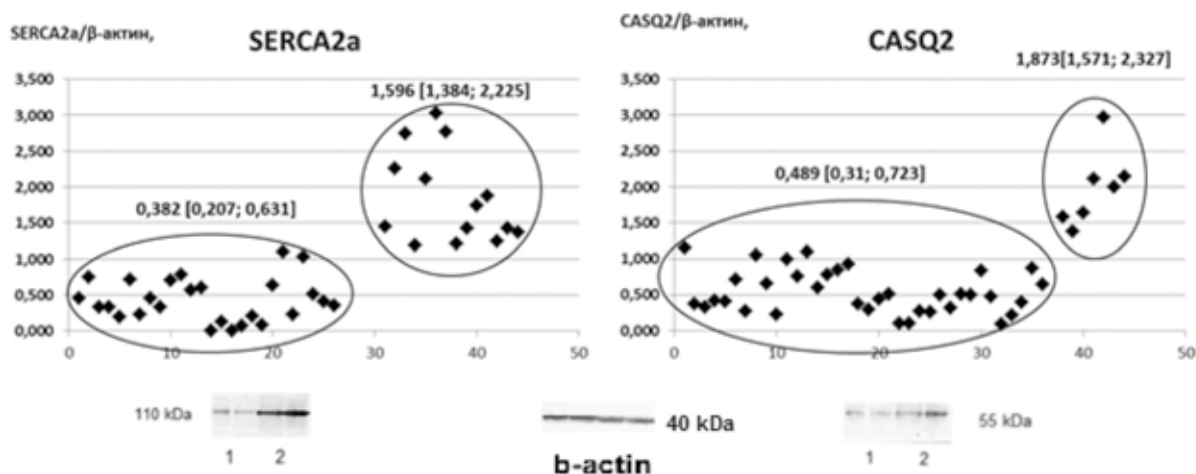


Рис. 1. Кластеризация выборки пациентов по уровню экспрессии белков SERCA2a и CASQ2

Для оценки возможной роли генетической составляющей в экспрессии белков SERCA2a и CASQ2 в миокарде пациентов с ФП мы исследовали связь содержания этих белков с носительством полимор-

фных вариантов генов *ATP2A2* и *CASQ2*. Оказалось, что все пациенты были носителями полиморфной формы rs1860561 гена *ATP2A2*. При этом 30 (67%) пациентов были носителями гомозиготного геноти-

па GG, а 15 (33%) – гетерозиготного генотипа GA. Носительство генотипа AA среди исследуемых пациентов не выявлено.

Все пациенты исследуемой выборки являлись носителями полиморфных вариантов rs6684209 и rs7521023 гена *CASQ2*. Для варианта rs6684209 гетерозиготный генотип CT был выявлен у 16 (36%), а гомозиготный генотип CC – у 29 (64%) пациентов, при этом больных с генотипом TT в исследуемой выборке не оказалось. Основная часть выборки варианта rs7521023 (31 пациент, 69%) оказалась представлена носителями гетерозиготного генотипа (AG), а носителей гомозиготных его вариантов (AA и GG) было 9 (20%) и 5 (11%) пациентов соответственно.

Мы оценили возможную функциональную значимость носительства каждого из выявленных генотипов. Оказалось (рис. 2), что у носителей гомозиготного генотипа GG гена *ATP2A2* уровень экспрессии белка SERCA2a был значимо ($p = 0,039$) выше, чем у пациентов с гетерозиготным генотипом (GA), и составлял 0,926 [0,282; 1,65] против 0,559 [0,123; 1,21] соответственно.

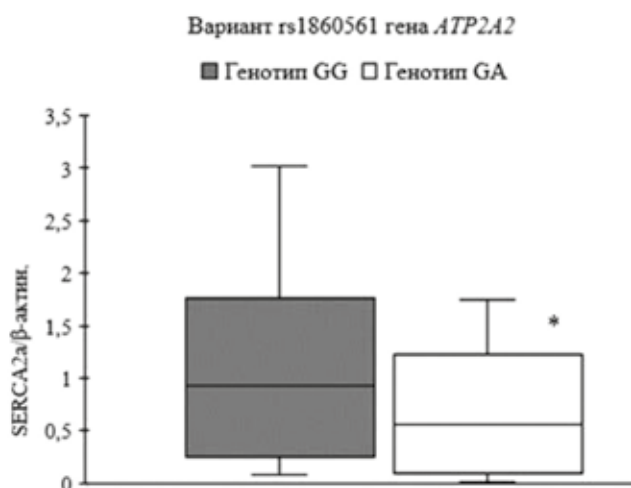


Рис. 2. Экспрессия белка SERCA2a в зависимости от генотипов гена *ATP2A2*. Здесь и на рис. 3: * $p < 0,05$ – статистически значимое различие.

Результаты, представленные на рис. 3, показывают, что у носителей гомозиготного генотипа CC варианта rs6684209 гена *CASQ2* экспрессия белка была в 2,5 раза выше, чем у носителей гетерозиготного генотипа, и составляла 0,779 [0,506; 1,380] против 0,315 [0,272; 0,400] соответственно ($p = 0,035$). При носительстве полиморфного варианта rs7521023 гена *CASQ2* уровень экспрессии белка у пациентов с гомозиготным генотипом (AA и GG) составил 0,729 [0,994; 0,517] и 0,516 [2,111; 1,061] соответственно, а у пациентов с гетерозиготным генотипом (AG) – 0,479 [0,779; 0,625].

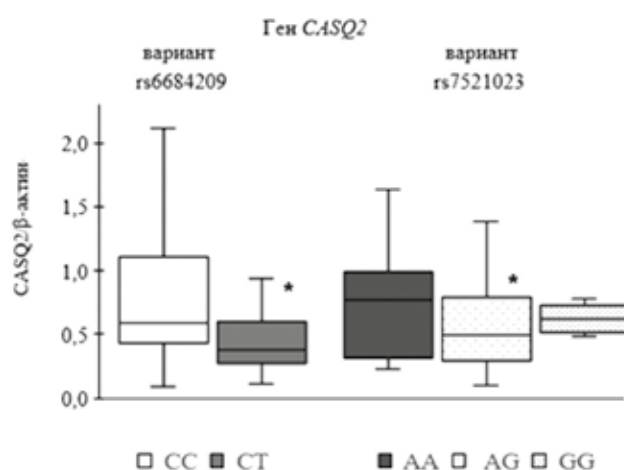


Рис. 3. Экспрессия белка CASQ2 в зависимости от генотипов полиморфных вариантов гена *CASQ2*

Анализ данных по распределению пациентов по кластерам в зависимости от уровня экспрессии белка SERCA2a показал, что в первую группу с низким уровнем экспрессии SERCA2a (0,382 [0,207; 0,631]) вошли 29 пациентов (64%), а вторую группу с высоким уровнем белка (1,596 [1,384; 2,225]) составили 16 пациентов (36%). Согласно данным, представленным в табл. 1, пациенты первой и второй групп оказались сопоставимы по клиничко-анамнестическим показателям и терапии. Однако пациентам первой группы чаще назначали антикоагулянтные препараты, а пациентам второй – антиагреганты.

Таблица 1

Клиничко-анамнестические показатели групп пациентов			
Показатель	Первая группа, $n = 29$	Вторая группа, $n = 16$	p
Возраст, лет, $Me [Q_1; Q_3]$	45 [40; 51]	42 [38; 48]	0,712
Пол, М/Ж (n)	19/7	12/2	–
Гипертоническая болезнь, n (%)	10 (39)	4 (29)	0,630
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	2 (8)	2 (14)	0,566
Терапия			
Статины, n (%)	2 (8)	0	0,300
Антиагреганты, n (%)	2 (7)	5 (31)	0,031
Антикоагулянты, n (%)	21 (72)	5 (31)	0,008
Антиаритмические препараты			
Амиодарон, n (%)	6 (23)	5 (36)	0,544
Аллапинин, n (%)	1 (4)	1 (7)	0,902
Пропафенон, n (%)	9 (35)	2 (14)	0,269
Соталол, n (%)	4 (15)	2 (14)	0,915
Биспролол, n (%)	3 (12)	0	0,206
Метопролол, n (%)	2 (8)	2 (14)	0,566

Примечание. Первая группа – низкая экспрессия SERCA2a; вторая – высокая экспрессия SERCA2a.

В табл. 2 представлены результаты ЭхоКГ пациентов сформированных групп. У пациентов второй группы такие показатели, как размер ЛП, конечный систолический и диастолический объемы (КДО и КСО), статистически значимо превышали аналогичные значения параметров сердца пациентов первой группы. При этом скорости раннего (пик Е) и позднего диастолического наполнения (пик А) ЛЖ были статистически значимо выше у пациентов первой группы.

Таблица 2

Основные структурно-функциональные показатели сердца пациентов, Me [Q ₁ ; Q ₃]			
Показатель	Первая группа, n = 29	Вторая группа, n = 16	p
Фракция выброса, %	65 [62; 68]	63 [60; 66]	0,189
КДО	104 [97; 114]	115 [96; 127]*	0,015
КСО	36 [34; 42]	42 [39; 48]*	0,032
КДР, мм	49 [48; 50]	49,8 [45; 52]	0,902
КСР, мм	31 [30; 34]	32 [29; 37]	0,744
ЛП, мм	37 [35; 42]	42 [39; 45]*	0,035
пик Е см/с	82 [72; 88]	69 [62; 80]*	0,039
пик А, см/с	61 [59; 66]	47 [44; 52]*	0,018
Е/А	1,28 [1,26; 1,5]	1,27 [1,19; 1,55]	0,89
Ударный объем, мл	69,5 [63; 78]	71,5 [59; 79]	0,513
Масса миокарда, г	174 [157; 186]	173 [138; 211]	0,636
ИММ, г/м ²	86,5 [80; 93]	83,5 [71; 95]	0,463

Примечание. ЛП – левое предсердие; КДР – конечный диастолический размер; КСР – конечный систолический размер; ЛЖ – левый желудочек; ММ – масса миокарда; ИММ – индекс массы миокарда.

Сравнительный анализ данных ЭхоКГ исследований пациентов, распределенных по уровню экспрессии CASQ2 в миокарде, не выявил значимых различий между группами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что основной причиной возникновения ФП является формирование аномального импульса (эктопическая активность) [13]. Молекулярный механизм этого явления во многом связан с внутриклеточным гомеостазом ионов кальция кардиомиоцитов [14]. Перегрузка ионами кальция саркоплазмы кардиомиоцитов приводит к снижению электрической стабильности мембран клеток сердца и появлению эктопических очагов возбудимости. Соответственно, электрофизиологические свойства предсердий меняются, происходит так называемое электрическое ремоделирование [15]. Высокая частота предсердных сокращений может стимулировать адаптивную реакцию кардиомиоцитов, выражающуюся в усиленной экспрессии белков SERCA2a и CASQ2.

Так, в исследованиях J. Dai и соавт. обнаружено, что у пациентов с ФП уровень экспрессии кальций-транспортирующих белков CP (SERCA2a, фосфоламбан и рианодиновые рецепторы) в кардиомиоцитах значимо выше, чем у больных без наджелудочковых аритмий, при этом уровень экспрессии контрактильных белков (тропонин Т и I, миозин) в миокарде не различался [16].

К сожалению, в доступной литературе нет данных о связи полиморфных вариантов генов *ATP2A2* и *CASQ2* с уровнем экспрессии их белков. В нашем исследовании мы обнаружили, что значимым является и носительство конкретных полиморфных вариантов и генотипов генов исследуемых белков. Оказалось, что в носители гомозиготного генотипа GG варианта rs1860561 гена *ATP2A2* и генотипа CC варианта rs6684209 гена *CASQ2* уровень экспрессии белков SERCA2a и CASQ2 были статистически значимо выше, чем у пациентов с гетерозиготным генотипом этих генов.

Электрическое ремоделирование может сопровождаться структурным изменением миокарда. В нашей работе большая экспрессия SERCA2a оказалась ассоциирована с большими величинами КДО и КСО, хотя эти показатели были в пределах референсных значений. В связи с этим более высокие значения КДО (в пределах референсных значений) можно рассматривать как свидетельство лучшей сохранности диастолической функции желудочков. Такая трактовка вполне согласуется с данными о том, что сверхэкспрессия SERCA2a у кроликов с индуцированной ФП сопровождается увеличением длительности эффективного рефрактерного периода и улучшением структуры миокарда [8]. Возможно, избыточная гемодинамическая нагрузка на предсердие при ФП адаптивно приводит к увеличению экспрессии SERCA2a.

Это предположение согласуется с результатами наших исследований, которые показали, что у пациентов с повышенным уровнем SERCA2a отмечается увеличенный размер ЛП. Хорошо известно, что наполнение желудочков разделяется на две фазы: фазу быстрого (активного) наполнения, приходящуюся на раннюю диастолу, и фазу медленного (пассивного) наполнения, соответствующую поздней диастоле, которая завершается систолой предсердий.

Фаза быстрого наполнения ЛЖ характеризует активный процесс расслабления. На клеточном уровне в это время происходит отсоединение актомиозиновых мостиков с освобождением ионов кальция в миоплазму и их обратным захватом с систему CP [17].

В нашем исследовании оказалось, что пациенты с высоким уровнем экспрессии SERCA2a имеют меньшую скорость быстрого наполнения в раннюю

диастолу. Кроме того, у этих пациентов скорость медленного наполнения в позднюю фазу диастолы оказалась ниже, чем у пациентов с меньшей экспрессией SERCA2a. Также не удалось выявить ассоциаций показателей ЭхоКГ сердца пациентов с уровнем экспрессии CASQ2, что, возможно, связано с небольшим числом пациентов с низкой экспрессии CASQ2 в нашей выборке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования позволяют сделать выводы о том, что генотипы варианта rs1860561 гена *ATP2A2* и rs6684209 гена *CASQ2* могут определять уровень экспрессии белка SERCA2a и, соответственно, белка CASQ2. При этом уровень экспрессии белка SERCA2a ассоциирован со структурными и функциональными параметрами сердца пациентов с ФП. Полученные результаты подтверждают перспективность оценки уровня экспрессии белков SERCA2a и CASQ2 для прогнозирования течения сердечно-сосудистой патологии и подбора индивидуального лечения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Alonso A., Bengtson L.G. A rising tide: the global epidemic of atrial fibrillation. *Circulation*. 2014;129(8):829–830. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007482.
2. Schnabel R.B., Sullivan L.M., Levy D., Pencina M.J., Massaro J.M., D'Agostino R.B. et al. Development of a risk score for atrial fibrillation (Framingham Heart Study): a community-based cohort study. *Lancet*. 2009;373(9665):739–745. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60443-8.
3. Kirchhof P., Breithardt G., Aliot E., Al Khatib S., Apostolakis S., Auricchio A. et al. Personalized management of atrial fibrillation: proceedings from the fourth atrial fibrillation competence NETwork/European Heart Rhythm Association consensus conference. *Europace*. 2013;15(11):1540–1556. DOI: 10.1093/europace/eut232.
4. Landstrom A.P., Dobrev D., Wehrens X.H.T. Calcium signaling and cardiac arrhythmias. *Circ. Res.* 2017;120(12):1969–1993. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.310083.
5. Eisner D.A. Ups and downs of calcium in the heart. *J. Physiol.* 2018;596(1):19–30. DOI: 10.1113/JP275130.
6. Gaburjakova M., Bal N.C., Gaburjakova J., Periasamy M. Functional interaction between calsequestrin and ryanodine receptor in the heart. *Cell Mol. Life Sci.* 2013;70(16):2935–2945. DOI: 10.1007/s00018-012-1199-7.
7. Sun J., Ailiman M. Regulation of calcium pump through Notch/Jagged/Hes signaling pathway in canine model of chronic atrial fibrillation. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2019;12(11):4034–4040.
8. Wang H.L., Zhou X.H., Li Z.Q., Fan P., Zhou Q.N., Li Y.D. et al. Prevention of atrial fibrillation by using sarcoplasmic reticulum calcium atpase pump overexpression in a rabbit model of rapid atrial pacing. *Med. Sci. Monit.* 2017;23:3952–3960. DOI: 10.12659/msm.904824.
9. Molina C.E., Abu-Taha I.H., Wang Q., Roselló-Díez E., Kamler M., Nattel S. et al. Profibrotic, electrical, and calcium-handling remodeling of the atria in heart failure patients with and without atrial fibrillation. *Front Physiol.* 2018;9:1383. DOI: 10.3389/fphys.2018.01383.
10. Voigt N., Heijman J., Wang Q., Chiang D.Y., Li N., Karck M. et al. Cellular and molecular mechanisms of atrial arrhythmogenesis in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Circulation*. 2014;129(2):145–156. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.006641.
11. Francia P., Adduci C., Ricotta A., Stanzione R., Sensini I., Uccellini A. et al. Common genetic variants in selected Ca^{2+} signaling genes and the risk of appropriate ICD interventions in patients with heart failure. *J. Interv. Card. Electrophysiol.* 2013;38(3):169–177. DOI: 10.1007/s10840-013-9827-1.
12. Refaat M.M., Aouizerat B.E., Pullinger C.R., Malloy M., Kane J., Tseng Z.H. Association of CASQ2 polymorphisms with sudden cardiac arrest and heart failure in patients with coronary artery disease. *Heart Rhythm*. 2014;11(4):646–652. DOI: 10.1016/j.hrthm.2014.01.015.
13. Schotten U., Dobrev D., Platonov P.G., Kottkamp H., Hindricks G. Current controversies in determining the main mechanisms of atrial fibrillation. *J. Intern. Med.* 2016;279(5):428–438. DOI: 10.1111/joim.12492.
14. Hirose M., Laurita K.R. Calcium-mediated triggered activity is an underlying cellular mechanism of ectopy originating from the pulmonary vein in dogs. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007;292(4):H1861–1867. DOI: 10.1152/ajpheart.00826.2006.
15. Бокерия Л.А., Бокерия О.Л., Аверина И.И. Электрическое ремоделирование при компенсированной гипертрофии сердца. *Анналы аритмологии*. 2010;7(3):5–15.
16. Dai J., Zhang H., Chen Y., Chang Y., Yuan Q., Ji G. et al. Characterization of Ca^{2+} handling proteins and contractile proteins in patients with lone atrial fibrillation. *Int. J. Cardiol.* 2016;202:749–751. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.10.010.
17. Eisner D.A., Caldwell J.L., Trafford A.W., Hutchings D.C. The control of diastolic calcium in the heart: basic mechanisms and functional implications. *Circ. Res.* 2020;126(3):395–412. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315891.

Вклад авторов

Кондратьева Д.С. – проведение исследований по экспрессии исследуемых белков, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи. Афанасьев С.А. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи. Муслимова Э.Ф. – набор материала, проведение исследований по определению полиморфизма исследуемых генов, анализ данных. Арчаков Е.А. – подбор и ведение пациентов, анализ и интерпретация клинических данных. Баталов Р.Е. – анализ клинических данных, проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Кондратьева Дина Степановна – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, dina@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4004-2497>

Афанасьев Сергей Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, tursky@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6066-3998>

Муслимова Эльвира Фаритовна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, muslimova@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7361-2161>

Арчаков Евгений Александрович – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, отделение хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, aea_cardio@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2530-361X>

Баталов Роман Ефимович – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, romancer@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1415-3932>

(✉) **Кондратьева Дина Степановна**, dina@cardio-tomsk.ru

Поступила в редакцию 17.06.2021;
одобрена после рецензирования 26.08.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.379-008.64-06:613.2.035:616.1-036.88
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-82-89>

Оценка связи питания с риском фатальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний у лиц с сахарным диабетом 2-го типа

Кунцевич А.К.¹, Щетинина А.О.¹, Мустафина С.В.¹, Веревкин Е.Г.^{1,2}, Симонова Г.И.¹, Щербакова Л.В.¹, Рымар О.Д.¹

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ) – филиал Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН) Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова 175/1

²Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики (НИИМББ) – структурное подразделение Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (ФИЦ ФТМ) Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова 2

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить связь питания с риском фатальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний у лиц с сахарным диабетом 2-го типа (СД2).

Материалы и методы. Базовое исследование проведено в рамках проекта НАРПЕЕ в 2002–2005 гг. Период наблюдения за наблюдаемой когортой, в том числе за лицами с СД2, длился с 2003–2005 гг. по 31 декабря 2018 г. и составил в среднем 12,8 лет ($1,1 \pm 16,0$ лет). В рамках исследования были сформированы две группы: основная – лица с СД2, у которых «Развились фатальные события», и группа сравнения – лица с СД2, у которых «Не развились фатальные события» за период наблюдения. В основную группу были включены 207 человек (107 мужчин, 100 женщин), средний возраст для лиц обоего пола $62,4 \pm 5,9$ лет; в группу сравнения – 474 человека (177 мужчины, 297 женщин), средний возраст для лиц обоего пола $58,1 \pm 6,6$ лет. Данные по фактическому питанию были получены при опросе 681 участника с использованием вопросника по оценке частоты потребления пищевых продуктов и включали информацию о потреблении 147 продуктов. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ SPSS 13.0. Описание данных представлено в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение. Оценка отношения рисков проведена с использованием регрессии Кокса. Критический уровень статистической значимости различий принимался при $p < 0,05$.

Результаты. Получены данные, что увеличение потребления фруктов (на 80 г/сут) и орехов (на 2 г/сут) связано со снижением рисков сердечно-сосудистой смерти: отношение рисков (HR) = 0,726; $p = 0,044$ и HR = 0,826; $p = 0,011$ соответственно; увеличение потребления яиц (на 50 г/сут) – с повышением риска смерти: HR = 1,728; $p = 0,003$ у мужчин. У женщин при потреблении мясных продуктов наблюдалось снижение риска смерти: HR = 0,786; $p = 0,036$.

Закключение. Результаты исследования показали определенную ассоциацию потребления ряда продуктов с риском смерти от сердечно-сосудистых заболеваний у лиц с СД2. Так, более высокий уровень потребления фруктов, орехов, мясных продуктов был связан со снижением риска сердечно-сосудистой смертности, а увеличение потребления куриных яиц, наоборот, с повышением риска фатального исхода. Эти данные указывают на важность контроля питания у лиц с нарушениями углеводного обмена.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, сердечно-сосудистая смерть, питание, отношение рисков

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-15-00371 и бюджетными темами НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (государственные задания № АААА-А17-117112850280-2 и 0259-2019-0006).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (протокол № 118а от 17.12.2018).

Для цитирования: Кунцевич А.К., Щетинина А.О., Мустафина С.В., Веревкин Е.Г., Симонова Г.И., Щербакбакова Л.В., Рымар О.Д. Оценка связи питания с риском фатальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний у лиц с сахарным диабетом 2-го типа. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):82–89. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-82-89>.

Evaluation of the relationship between nutrition and the risk of fatal outcomes from cardiovascular diseases in people with type 2 diabetes

Kuntsevich A.K.¹, Shchetinina A.O.¹, Mustafina S.V.¹, Verevkin E.G.^{1,2}, Simonova G.I.¹, Shcherbakova L.V.¹, Rymar O.D.¹

¹Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
175/1, B. Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

²Research Institute of Molecular Biology and Biophysics – a branch of the Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine
2, Timakova Str., Novosibirsk, 630117, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the relationship between nutrition and the risk of fatal outcomes from cardiovascular diseases in individuals with type 2 diabetes mellitus (T2DM).

Materials and methods. The baseline study was conducted within the HAPIEE project in 2002–2005. The follow-up period for the observed cohort, including individuals with T2DM, lasted from 2003–2005 to December 31, 2018 and reached on average 12.8 years (1.1 ± 16.0 years). Within the study, 2 groups were formed: the treatment group which included persons with T2DM who “developed fatal events” and the control group which encompassed individuals with T2DM who “did not develop fatal events” during the follow-up. The treatment group included 207 people (107 men, 100 women), the average age for both sexes was 62.4 ± 5.9 years; the control group consisted of 474 people (177 men, 297 women), the average age for both sexes was 58.1 ± 6.6 years. The data on actual nutrition were obtained from a survey of the participants using the Food Frequency Questionnaire and included information on consumption of 147 foods. Statistical processing of the data was carried out using the SPSS 13.0 software package. The data were presented as $M \pm SD$, where M is the arithmetic mean and SD is the standard deviation. An analysis of the association between nutrition and the risk of death from cardiovascular diseases was performed using the Cox regression model. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. In the studied sample, we identified a significant relationship between the consumption of a number of foods and the risk of death from cardiovascular diseases in people with T2DM over a 15-year follow-up. It was shown that increased consumption of fruits (by 80 g / day) and nuts (by 2 g / day) was significantly associated with a decreased risk of death in men: hazard ratio (HR) = 0.726, $p = 0.044$ and HR = 0.826, $p = 0.011$, respectively. Increased consumption of eggs in men (by 50 g / day) was associated with an increased risk of death: HR = 1.728, $p = 0.003$. In women, a decreased risk of death was observed only with the consumption of meat products: HR = 0.786, $p = 0.036$.

Conclusion. The results of the study showed a clear relationship between the consumption of a number of foods and the risk of death from cardiovascular diseases. Thus, increased consumption of fruits, nuts, and meat products was significantly associated with a decreased risk of death from cardiovascular diseases in people with T2DM, while the consumption of eggs and dairy products, on the contrary, was associated with an increased risk of mortality. These data indicate the importance of dietary control in individuals with carbohydrate metabolism disorders.

Keywords: type 2 diabetes, death from cardiovascular diseases, nutrition, hazard ratio

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 20-15-00371 and the budgetary themes of the Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (state assignments No. AAAA-A17-117112850280-2 and No. 0259-2019-0006).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee at the Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 118a of 17.12.2018).

For citation: Kuntsevich A.K., Shchetinina A.O., Mustafina S.V., Verevkin E.G., Simonova G.I., Shcherbakova L.V., Rymar O.D. Evaluation of the relationship between nutrition and the risk of fatal outcomes from cardiovascular diseases in people with type 2 diabetes. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):82–89. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-82-89>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в России основной причиной смерти больных сахарным диабетом 2-го типа (СД2) являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [1]. Традиционными факторами риска смерти при СД2 считаются пол, возраст, дислипидемия, ожирение, артериальная гипертензия (АГ), курение, низкая физическая активность, семейное положение, а также факторы, связанные с диабетом (длительность СД2, наличие макро- и микрососудистых осложнений, гипер- и гипогликемические состояния) [2, 3]. Включение в рацион питания лиц с СД2 продуктов, богатых биоактивными веществами (антиоксиданты, фенольные кислоты, изофлавоны, антоцианы, каротины, ненасыщенные жирные кислоты), которые способствуют улучшению показателей углеводного обмена, может быть одним из факторов профилактики сердечно-сосудистых осложнений [4, 5]. Оценка фактического питания населения г. Новосибирска (45–69 лет) показала, что питание в целом как у лиц без СД2, так и у лиц с наличием СД2 является несбалансированным и не соответствует рекомендациям [6].

Цель исследования – изучить связь питания с риском фатальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний у лиц с СД2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на материале российской ветви международного исследования НАРИЕЕ «Детерминанты сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе». Объектом исследования НАРИЕЕ явилась представительная популяционная выборка жителей 45–69 лет двух административных районов г. Новосибирска, типичных как для Новосибирска, так и для других крупных промышленных городов Сибири. Выборка сформирована на основе избира-

тельных списков с использованием таблиц случайных чисел. Общий объем выборки из генеральной совокупности определен протоколом проекта НАРИЕЕ. С 2003 по 2005 г. сотрудниками НИИ терапии СО РАМН (с 2017 г. – НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН) проведено обследование 9 360 мужчин и женщин в указанном возрасте (принципиальные исследователи Новосибирского центра – акад. Ю.П. Никитин, проф. С.К. Малютин). Отклик составил 61% [7].

Из 9 360 обследованных СД2 был выявлен (впервые во время скрининга и наблюдались с СД2 до скрининга) у 982 человек. Были исключены из настоящего анализа лица с СД2, имевшие в анамнезе на момент базового обследования нефатальный инфаркт миокарда и (или) мозговой инсульт – 139 человек; лица, у которых за наблюдаемый период причиной смерти явились не ССЗ, – 123 человека и 39 человек, о которых не получено информации за период наблюдения. Всего 301 человек. Таким образом, в анализ включены данные базового обследования 681 человека с СД2 (284 мужчины, 397 женщин).

Период наблюдения за наблюдаемой когортой, в том числе за лицами с СД2, длился с 2003–2005 гг. по 31 декабря 2018 г. и составил в среднем 12,8 лет ($1,1 \pm 16,0$ лет). Фатальные случаи в изучаемой когорте были идентифицированы путем комбинации нескольких источников информации. Проводили выкопировку данных из «Медицинских свидетельств о смерти» за период с 01.02.2003 по 31.12.2018 г., полученных в Отделе регистрации актов гражданского состояния о смерти по г. Новосибирску. Также собирали информацию о фатальных событиях при проведении повторных скринингов в 2006–2008 гг. и 2015–2017 гг. и двух почтовых опросов. Причины общей и сердечно-сосудистой (СС) смерти были установлены в соответствии с кодами Международной классификации болезней 10-го пересмотра.

Сердечно-сосудистая смерть была установлена в соответствии с кодами I (0–99).

В рамках исследования сформированы две группы: основная – лица с СД2, у которых «Развились фатальные СС события», – 207 человек (107 мужчин и 100 женщин) и группа сравнения – лица с СД2, у которых «Не развились фатальные СС события» за период наблюдения, – 474 человека (177 мужчины и 297 женщин).

Всем участникам проекта на базовом скрининге проведено обследование, которое включало антропометрические измерения (рост, масса тела, расчет индекса массы тела (ИМТ)), сбор информации с помощью структурированного вопросника проекта НАРПЕЕ о наличии СД2 и его длительности, о наличии АГ, уровне образования, семейного положения, статусе курения, физической активности. Для оценки фактического питания использовали адаптированный вопросник по определению частоты потребления пищевых продуктов [8]. В анкету включены 147 продуктов. Питание оценивали за предшествующие 3 мес при ответе на девять вопросов по частоте потребления порции определенного продукта от «никогда или реже одного раза в месяц» до «до шести и более раз в день», опрос проводил подготовленный интервьюер [9].

Статистическая обработка проводилась с помощью пакета прикладных программ SPSS 13.0. Описание данных представлено в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение. Оценка отношения рисков проведена с использованием модели Кокс регрессии. Критический уровень статистической значимости различий принимался при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В основной группе возраст у мужчин был на 4 года больше по сравнению с группой сравнения ($60,78 \pm 6,52$ vs $56,88 \pm 6,53$ лет; $p < 0,001$), а у женщин – на 5 лет ($64,15 \pm 6,14$ vs $58,81 \pm 6,13$ лет; $p < 0,001$). Величина индекса массы тела (ИМТ) у мужчин ($29,55 \pm 4,86$ vs $29,66 \pm 4,88$ кг/м²; $p = 0,857$) и женщин ($33,81 \pm 5,56$ vs $32,62 \pm 5,51$ кг/м²; $p = 0,064$) значимо не различалась между группами. Общая энергоценность питания (ЭЦ) как у мужчин ($2\,562 \pm 799$ vs $2\,777 \pm 803$ ккал/сут; $p = 0,030$), так и у женщин (2084 ± 633 vs $2\,262 \pm 632$ ккал/сут; $p = 0,016$) была ниже в основной группе.

В табл. 1 представлены данные по потреблению продуктов (г/сут) жителями Новосибирска (45–69 лет) с наличием СД2 (базовый скрининг НАРПЕЕ, $M \pm SD$), у которых за период наблюдения развились/не развились фатальные сердечно-сосудистые собы-

тия (ССС). Мужчины из основной группы меньше потребляли фруктов и орехов и больше куриных яиц и молочных продуктов по сравнению с мужчинами из группы сравнения. По остальным продуктам не было значимого различия в потреблении. У женщин наблюдалось повышенное потребление белого хлеба и снижение потребления мясных продуктов в основной группе.

В табл. 2 представлены результаты проведенного регрессионного анализа Кокса для оценки факторов риска (потребление изучаемых продуктов, г/сут) развития фатального исхода от ССЗ у лиц с СД2 при стандартизации по возрасту, ИМТ, ЭЦ, уровню образования, семейному положению, курению, АГ, физической активности. С помощью этого метода мы оценили отношение рисков (HR) развития фатального СС события при увеличении потребления отдельного продукта питания в расчете на определенную величину (г/сут) [10]. В исследуемой выборке установлено, что риск развития фатального СС события у мужчин снижается при повышении потребления ряда фруктов (на 80 г/сут) на 27,4% ($p = 0,044$) (группа «фрукты» включала яблоки, груши, апельсины, грейпфруты, мандарины, персики, абрикосы, бананы). Также при повышении потребления орехов (на 2 г/сут) риск снижался на 17,4% ($p = 0,011$). Повышение потребления мясных продуктов (на 80 г/сут) снижало риск фатального СС события у женщин на 21,4% ($p = 0,036$).

У мужчин увеличение потребления куриных яиц (на 50 г/сут – в среднем на одно яйцо) повышает риск СС смерти в 1,7 раза ($p = 0,003$), молочных продуктов (без учета потребления молока) – в 1,1 раза ($p = 0,029$). У женщин такая связь отсутствовала. (см. табл. 2). Ранее авторами были представлены ассоциации таких факторов, как АГ, абдоминальное ожирение, сниженная физическая активность, курение в настоящее время, семейное положение с СС смертью у лиц с СД2, проживающих в Новосибирске [3].

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что повышение потребления фруктов и орехов связано со снижением риска смерти от ССЗ у мужчин. Полученные данные соответствуют результатам ряда популяционных исследований. В статье G. Liu и соавт. (2019) приведены результаты двух проспективных когортных исследований, которые включали 16 217 мужчин и женщин с СД2, где показано, что потребление орехов (в максимальном квинтиле потребление составило более 20 г/сут по сравнению с минимальным квинтилем – менее 0,9 г/сут) было связано со

значимым снижением риска смерти от ССЗ (относительный риск в максимальном квинтиле по сравнению с минимальным составил $HR = 0,66$; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 0,52–0,84). Эффект был выше при потреблении лесных орехов (грецкие орехи, миндаль, бразильские орехи, кешью, фисташки, фундук, кедровые орехи) по сравнению с арахисом (семейство бобовые) [11].

Как отмечают G. Liu и соавт., в настоящее время не ясен механизм позитивных эффектов потребления орехов у лиц с СД2 [11], хотя это, в первую очередь, может определяться богатым питательным составом плодов (полиненасыщенные жирные кислоты, пищевые волокна, витамины, минеральные вещества (кальций, калий, магний) и фитохимические вещества (флавоноиды, фитостеролы) [12]. Исследование связи потребления фруктов, овощей и бобовых в питании жителей Европы с наличием СД2 (10 449 участников) и фатальных исходов от ССЗ показало значимое снижение относительного риска смерти при повышенном потреблении бобовых (относительный риск (RR) = 0,72; 95%-й ДИ 0,60–0,88) и фруктов (RR = 0,90; 95%-й ДИ 0,81–0,99) (при стандартизации по влияющим факторам – пол, возраст, ЭЦ, курение, наличие в анамнезе сердечных заболеваний, рака и АГ), при этом значимая связь с потреблением овощей отсутствовала (RR = 0,85; 95%-й ДИ 0,85–1,07) [10].

В пользу позитивного влияния потребления фруктов и орехов указывают данные ряда мета-анализов проспективных исследований. Так, анализ 15 проспективных исследований показал, что повышение потребления фруктов и овощей было связано со снижением смертности от всех причин на 10% (RR = 0,90; 95%-й ДИ 0,87–0,93) [13]. Анализ 17 исследований по потреблению овощей и орехов показал, что потребление орехов было связано со снижением риска смерти (всех орехов: RR = 0,78; 95%-й ДИ 0,72–0,84; лесных орехов: RR = 0,82; 95%-й ДИ 0,75–0,90; арахиса RR = 0,77; 95%-й ДИ 0,69–0,86) [14]. Метаанализ (15 исследований) по потреблению орехов [15] показал снижение риска смерти от всех причин на 20% (потребление орехов – RR = 0,81; 95%-й ДИ 0,77–0,85; лесных орехов – RR = 0,80; 95%-й ДИ 0,74–0,86; арахиса – RR = 0,85; 95%-й ДИ 0,82–0,89), что свидетельствует о позитивном влиянии увеличения потребления этих продуктов в рационе питания.

В нашем исследовании получены данные, что повышение потребления мясных продуктов (на 80 г/сут) снижало риск фатального СС события у женщин с СД2. В ряде работ на большой выборке показано значимое увеличение риска смерти от всех причин и

от ССЗ с повышением потребления красного мяса и обработанных мясных продуктов (колбасы, ветчина, мясные консервы) [16, 17]. Однако также отмечено, что потребление мясных продуктов, которые включали в себя курицу, индейку, рыбу, ассорти из птицы, нежирные колбасы и хот-доги из птицы, связано со снижением смерти от всех причин и ССЗ [17]. Повышение доли животного белка по отношению к растительному в питании связано с увеличением риска смерти, в том числе и у лиц с СД2 [18]. В большом проспективном когортном исследовании жителей Японии (70 696 участников, возраст 45–74 года) более высокое потребление растительного белка было связано со снижением риска смерти от всех причин и смерти от ССЗ [19].

Увеличение потребления яиц связано с повышением риска смерти от ССЗ у мужчин. В пользу наличия связи потребления яиц и риском смерти свидетельствуют результаты проспективного когортного исследования в США (21 327 участников, 40–86 лет), в котором установлена связь потребления куриных яиц с относительным риском смерти от всех причин при сравнении максимального квинтиля потребления (≥ 7 яиц/нед) с контролем (менее 1 яйца/нед) (HR = 1,22; 95%-й ДИ 1,09–1,35), причем среди лиц с СД2 риск смерти был выше в 2 раза (HR = 2,01; 95%-й ДИ 1,26–3,20) [20]. В другом обследовании жителей США (29 615 участников) более высокое потребление яиц было связано с повышением риска смертности от всех причин на 8% (HR = 1,08; 95%-й ДИ 1,04–1,11) [21]. Наш анализ показал также, что потребление молочных продуктов (сметана, сливки, кефир, молочные десерты, творог, сыры) на 50 г/сут повышало риск фатального исхода от ССЗ в 1,1 раза у мужчин (p = 0,029), что требует дальнейшего исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют об определенной роли потребления отдельных продуктов питания как «нетрадиционного» фактора развития фатального СС события у лиц с СД2 при учете ковариатов («традиционных» факторов риска) – возраст, ИМТ, ЭЦ, курение, уровень образования, семейное положение, АГ, физическая активность. Можно отметить, что имеются различия между мужчинами и женщинами. Если наблюдаемая связь между потреблением фруктов, орехов и снижением риска смерти от ССЗ и увеличение потребления яиц – с повышением риска смерти от ССЗ у мужчин вполне согласуются с современными данными популяционных исследований, то связь потребления мясных продуктов и снижением риска СС смерти у женщин требует более строгого анализа.

Сложность оценки связи между потреблением мясных продуктов и риском смерти определяется различием и разнообразием потребляемого мясного продукта (говядина, баранина, свинина, колбасы, курятина, крольчатина, субпродукты, ветчина, корейка, паштеты, мясные консервы), способом приготовления мясного блюда (отварное, жареное, копченое, консервированное, соленое), соотношением растительных и животных белков. Оценка связи молочных продуктов с риском фатального исхода у муж-

чин также требует дальнейшего исследования в виду слабо выраженной ассоциации. Следует отметить, что среднее потребление орехов было практически в 4 раза ниже рекомендованного уровня. Поскольку еще нет определенных рекомендаций по включению орехов в рацион лиц с СД2, полученные результаты свидетельствуют об их потенциальной положительной роли в снижении смертности у лиц с нарушением углеводного обмена и следует учитывать при разработке и обновлениях диетических рекомендаций.

Таблица 1

Данные по питанию жителей г. Новосибирска 45–69 лет с СД2 (базовый скрининг НАРІЕЕ), у которых за период наблюдения развились/не развились фатальные ССС (мужчины и женщины – стандартизация по возрасту, ИМТ и ЭЦ; оба пола – стандартизация по полу, возрасту, ИМТ и ЭЦ), $M \pm SD$

Продукты питания, г/сут	Оба пола			Мужчины			Женщины		
	Развились фатальные ССС, $n = 207$	Не развились фатальные ССС, $n = 474$	p	Развились фатальные ССС, $n = 107$	Не развились фатальные ССС, $n = 177$	p	Развились фатальные ССС, $n = 100$	Не развились фатальные ССС, $n = 297$	p
Фрукты	78,76±86,40	99,38±83,78	0,006	63,59±75,38	90,53±74,65	0,005	99,56±93,08	111,31±89,61	0,284
Овощи	259,63±164,9	281,64±159,8	0,132	246,15±138,2	271,66±136,8	0,141	281,26±183,9	298,06±177,1	0,438
Зерновые	79,31±55,89	79,88±54,38	0,906	79,15±50,56	79,61±50,12	0,942	80,82±60,90	81,55±58,58	0,919
Бобовые	12,37±12,58	12,04±12,27	0,767	10,82±10,89	10,52±10,78	0,822	14,15±14,01	13,82±13,78	0,837
Орехи	2,51±8,91	4,95±8,68	0,002	2,19±10,68	5,82±10,58	0,007	3,22±7,53	4,33±7,25	0,212
Белый хлеб	72,75±50,98	62,36±49,66	0,019	85,83±53,60	80,20±53,06	0,401	60,96±50,04	46,47±48,17	0,014
Черный хлеб	40,89±51,23	46,40±45,35	0,173	42,61±48,60	44,42±48,10	0,766	39,19±46,07	48,46±44,37	0,088
Сладости	79,01±55,54	81,00±53,97	0,667	88,21±59,97	91,67±59,35	0,645	75,55±52,52	75,62±50,57	0,991
Мясные продукты	176,64±69,34	190,95±67,31	0,017	205,97±79,10	219,94±78,29	0,158	152,24±60,73	168,09±58,48	0,027
Рыба	38,41±27,30	39,70±26,47	0,581	39,97±29,06	41,29±28,77	0,715	38,11±26,37	39,24±25,40	0,717
Яйца	20,40±19,80	15,50±19,21	0,004	27,11±25,49	19,37±25,19	0,016	13,90±14,34	12,29±13,80	0,339
Молочные прод	143,23±119,4	121,66±115,7	0,036	152,40±129,0	114,94±127,7	0,021	138,68±113,4	131,68±109,2	0,600
Молоко	127,68±166,9	107,22±161,5	0,154	146,56±199,6	123,72±201,6	0,365	112,21±138,0	93,59±132,8	0,252
Жиры, масло	36,30±15,97	33,12±15,59	0,021	37,08±17,26	33,68±17,08	0,117	36,25±15,01	33,50±14,46	0,120

Таблица 2

Результаты регрессионного анализа Кокса связи факторов риска (потребление изучаемых продуктов) с развитием фатального исхода от ССЗ у лиц с СД2 (стандартизация по возрасту, ИМТ, ЭЦ, уровню образования, семейному положению, курению, АГ, физической активности)			
Потребление продуктов	Оба пола, $n = 681$	Мужчины, $n = 284$	Женщины, $n = 397$
Фрукты, на 80 г/сут			
HR	0,786; $p = 0,011$	0,726; $p = 0,044$	0,852; $p = 0,228$
95%-й ДИ	0,670–0,923	0,570–0,990	0,670–1,083
Овощи, на 80 г/сут			
HR	0,923; $p = 0,220$	1,000; $p = 0,571$	0,923; $p = 0,299$
95%-й ДИ	0,852–1,000	0,852–1,083	0,852–1,083
Зерновые, на 50 г/сут			
HR	1,000; $p = 0,821$	1,051; $p = 0,662$	1,000; $p = 0,965$
95%-й ДИ	0,905–1,162	0,860–1,283	0,818–1,221
Бобовые, на 10 г/сут			
HR	1,030; $p = 0,624$	1,127; $p = 0,305$	0,990; $p = 0,944$
95%-й ДИ	0,904–1,184	0,904–1,397	0,834–1,184
Орехи, на 2 г/сут			
HR	0,895; $p = 0,006$	0,826; $p = 0,011$	0,939; $p = 0,178$
95%-й ДИ	0,828–0,968	0,662–0,956	0,857–1,028
Белый хлеб, на 50 г/сут			
HR	1,105; $p = 0,234$	1,000; $p = 0,874$	1,221; $p = 0,060$
95%-й ДИ	0,951–1,283	0,818–1,221	1,000–1,489

Окончание табл. 2

Потребление продуктов	Оба пола, $n = 681$	Мужчины, $n = 284$	Женщины, $n = 397$
Черный хлеб, на 50 г/сут			
HR	0,951; $p = 0,601$	1,105; $p = 0,372$	0,778; $p = 0,054$
95%-й ДИ	0,818–1,105	0,905–1,349	0,605–1,000
Сладости, на 50 г/сут			
HR	1,000; $p = 0,739$	0,951; $p = 0,707$	1,000; $p = 0,840$
95%-й ДИ	0,860–1,105	0,818–1,162	0,778–1,221
Мясные продукты, на 80 г/сут			
HR	0,852; $p = 0,083$	0,923; $p = 0,318$	0,786; $p = 0,036$
95%-й ДИ	0,726–1,000	0,726–1,083	0,618–0,990
Рыба, на 30 г/сут			
HR	1,000; $p = 0,938$	1,000; $p = 0,938$	0,942; $p = 0,671$
95%-й ДИ	0,835–1,196	0,786–1,270	0,696–1,270
Яйца, на 50 г/сут			
HR	1,728; $p = 0,001$	1,728; $p = 0,003$	1,815; $p = 0,097$
95%-й ДИ	1,283–2,223	1,221–2,440	0,905–3,437
Молочные продукты, на 50 г/сут			
HR	1,051; $p = 0,036$	1,051; $p = 0,029$	1,051; $p = 0,537$
95%-й ДИ	1,000–1,105	1,000–1,162	0,951–1,105
Молоко, на 80 г/сут			
HR	1,000; $p = 0,523$	1,000; $p = 0,789$	1,083; $p = 0,431$
95%-й ДИ	0,923–1,083	0,923–1,083	0,923–1,173
Жиры, масло, на 15 г/сут			
HR	1,094; $p = 0,197$	1,078; $p = 0,438$	1,178; $p = 0,150$
95%-й ДИ	0,956–1,250	0,900–1,288	0,942–1,491

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К., Исаков М.А., Железнякова А.В. Атлас регистра сахарного диабета Российской Федерации. Статус 2018 г. *Сахарный диабет*. 2019;22(S2-2):4–61. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-3822.
- Асфандиярова Н.С. Смертность при сахарном диабете 2 типа. *Сахарный диабет*. 2015;18(4):12–21. DOI: 10.14341/DM7186.
- Рымар О.Д., Щербакова Л.В., Щетинина А.О., Мустафина С.В., Симонова Г.И., Рагино Ю.И. и др. Базовые клинико-лабораторные показатели при сахарном диабете 2 типа и риск сердечно-сосудистой смерти. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(4):46–53. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-3822.
- Mirmiran P., Bahadoran Z, Azizi F. Functional foods-based diet as a novel dietary approach for management of type 2 diabetes and its complications: A review. *World J. Diabetes*. 2014;5(3):267–281. DOI: 10.4239/wjd.v5.i3.267.
- Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом; под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова (9-й выпуск). *Сахарный диабет*. 2019;22(1, спецвып.):1–112. DOI: 10.14341/DM221S1.
- Кунцевич А.К., Мустафина С.В., Малютин С.К., Веревкин Е.Г., Рымар О.Д. Популяционное исследование питания городского населения при сахарном диабете 2 типа. *Сахарный диабет*. 2015;18(4):59–65. DOI: 10.14341/DM7174.
- Peasey A., Bobak M., Kubinova R., Malyutina S., Pajak A., Tamosiunas A. et al. Determinants of cardiovascular disease and other non-communicable of diseases in Central and Eastern Europe: Rational and design of the HAPIEE Study. *BMC Public Health*. 2006;6:255. DOI: 10.1186/1471-2458-6-255.
- Brunner E., Stallone D., Juneja M., Bingham S., Marmot M. Dietary assessment in Whitehall II: comparison of 7 d diet diary and food frequency questionnaire and validity against biomarkers. *Br. J. Nutr.* 2001;86(3):405–414. DOI: 10.1079/bjn2001414.
- Boylan S., Welch A., Pikhart H., Malyutina S., Pajak A., Kubinova R. et al. Dietary habits in three Central and Eastern European countries: the HAPIEE study. *BMC Public Health*. 2009;9:439. DOI: 10.1186/1471-2458-9-439.
- Nothlings U., Schulze M.B., Weikert C., Boeing H., van der Schouw Y.T., Bamia C. et al. Intake of vegetables, legumes, and fruit, and risk for all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in a european diabetic population. *Journal of Nutrition*. 2008;138(4):775–781. DOI:10.1093/jn/138.4.775.
- Liu G., Guasch-Ferré M., Hu Y., Li Y., Hu F.B., Rimm E.B. et al. Nut consumption in relation to cardiovascular disease incidence and mortality among patients with diabetes mellitus. *Circulation Research*. 2019;124(6):920–929. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.314316.
- Kris-Etherton P.M., Hu F.B., Ros E., Sabate J. The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: Multiple potential mechanisms. *Journal of Nutrition*. 2008;138(9):1746S–1751S. DOI:10.1093/jn/138.9.1746S.
- Aune D., Giovannucci E., Boffetta P., Fadnes L.T., Keum N., Norat T. et al. Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality – a systematic review and dose-response meta-analysis of pro-

- spective studies. *Ins. J. Epidemiol.* 2017;46(3):1029–1056. DOI:10.1093/ije/dyw319.
14. Kwok C.S., Gulati M., Erin D., Michos E.D., Jessica Potts J., Wu P. et al. Dietary components and risk of cardiovascular disease and all-cause mortality: a review of evidence from meta-analyses. *European Journal of Preventive Cardiology.* 2019;26(13):1415–1429. DOI: 10.1177/2047487319843667.
 15. Aune D., Keum N., Giovannucci E., Fadnes L.T., Boffetta P., Greenwood D.C. et al. Nut consumption and risk of cardiovascular disease, total cancer, all-cause and cause-specific mortality: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMC Med.* 2016;14(1):207. DOI: 10.1186/s12916-016-0730-3.
 16. Rohrmann S., Overvad K., Bueno-de-Mesquita H.B., Jakobsen M.U., Egeberg R., Tjonneland A. et al. Meat consumption and mortality – results from the European prospective investigation into cancer and nutrition. *BMC Medicine.* 2013;11:63. DOI: 10.1186/1741-7015-11-63.
 17. Etermadi A., Sinha R., Ward M.H., Graubard B.I., Inoue-Choi M., Dawsey S.M. et al. Mortality from different causes associated with meat, heme iron, nitrates, and nitrites in the NIH-AARP Diet and Health Study: population based cohort study. *BMJ.* 2017;357:j1957. DOI: 10.1136/bmj.j1957.
 18. Virtanen H.E.K., Voutilainen S., Koskinen T.T., Mursu J., Kokko P., Ylilauri M.P.T. et al. Dietary proteins and protein sources and risk of death: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2019;109(5):1462–1471. DOI: 10.1093/ajcn/nqz025.
 19. Budhathoki S., Sawada N., Iwasaki M., Yamaji T., Goto A., Kotemori A. et al. Association of Animal and Plant Protein Intake With All-Cause and Cause-Specific Mortality in a Japanese Cohort S. *JAMA Intern. Med.* 2019;179(11):1509–1518. DOI: 10.1001/jamainternmed.2019.2806.
 20. Djousse L., Gaziano J.M. Egg Consumption and Cardiovascular Disease and Mortality The Physicians' Health Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008;87(4):964–969. DOI: 10.1093/AJCN/87.4.964.
 21. Zhong V.W., Horn L.V., Cornelis M.C., Wilkins J.T., Ning H. et al. Associations of dietary cholesterol or egg consumption with incident cardiovascular disease and mortality. *JAMA.* 2019;321(11):1081–1095. DOI: 10.1001/jama.2019.1572.

Вклад авторов

Кунцевич А.К. – сбор и обработка материала, анализ данных, написание текста. Щетинина А.О. – сбор и обработка материалов. Мустафина С.В. – сбор, анализ данных. Вережкин Е.Г., Щербакова Л.В. – формирование базы данных, анализ. Симонова Г.И. – анализ данных. Рымар О.Д. – концепция и дизайн исследования, анализ данных, написание текста.

Информация об авторах

Кунцевич Александр Константинович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, akkun2006@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2191-1706>

Щетинина Анна Олеговна – аспирант, мл. науч. сотрудник, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, ivaninskaya@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7658-7053>

Мустафина Светлана Владимировна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, mustafina_sv@iimed.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4716-876X>

Вережкин Евгений Георгиевич – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН; НИИМББ – ФИЦ ФТМ, г. Новосибирск, ewer@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2877-1846>

Симонова Галина Ильинична – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, G.simonova@iimed.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4030-6130>

Щербакова Лилия Валерьевна – ст. науч. сотрудник, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, 9584792@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9270-9188>

Рымар Оксана Дмитриевна – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией, НИИТПМ – ФИЦ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, orymar23@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-4095-0169>

(✉) **Кунцевич Александр Константинович**, akkun2006@rambler.ru

Поступила в редакцию 16.12.2020;
одобрена после рецензирования 28.05.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.12-008.46-036.12-008.853-076.5:615.273.3

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-90-96>

Оценка функционального состояния митохондрий мононуклеарных лейкоцитов методом проточной цитометрии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью под влиянием убидекаренона

Лобанова О.А.¹, Гайковая Л.Б.², Дадали В.А.², Ермаков А.И.^{1,2}, Кухарчик Г.А.^{1,2}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) им. В.А. Алмазова
Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

² Северо-Западный государственный медицинский университет СЗГМУ им. И.И. Мечникова
Россия, 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить функциональное состояние митохондрий мононуклеарных лейкоцитов периферической крови с применением метода проточной цитометрии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью на фоне приема препарата убидекаренона (коэнзима Q).

Материалы и методы. В исследование включены 53 пациента с хронической сердечной недостаточностью после перенесенного инфаркта миокарда. Пациенты были распределены в две группы: первая группа получала только оптимально подобранную стандартную терапию, вторая группа – дополнительно к оптимально подобранной медикаментозной терапии получала препарат убидекаренона («Кудевита»). Оценка митохондриального мембранного потенциала проводилась методом проточной цитометрии с применением йодистого пропидия и йодид 3,3'-дигексилоксакарбоцианина (DiOC6(3)). Определение содержания коэнзима Q в крови проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовой детекцией.

Результаты. Выявлена прямая корреляционная зависимость между содержанием коэнзима Q в плазме крови и процентом DiOC-позитивных клеток ($R = 0,39$; $p < 0,05$) у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. В группе пациентов, получавших только оптимально подобранную стандартную терапию, не выявлено статистически значимых различий в содержании коэнзима Q и процентном содержании DiOC-позитивных и DiOC-негативных клеток до начала и после терапии. В группе пациентов, получавших дополнительно препарат убидекаренона, после терапии наблюдалось статистически значимое увеличение доли DiOC-позитивных клеток и уменьшение доли DiOC-негативных клеток.

Заключение. Установлено повышение функциональной активности митохондрий у пациентов с хронической сердечной недостаточностью на фоне терапии препаратом убидекаренона. Метод проточной цитометрии может быть использован для оценки функционального состояния митохондрий и контроля эффективности применяемой терапии.

Ключевые слова: митохондрии, хроническая сердечная недостаточность, коэнзим Q, проточная цитометрия, митохондриальный мембранный потенциал

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СЗГМУ им. И.И. Мечникова (протокол № 12 от 10.12.2014).

Для цитирования: Лобанова О.А., Гайковая Л.Б., Дадали В.А., Ермаков А.И., Кухарчик Г.А. Оценка функционального состояния митохондрий мононуклеарных лейкоцитов методом проточной цитометрии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью под влиянием убидекаренона. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):90–96. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-90-96>.

Evaluation of the functional state of mitochondria isolated from mononuclear leukocytes by flow cytometry in patients with chronic heart failure receiving ubidecarenone

Lobanova O.A.¹, Gaikovaya L.B.², Dadali V.A.², Ermakov A.I.^{1,2}, Kukharchik G.A.^{1,2}

¹*Almazov National Medical Research Center (ANMRC)
2, Akkuratova Str., St. Petersburg, 197341, Russian Federation*

²*North-Western State Medical University (NWSMU) named after I.I. Mechnikov
41, Kirochnaya Str., St. Petersburg, 191015, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To evaluate the functional state of mitochondria isolated from peripheral blood mononuclear leukocytes using flow cytometry in patients with chronic heart failure receiving ubidecarenone (coenzyme Q).

Materials and methods. The study included 53 patients with chronic heart failure who had experienced myocardial infarction. The patients were divided into two groups: group 1 received optimally chosen standard therapy, while group 2 received optimally chosen standard therapy and ubidecarenone ("Kudevite"). The mitochondrial membrane potential was evaluated by flow cytometry using propidium iodide and 3,3'-dihexyloxycarbocyanine iodide (DiOC6(3)). The levels of coenzyme Q were determined using high-performance liquid chromatography with ultraviolet (UV) detection.

Results. A direct correlation was established between the coenzyme Q levels in the blood plasma and the percentage of DiOC6(3)-positive cells ($R = 0.39$; $p < 0.05$) in the patients with chronic heart failure. In group 1, no significant differences in the coenzyme Q levels and the percentage of DiOC6(3)-positive and DiOC6(3)-negative cells before and after the therapy were observed. In group 2, a significant increase in the proportion of DiOC6(3)-positive cells and a significant decrease in the percentage of DiOC6(3)-negative cells were revealed.

Conclusion. The increase in the functional activity of mitochondria in the patients with chronic heart failure receiving ubidecarenone was identified. Flow cytometry can be used to evaluate the functional state of mitochondria and observe the efficiency of the selected therapy.

Keywords: mitochondria, chronic heart failure, coenzyme Q, flow cytometry, mitochondrial membrane potential

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All study participants signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov (Protocol No. 12 of 10.12.2014).

For citation: Lobanova O.A., Gaikovaya L.B., Dadali V.A., Ermakov A.I., Kukharchik G.A. Evaluation of the functional state of mitochondria isolated from mononuclear leukocytes by flow cytometry in patients with chronic heart failure receiving ubidecarenone. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):90–96. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-90-96>.

ВВЕДЕНИЕ

Применение ультраструктурного анализа для изучения патологических процессов в миокарде показало, что первыми на любое воздействие реагируют митохондрии [1]. Определение характера и степени повреждения митохондрий у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) является важной клинико-лабораторной задачей, так как может определять степень тяжести течения заболевания [2, 3]. Кроме того, митохондрии рассматриваются в качестве потенциальной мишени для терапии сердечной недостаточности [4–6].

Для оценки функционального состояния митохондрий (М) существует достаточно большой набор методов, основанных на измерении скорости поглощения кислорода, аутофлуоресценции НАДН и флавопротеинов, активности ферментов М, уровня АТФ [7]. Однако не все методы могут быть использованы в условиях клинико-диагностических лабораторий. В первую очередь, это связано с высокой сложностью алгоритмов исследования и методик проведения анализа. Одним из перспективных методов изучения функционального состояния М является оценка изменения мембранного митохондриального потенциала (ММП) с помощью проточной цитометрии. К преимуществам метода относятся небольшое количество биологического материала для исследования и более высокая пропускная способность.

Падение ММП может служить интегральным показателем функционального состояния митохондрий, так как одной из важнейших функций М является энергообеспечение клеток, важную роль в котором играет дыхательная цепь. Работа дыхательной цепи сопровождается выбросом протонов в межмембранное пространство, что приводит к формированию протонного градиента, который запускает работу АТФ-синтазы. Нарушения метаболических процессов, а также структуры и целостности митохондриальной мембраны могут приводить в конечном итоге к снижению мембранного потенциала [8, 9].

Определение изменения ММП с помощью метода проточной цитометрии основано на использовании специальных флуоресцентных красителей. Примером таких красителей могут быть йодид 3,3'-дигексилосакарбоцианина (DiOC6(3)) и йодистый пропилий (PI) [10, 11]. DiOC6(3) относится к группе катионных липофильных красителей, которые в литературе получили название «митохондриальные зонды». Благодаря своим липофильным свойствам DiOC6(3) способен свободно проникать через билипидные мембраны клетки и, благодаря уже кати-

онным свойствам, этот краситель накапливается в областях с высокой концентрацией протонов, т.е. в митохондриях. Этот эффект сопровождается изменением интенсивности флуоресценции клеток в зеленой части спектра, что и регистрируют при анализе методом проточной цитофлуориметрии [12]. В том случае, если концентрация протонов в митохондриях снижена, то краситель будет накапливаться в них менее эффективно, и, как следствие, интенсивность его флуоресценции будет падать. Тем самым можно отличить клетки с эффективно работающими М и, как следствие, высокой интенсивностью флуоресценции (DiOC-позитивные клетки), от клеток, в которых функционирование М нарушено (DiOC-негативные клетки). Такие клетки обладают пониженной интенсивностью флуоресценции.

На поздних стадиях разрушения клеток происходит нарушение целостности клеточной мембраны и, как следствие, их гибель. Для выявления этих поздних стадий применяется другой флуоресцентный краситель PI, который не может проходить через клеточные мембраны, но по мере ее разрушения он начинает проникать в клетку, накапливаясь в цитоплазме и ядре, взаимодействуя с ДНК и РНК. В результате клетка приобретает способность к флуоресценции в красной области спектра.

Таким образом, метод проточной цитометрии с применением двух флуоресцентных красителей позволяет определять не только клетки с сохраненным функциональным состоянием М, но и выявлять клетки, находящиеся на разных стадиях апоптоза, являющегося следствием развивающейся митохондриальной дисфункции [13].

Учитывая сложность получения сердечной ткани человека для исследовательских целей, одним из подходов для изучения патогенетических изменений в миокарде является определение биохимических показателей в периферических клетках крови. В литературе имеются данные о наличии корреляции между изменениями во внутренних органах, в том числе миокарде, и в периферических клетках крови [14–16]. Так, в работах Е. Cortez и соавт. была показана корреляция между изменениями биохимических показателей в мононуклеарных лейкоцитах периферической крови и кардиомиоцитах. Определялись следующие показатели: частота дыхания клеток, карнитин-пальмитоилтрансфераза 1, UCP 2, ГЛЮТ 1 [14].

Цель исследования – оценить функциональное состояние митохондрий мононуклеарных лейкоцитов периферической крови с применением метода проточной цитометрии у пациентов с ХСН на фоне приема препарата убидекаренона (коэнзима Q).

В задачи исследования входило определение возможности оценки эффективности применяемой терапии убидекареноном путем мониторинга изменений мембранного митохондриального потенциала в клетках крови у пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 53 пациента с ХСН после перенесенного инфаркта миокарда (ИМ) в срок не более 6 мес на момент включения пациента в исследование, проходивших лечение в СПб ГБУЗ «Елизаветинская больница». Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей» и требованиям, изложенным в основных нормативных документах Российской Федерации по клиническим исследованиям. Средний возраст пациентов составил $68 \pm 8,1$ лет, из них 28 мужчин и 25 женщин. Диагноз ХСН основывался на критериях ОССН (Общество специалистов по сердечной недостаточности).

Всем пациентам исходно проводили оценку функционального состояния митохондрий мононуклеарных лейкоцитов периферической крови и содержания общего коэнзима Q (КоQ) в плазме крови, а также выполняли стандартное общеклиническое и биохимическое обследование. Далее пациенты были распределены методом блочной рандомизации 2×2 в две группы: группа 1 – 28 больных, получавших оптимально подобранную стандартную терапию в соответствии с клиническими рекомендациями по диагностике и лечению ИБС и ХСН, группа 2 – 25 больных, которые дополнительно к оптимально подобранной медикаментозной терапии получали препарат убидекаренона («Кудевита») в дозе 120 мг/сут (2 капсулы (по 30 мг в капсуле) утром и 2 капсулы вечером).

Пациенты обеих групп были сопоставимы по полу и возрасту: средний возраст в группе 1 составлял $70,0 \pm 6,9$ (56,0; 78,0) лет, в группе 2 – $66,8 \pm 9,5$ (49,0; 78,0) лет ($p > 0,05$). В группе 1 мужчин – 48%, в группе 2 – 52%. Все исследования проводились дважды: при госпитализации и через 3 мес после начала терапии.

Для оценки изменения ММП методом проточной цитометрии кровь на исследование брали в пробирки с ЭДТА. Выделение лейкоцитарной фракции проводили с использованием урографина. Для исследования использовали полученный осадок. Далее к 100 мкл клеточной суспензии добавляли 20-кратный рабочий раствор DiOC6(3) (Invitrogen, США), получая

конечную концентрацию DiOC6(3), равную 20 нМ. Затем образцы тщательно перемешивали и инкубировали в течение 20 мин при 37°C в атмосфере 5%-го CO_2 в защищенном от света месте. В полученную клеточную суспензию вносили 10 мкл раствора йодистого пропидия (Sigma-Aldrich, США), получая финальную концентрацию PI, равную 1 мкг/мл. Далее образцы инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте. По завершении инкубации в образцы вносили по 200 мкл фосфатно-солевого буфера и проводили цитометрический учет. Анализ полученных результатов проводили при помощи программного обеспечения Kaluza™ (Beckman Coulter, США).

Определение содержания общего КоQ в плазме крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с ультрафиолетовой детекцией на хроматографе Agilent 1200 [17, 18]. КоQ, определяемый в плазме крови исходно (до начала лечения) у пациентов группы 1, представлял собой эндогенный КоQ. У пациентов группы 2 определяемый КоQ представлял собой сумму эндогенного КоQ и полученного в составе препарата.

В качестве препарата, содержащего КоQ, в исследовании был использован препарат «Кудевита» (ЗАО «ПИК-ФАРМА», Москва). Особенностью данного фармакологического препарата является высокотехнологичная субстанция швейцарского производства ОЛЛ-Q, обеспечивающая оптимальную биодоступность убидекаренона. Данная субстанция обладает повышенной гидрофильностью, что позволяет перевести гидрофобный убидекаренон в водорастворимую форму, оптимальную для усвоения.

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016. Статистический анализ проводился с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1-Q_3)$. Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий Манна – Уитни. С целью изучения связи между явлениями, представленными количественными данными, использовался также непараметрический метод – расчет коэффициент ранговой корреляции Спирмена (R). Значения коэф-

фициента корреляции r интерпретировались в соответствии со шкалой Чеддока (табл. 1).

Таблица 1

Шкала Чеддока	
Значения коэффициента корреляции r_{xy}	Характеристика тесноты корреляционной связи
Менее 0,1	связь отсутствует
0,1–0,3	слабая
0,3–0,5	умеренная
0,5–0,7	заметная
0,7–0,9	высокая
0,9–0,99	весьма высокая

Примечание. Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении корреляционного анализа была выявлена статистически значимая прямая умеренная корреляционная зависимость между содержанием эндогенного КоQ в плазме крови ($0,55 \pm 0,11$ мкг/мл) и долей DiOC-позитивных клеток ($R = 0,39$; $p < 0,05$) у пациентов с ХСН до начала лечения. Низкая концентрация КоQ у пациентов с ХСН является одним из факторов, приводящим к изменению митохондриальных процессов и активации процессов гибели клеток, что связано с сокращением доли DiOC-позитивных клеток, в которых функционирование М сохранено. Чем выше концентрация КоQ, тем устойчивее митохондриальная мембрана. Таким образом, добавление к терапии препаратов убидекаренона может улучшать функциональное состояние М.

В группе 1 (пациенты, получавшие только оптимально подобранную стандартную терапию), не выявлено статистически значимых различий в процентном содержании клеток до начала и после терапии (табл. 2). В группе 2 (пациенты, получавшие дополнительно препарат убидекаренона) после терапии наблюдалось статистически значимое увеличение доли DiOC-позитивных клеток и уменьшение доли DiOC-негативных клеток.

Таблица 2

Содержание DiOC-позитивных и DiOC-негативных клеток у пациентов с ХСН до и после лечения, %, Ме (Q_1 – Q_3)		
Показатель	DiOC-позитивные клетки	DiOC-негативные клетки
Группа 0 (до начала лечения)	75,0 (67,0; 80,4)	21,5 (19,5; 32,9)
Группа 1 (стандартная терапия)	77,0 (71,0; 85,4)	21,8 (14,4; 28,9)
Группа 2 (стандартная терапия + «Кудевита»)	94,0 (80,0; 95,0)*	4,2 (4,0; 19,5)**

* $p = 0,025$ (при сравнении с группой 0), $p = 0,044$ (при сравнении с группой 1).

** $p = 0,031$ (при сравнении с группой 0), $p = 0,043$ (при сравнении с группой 1).

При проведении корреляционного анализа в группе 2 показана статистически значимая обратная корреляционная зависимость между содержанием КоQ в плазме крови и процентом DiOC-негативных клеток исходно ($R = -0,45$; $p < 0,05$).

DiOC-позитивные клетки обладают высокой флуоресценцией в зеленой области спектра, что связано с активным накоплением красителя DiOC6(3). Это указывает на сохранение мембранного потенциала митохондрий, а следовательно, и основных процессов, направленных на его формирование. Таким образом, на фоне терапии убидекареноном наблюдается увеличение функциональной активности митохондрий. Как известно, КоQ, проникая в клетки, включается в работу дыхательной цепи и участвует в процессах энергообеспечения клеток [19, 20]. Кроме того, убидекаренон обладает антиоксидантными свойствами и снижает продукцию активных форм кислорода (АФК). АФК через активацию МАП-киназ, в том числе p38, и белка p53 активируют проапоптотические факторы (Bax, Bak и др.), а также способствуют открытию митохондриальных пор. Уменьшение образования АФК приводит к снижению выхода проапоптотических белков из матрикса митохондрий в цитозоль, подавлению процессов апоптоза и, как следствие, уменьшению последующей гибели клеток. Таким образом, сохраняется функциональная активность митохондрий, в том числе работа дыхательной цепи. В результате восстанавливается выброс протонов в межмембранное пространство, ведущий к восстановлению трансмембранного потенциала митохондрий.

На фоне терапии убидекареноном наблюдалось уменьшение доли DiOC-негативных клеток, что может быть связано с сокращением продукции АФК и подавлением активности процессов апоптоза. В связи с повышением концентрации протонов в межмембранном пространстве митохондрий DiOC(6)3 интенсивнее накапливался в митохондриях и обеспечивал рост интенсивности флуоресценции в зеленой области спектра. При этом за счет сохранения структуры клеточной мембраны в результате снижения активности процессов перекисного окисления липидов проникновение в клетки и накопление в них другого красителя (PI) уменьшались, что проявлялось в сокращении интенсивности свечения в красной области спектра. Это указывает на снижение количества клеток, находящихся на стадии раннего апоптоза и гибнущих клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом проточной цитометрии было установлено повышение функциональной активности митохондрий у пациентов с ХСН на фоне терапии препаратом уби-

декаренона, что подтверждается статистически значимым увеличением доли DiOC-позитивных клеток. Определение функционального состояния митохондрий мононуклеарных лейкоцитов периферической крови при помощи метода проточной цитометрии может быть использовано для оценки функционального состояния митохондрий и контроля эффективности применяемой терапии у пациентов с ХСН.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Вечерский Ю.Ю., Рязанцева Н.В., Хлапов А.П. Патогенез хронической сердечной недостаточности: изменение доминирующей парадигмы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2007;4:71–79.
2. Курбатова О.В., Измайлова Т.Д., Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Полякова С.И., Мирошкина Л.В. и др. Митохондриальная дисфункция у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. *Вестник РАМН*. 2014;69(7–8):78–84. DOI: 10.15690/vramn.v69i7-8.1112.
3. Geromel V., Darin N., Chretien D., Benit P., DeLonlay P., Rötig A. et al. Coenzyme Q and idebenone in the therapy of respiratory chain diseases: rationale and comparative benefits. *Mol. Gen. Met.* 2002;77(1–2):21–30. DOI: 10.1016/s1096-7192(02)00145-2.
4. Aimo A., Borrelli C., Vergaro G., Piepoli M.F., Caterina A.R., Mirizzi G. et al Targeting mitochondrial dysfunction in chronic heart failure: Current evidence and potential approaches. *Curr. Pharm. Des.* 2016;22(31):4807–4822. DOI: 10.2174/1381612822666160701075027.
5. Duchon M.R. Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology. *Mol. Aspects Med.* 2004;25(4):365–451. DOI: 10.1016/j.mam.2004.03.001.
6. Essop M.F., Opie L.H. Metabolic therapy for heart failure. *Eur. Heart J.* 2004;25(20):1765–1768. DOI: 10.1016/j.ehj.2004.08.019.
7. Фрелих Г.А., Полосеева Н.Ю., Васильев А.С., Удуд В.В. Современные методы оценки функционального состояния митохондрий. *Сибирский медицинский журнал*. 2013;28(3):7–13.
8. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. Генерация активных форм кислорода митохондриями. *Успехи биологической химии*. 2013;53:245–296.
9. Pieczenik S.R., Neustadt J. Mitochondrial dysfunction and molecular pathways of disease. *Exp. Mol. Pathol.* 2007;83(1):84–92. DOI: 10.1016/j.yexmp.2006.09.008.
10. Sakamuru S., Li Xiao, Attene-Ramos M.S., Huang R., Lu J., Shou L. et al. Application of a homogenous membrane potential assay to assess mitochondrial function. *Physiol. Genomics*. 2012;44(9):495–503. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00161.2011.
11. Sakamuru S., Attene-Ramos M.S., Xia M. Mitochondrial membrane potential assay. *Methods Mol. Biol.* 2016;1473:17–22. DOI: 10.1007/978-1-4939-6346-1_2.
12. Glisic-Milosavljevic S., Waukau J., Jana S., Jailwala P., Rovinsky J., Ghosh S. Comparison of apoptosis and mortality measurements in peripheral blood mononuclear cells (PB-MCs) using multiple methods. *Cell Prolif.* 2005;38(5):301–311. DOI: 10.1111/j.1365-2184.2005.00351.x.
13. Wlodkowic D., Telford W., Skommer J., Darzynkiewicz Z. Apoptosis and beyond: cytometry in studies of programmed cell death. *Methods Cell Biol.* 2011;103:55–98. DOI: 10.1016/B978-0-12-385493-3.00004-8.
14. Cortez E., Neves F.A., Bernardo A.F., Stumbo A.C., Carvalho L., Garcia-Souza E. et al. Lymphocytes mitochondrial physiology as biomarker of energy metabolism during fasted and fed conditions. *Scientific World Journal*. 2012;2012:629326. DOI: 10.1100/2012/629326.
15. Palloti F., Lenaz G. Isolation and subfraction of mitochondria from animal cells and tissue culture lines. *Methods Cell Biol.* 2007;80:3–44. DOI: 10.1016/S0091-679X(06)80001-4.
16. Schiattarella G.G., Magliulo F., Cattaneo F., Gargiulo G., Sannino A., Franzone A. et al. Novel molecular approaches in heart failure: Seven trans-membrane receptors signaling in the heart and circulating blood leukocytes. *Front. Cardiovasc. Med.* 2015;2:13. DOI: 10.3389/fcvm.2015.00013.
17. Jiang P., Wu M., Zheng Y., Wang C., Li Y., Xin J. et al. Analysis of coenzyme Q(10) in human plasma by column-switching liquid chromatography. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2004;805(2):297–301. DOI: 10.1016/j.jchromb.2004.03.008.
18. Mosca F., Fattorini D., Bompadre S., Littarru G.P. Assay of coenzyme Q(10) in plasma by a single dilution step. *Anal. Biochem.* 2002;305(1):49–54. DOI: 10.1006/abio.2002.5653.
19. Bhatti J.S., Bhatti G.K., Reddy P.H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders – A Step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochim. Biophys. Acta*. 2017;1863(5):1066–1077. DOI: 10.1016/j.bbdis.2016.11.010.
20. Wang Y., Hekimi S. Understanding ubiquinone. *Trends Cell Biol.* 2016;26(5):367–378. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.12.007.

Благодарности

Выражаем признательность Ксении Александровне Загородниковой, канд. мед. наук, зав. отделом клинической фармакологии, за помощь в проведении хроматографического исследования.

Вклад авторов

Лобанова О.А., Ермаков А.И. – проведение исследований, анализ и интерпретация данных. Гайковская Л.Б. – разработка концепции и дизайна. Дадали В.А. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Кухарчик Г.А. – клиническая часть работы (отбор пациентов).

Информация об авторах

Лобанова Ольга Алексеевна – ассистент, кафедра математики и естественно-научных дисциплин, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, agaf3@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0435-2631>

Гайковская Лариса Борисовна – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой биологической и общей химии, зав. центральной клинической диагностической лабораторией (ЦКДЛ), СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, largaykovaya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1000-1114>

Дадали Владимир Абдулович – д-р хим. наук, профессор, СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, vdadali@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1404-9396>

Ермаков Алексей Игоревич – врач клинической лабораторной диагностики, ЦКДЛ, СЗГМУ им. И.И. Мечникова; аспирант, кафедра лабораторной медицины и генетики, НМИЦ им. В.А. Алмазова, г. Санкт-Петербург, aleksei.ermakov@szgmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3435-5881>

Кухарчик Галина Александровна – д-р мед. наук, декан лечебного факультета, НМИЦ им. В.А. Алмазова; профессор, кафедра факультетской терапии, СЗГМУ им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург, kukharchik_ga@almazovcentre.ru, <https://orcid.org/0000-0001-84-80-9162>

(✉) **Лобанова Ольга Алексеевна**, agaf3@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.02.2020;
одобрена после рецензирования 25.03.2021;
принята к публикации 25.05.2021

УДК 616.5-089-74-089.819.843:577.1
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-97-104>

Морфологический анализ местной тканевой реакции на подкожную имплантацию фрагментов ацеллюлярного дермального матрикса

Мелконян К.И.¹, Веревкин А.А.¹, Сотниченко А.С.¹, Русинова Т.В.¹, Козмай Я.А.¹,
Асякина А.С.¹, Карташевская М.И.¹, Гуревич К.Г.², Быков И.М.¹

¹ Кубанский государственный медицинский университет (КубГМУ)
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. им. Митрофана Седина, 4

² Московский государственный медико-стоматологический университет (МГМСУ) им. А.И. Евдокимова
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1

РЕЗЮМЕ

Ацеллюлярные дермальные матриксы (АДМ) набирают большую популярность в качестве хирургических материалов при операциях на органах малого таза, в ожоговой терапии и пластической хирургии. Проверка биосовместимости материалов является важным и необходимым этапом при разработке новых АДМ.

Цель исследования – провести сравнительный анализ результатов подкожной имплантации крысам АДМ и нативной дермы свиньи.

Материалы и методы. Для получения АДМ использовали детергентно-энзиматический метод децеллюляризации. Через 7, 14, 21, 60 сут после имплантации АДМ (экспериментальная группа) и нативной дермы свиньи (контрольная группа) животных выводили из эксперимента. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, трихромом по Массону, выполняли иммуногистохимическую реакцию с антителами к CD3 и CD68. Компьютерную морфометрию проводили с помощью программы ImageJ.

Результаты. На 7-е сут в экспериментальной группе отмечалось умеренное асептическое воспаление, в контрольной группе – выраженное асептическое воспаление с эозинофилами в инфильтрате. На 14-е сут в экспериментальной группе показано относительно низкое содержание макрофагов и Т-лимфоцитов с незначительным отеком, без биодеградации АДМ. В контрольной группе выявлено выраженное воспаление, инфильтрация большим количеством макрофагов и Т-лимфоцитов, а также фрагментация коллагеновых волокон. На 21-е сут вокруг АДМ сформировалась тонкая капсула, в инфильтрате малое количество Т-лимфоцитов и макрофагов, коллагеновые волокна имплантата были интактны. В образцах контрольной группы – выраженное воспаление с присутствием значительного количества лимфоцитов и макрофагов, фрагментация и васкуляризация имплантата. На 60-е сут вокруг АДМ воспалительной реакции не наблюдалось, биодеградация была минимальной, вокруг фрагмента нативной дермы свиньи сформировалась плотная фиброзная капсула.

Заключение. Разработанный АДМ обладает низкой иммуногенностью и малой степенью биодеградации. Это позволяет использовать данную конструкцию для дальнейших исследований по созданию полноценного хирургического материала, безопасного для применения в клинической практике.

Ключевые слова: регенеративная медицина, дерма, децеллюляризация, морфологический анализ, подкожная имплантация, ацеллюлярный дермальный матрикс

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ-П-20.1/11.

✉ Мелконян Карина Игоревна, kimelkonian@gmail.com

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено независимым этическим комитетом КубГМУ (протокол № 87 от 24.03.2020).

Для цитирования: Мелконян К.И., Веревкин А.А., Сотниченко А.С., Русинова Т.В., Козмай Я.А., Асякина А.С., Карташевская М.И., Гуревич К.Г., Быков И.М. Морфологический анализ местной тканевой реакции на подкожную имплантацию фрагментов ацеллюлярного дермального матрикса. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):97–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-97-104>.

Morphological analysis of a local tissue response to subcutaneously implanted acellular dermal matrix fragments

Melkonyan K.I.¹, Verevkin A.A.¹, Sotnichenko A.S.¹, Rusinova T.V.¹, Kozmai Ya.A.¹, Asyakina A.S.¹, Kartashevskaya M.I.¹, Gurevich K.G.², Bykov I.M.¹

¹Kuban State Medical University

4, Mitrofana Sedina Str., Krasnodar, 350063, Russian Federation

²A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry

20/1, Delegatskaya Str., Moscow, 127473, Russian Federation

ABSTRACT

Acellular dermal matrices (ADMs) are gaining popularity as surgical materials for operations on the pelvic organs, as well as in burn therapy and plastic surgery. Evaluation of the biocompatibility of surgical materials is an important and necessary step in the development of new ADMs.

The aim of the study was to compare the results of subcutaneous implantation of ADM and native porcine skin in rats.

Materials and methods. To obtain ADMs, detergent – enzymatic decellularization was used. On days 7, 14, 21, and 60 after the implantation of ADMs (the experimental group) and native porcine skin (the control group), the animals were removed from the experiment. The histologic sections were stained with hematoxylin – eosin and Masson's trichrome stain, then an immunohistochemical reaction with antibodies to CD3 and CD68 was performed. Computer morphometry was carried out using the ImageJ software.

Results. On day 7 after the implantation, moderate sterile inflammation in the experimental group and pronounced sterile inflammation with eosinophil infiltration in the control group were observed. On day 14 of the experiment, the samples from the experimental group were characterized by a relatively low content of macrophages and T-lymphocytes with insignificant edema and no signs of ADM biodegradation. The control group showed pronounced inflammation, a large number of infiltrating macrophages and T lymphocytes, as well as fragmentation of collagen fibers. On day 21 of the experiment, a thin capsule was formed around ADM, there was a small number of infiltrating T lymphocytes and macrophages, the collagen fibers of the implant were intact. In the samples of the control group, there was pronounced inflammation with the presence of a significant number of lymphocytes and macrophages, as well as fragmentation and vascularization of the implant. On day 60 of the experiment, no inflammatory response was observed around ADM, biodegradation was minimal, and a dense fibrous capsule was formed around the fragment of the native porcine skin.

Conclusion. The experimental ADM has low immunogenicity and a low degree of biodegradation, which makes it possible to use it for further research to create efficient surgical material that is safe for use in clinical practice.

Keywords: regenerative medicine, dermis, decellularization, morphological analysis, subcutaneous implantation, acellular dermal matrix

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by Kuban Science Foundation within the research project No. MFI-P-20.1/11.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by independent Ethics Committee at Kuban

State Medical University (Protocol No. 87 of 24.03.2020). The study was carried out in compliance with the principles of humanity set out in the European Council directives (86/609/EEC) and the ethical requirements of the Declaration of Helsinki revised in 2013.

For citation: Melkonyan K.I., Verevkin A.A., Sotnichenko A.S., Rusinova T.V., Kozmai Ya.A., Asyakina A.S., Kartashevskaya M.I., Gurevich K.G., Bykov I.M. Morphological analysis of a local tissue response to subcutaneously implanted acellular dermal matrix fragments. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):97–104. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-97-104>.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы широко используются ацеллюлярные (децеллюляризованные) материалы для создания тканеинженерных каркасов и культивирования на них клеток [1]. Существуют различные техники децеллюляризации, получившие широкое признание в регенеративной медицине [2]. С помощью этих методов можно создавать тканеспецифические каркасы, наиболее точно имитирующие физические и химические сигналы, необходимые для прикрепления, пролиферации, миграции, дифференциации и восстановления функций клеток [3].

Одним из самых перспективных результатов в хирургической практике является применение ацеллюлярных дермальных матриксов (АДМ) [4]. В последнее время АДМ набирают все большую популярность в качестве хирургических материалов при операциях на органах малого таза, в ожоговой терапии и пластической хирургии, в том числе и при реконструктивной маммопластике [5]. В пластической хирургии они используются как при радикальной кожносохраняющей мастэктомии, так и при вторичных операциях при деформациях груди в качестве поддерживающих эндопротез материалов [6]. Главным положительным качеством АДМ является возможность их «встраивания» в структуру собственной ткани пациента, прорастания сосудами и нервами, а значит, и их функционирования как собственной ткани [7]. Можно также отметить и такие их достоинства, как возможность не использовать расширители тканей, снижение послеоперационных болей, сокращение времени оперативного вмешательства, ускорение процессов регенерации и лучший эстетический результат [7, 8]. Особым преимуществом АДМ является наличие коллагена как одного из основных компонентов дермы. По сравнению с каркасами на основе других биологических или синтетических полимеров коллагеновые матриксы оптимальны для адгезии и роста клеток как *in vitro*, так и *in vivo*, обладают высокой биосовместимостью и низкой иммуногенностью, а также возможностью регуляции биodeградации за счет способности образовывать комплексы с биологически активными веществами. Последнее стимули-

рует пролиферацию фибробластов и формирование собственных тканей пациента [6].

На сегодняшний день имеется несколько хирургических материалов на основе АДМ, использующихся в косметической хирургии для реконструкции мягких тканей – AlloDerm, Strattice, DermaMatrix, SurgiMend, Permacol, Veritas, FlexHD. Однако не все аналоги могут применяться в отечественной хирургии в связи с законодательством (DermaMatrix, Dermalogen, AlloDerm, Cymetra), а материалы из бычьего коллагена вызывают сильную аллергическую реакцию.

Наиболее многообещающими в данном вопросе являются АДМ на основе дермы свиньи (Evolence, Strattice, Fibroquel, Permacol), использование которых резко снижает риск аллергических осложнений в хирургии [9]. Более того, использование дермы свиньи, которую можно получать из продуктов вторичного сырья, увеличивает производительность методики получения материалов. Тем не менее данные АДМ имеют крайне высокую стоимость, что ставит перед современной регенеративной медициной задачу по созданию более экономичного аналога. Первым этапом создания любого АДМ выступает оценка его биосовместимости [10]. Он не должен повреждать заселяющие его клетки или вызывать реакцию отторжения, при этом его биомеханические свойства должны быть сопоставимы с нативными тканями. Чтобы оценить соответствие полученного АДМ предъявляемым требованиям, целесообразно сравнить ранние и отдаленные результаты гетеротопической ксенотрансплантации разработанного нами АДМ и нативной дермы.

Цель исследования – провести сравнительный морфологический анализ результатов подкожной имплантации крысам разработанного АДМ и нативной дермы свиньи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы нативной дермы свиньи породы Ландрас толщиной 0,7 мм брали после предварительного удаления эпителиального слоя дерматомом в стерильных условиях и замораживали при температуре –80 °С. Для получения АДМ дерму инкубировали в течение

6 ч (3 цикла по 2 ч) при 37 °С в растворе Трипсина-Версена (Биолот, Россия). Затем проводили два цикла обработки 1%-м тритоном X-100 (Sigma-Aldrich, США) и 4%-м раствором дезоксихолата натрия (Sigma-Aldrich, США) в комбинации с 0,002 М Na₂-ЭДТА общей продолжительностью 12 ч при комнатной температуре в шейкере-инкубаторе (170 об/мин). Затем образцы инкубировали в растворе свиной панкреатической ДНКазы (Sigma-Aldrich, США; 2 000 ЕД в 200 мл фосфатного буфера) при 37 °С в течение 4 ч. Для обеспечения стерильности образцов во все рабочие среды были добавлены 1%-е растворы гентамицина и амфотерицина В. Между циклами и при каждой смене растворов образцы отмывали деионизированной водой в течение 10 мин. Для определения остаточного количества в образцах ДНК использовали спектрофотометр NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, США) и набор реагентов Dneasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Швеция). Для оценки качества децеллюляризации образцы окрашивали гематоксилином и эозином (Histolab, Швеция), а также флуорофором DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндол; Sigma-Aldrich, США).

Подкожная имплантация образцов выполнялась на самцах крыс линии Wistar массой 200–230 г в возрасте 6 мес ($n = 32$), образцы (3 × 3 мм) помещали в подкожный карман на холке. Животных разделили на контрольную и экспериментальную группы, каждая включала в себя 4 подгруппы по 4 особи. Крысам контрольной группы были имплантированы образцы нативной дермы свиньи, а экспериментальной группе – полученный нами АДМ.

В сроки 7, 14, 21 и 60 сут после проведения подкожной имплантации образцы подвергали гистологическому и иммуногистохимическому анализу. Морфологический анализ проводили на пяти независимых биопсийных фрагментах образцов, для каждого из них было выполнено и проанализировано девять срезов. Для гистологической оценки тканей выполняли окрашивание гематоксилином и эозином по Массону (БиоВитрум, Россия) согласно инструкции изготовителя. При иммуногистохимическом исследовании использовали термическую демаски-

ровку антигена и поликлональные антитела к Т-лимфоцитарному рецептору – CD3 (кат. номер ab11089, Abcam, Великобритания) и к макросиалину моноцитов и макрофагов – CD68 (кат. номер ab955, Abcam, Великобритания). Все образцы до и после имплантации исследовали с помощью микроскопа Olympus CX 41 (Olympus, Япония) при различном увеличении. Для количественной оценки патогистологических изменений использовали компьютерную морфометрию с помощью программы ImageJ (National Institution of Health, США) и плагина IHC metrics. Оценку диаметра кровеносных сосудов и коллагеновых волокон выполняли с помощью инструмента «ручное выделение». При количественном подсчете результатов иммуногистохимического исследования использовали цветовую сегментацию с выделением зеленого канала, бинаризацию по цвету и инструмент «анализатор частиц».

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с помощью программы MedCalc Statistical Software (Бельгия). Для проверки характера распределения значений в вариационных рядах использовали критерий Шапиро – Уилка. Поскольку распределение отличалось от нормального, результаты представлены в виде медианы, интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$. Достоверность различий оценивали с помощью U -критерия Манна – Уитни. Нулевая гипотеза отвергалась при значении порога доверительной вероятности $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным спектрофотометрии выявлено, что в нативной дерме свиньи количественное содержание ДНК составляет 314,4 [300,7; 333,7] нг на 1 мг ткани, а в АДМ – 60,14 [55,34; 63,58] нг на 1 мг ткани, что соответствует критериям качества децеллюляризации тканей [11]. Относительно низкое содержание остаточных нуклеиновых кислот в АДМ говорит в пользу малого иммуногенного потенциала полученной конструкции.

При визуальной оценке АДМ имел характерный молочно-белый цвет, гистологическое исследование структуры не выявило неповрежденных клеток и свечения ядерных структур при окраске DAPI (рис. 1).



Рис. 1. Этапы децеллюляризации дермы и гистологический анализ полученного АДМ: *a* – внешний вид нативной дермы свиньи, *b* – внешний вид АДМ, *c* – окраска гематоксилином и эозином, после децеллюляризации, клеточные ядра отсутствуют; ×20

На 7-е сут после имплантации в экспериментальной группе отмечалось умеренно выраженное асептическое воспаление. В клеточном инфильтрате, по данным иммуногистохимического исследования и компьютерной морфометрии, было выявлено 12,70 [12,19; 13,09] макрофагов и 1,87 [1,56; 2,04] лимфоцитов на 1 мм² площади среза, а также незначительное количество нейтрофилов. При окрашивании трихромом по Массону были хорошо заметны неповрежденные коллагеновые волокна имплантированной конструкции толщиной 12,88 [11,87; 13,60] мкм. В образцах из контрольной группы в те же сроки

наблюдалось выраженное асептическое воспаление с примесью эозинофилов в воспалительном инфильтрате, а также хорошо заметное полнокровие сосудов кожи и мышц спины. При окрашивании по Массону отмечено пропитывание имплантата кровью и инфильтрация воспалительными клетками – 9,03 [8,94; 9,16] макрофагов и 1,91 [1,84; 1,99] лимфоцитов на 1 мм² (рис. 2). Следует отметить, что количество лимфоцитов в экспериментальной группе не отличалось от контрольной группы ($p = 0,062$), а число макрофагов было статистически значимо выше ($p = 0,043$) (рис. 2, 3).

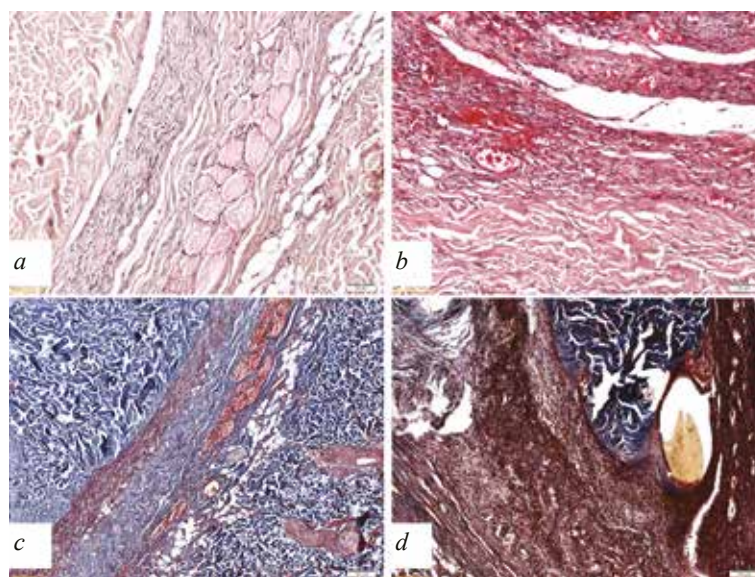


Рис. 2. Гистологическая оценка препаратов АДМ и нативной дермы свиньи после подкожной имплантации экспериментальным животным на 7-е сут: *a* – АДМ, гематоксидин и эозин, *b* – нативная дерма свиньи, гематоксидин и эозин, *c* – АДМ, трихром по Массону, *d* – нативная дерма свиньи, трихром по Массону; $\times 20$

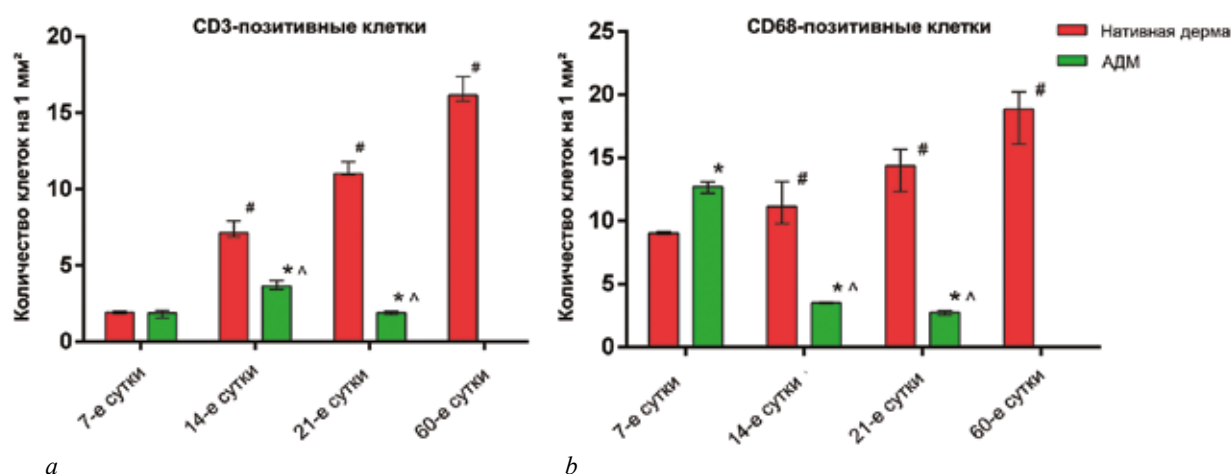


Рис. 3. Иммунофенотипирование воспалительного инфильтрата на различных сроках эксперимента: *a* – динамика содержания Т-лимфоцитов (слева), *b* – динамика содержания макрофагов (справа), $Me [Q_1; Q_3]$. * значимость отличий между контрольной и экспериментальной группой, $p < 0,05$; # значимость отличий для значений контрольной группы на разные сроки, $p < 0,05$; ^ значимость отличий для значений экспериментальной группы на разные сроки, $p < 0,05$

На 14-е сут в образцах экспериментальной группы было отмечено образование тонкой соединительнотканной капсулы вокруг имплантированной конструкции. Толщина капсулы составляла 18,17 [14,73; 20,32] мкм, в стенках были отмечены единичные макрофаги (3,50 [3,44; 3,54] CD68-позитивных клеток на 1 мм² среза по данным компьютерной морфометрии). Кнаружи от нее имелся тонкий слой грануляционной ткани. Отмечалось слабо выраженное полнокровие сосудов в месте имплантации, средний диаметр сосудов составил 30,97 [29,71; 31,82] мкм. Не выявлено деградации коллагеновых волокон АДМ и его инфильтрации воспалительными клетками. В образцах эксплантированной нативной дермы свиньи нами была отмечена картина воспаления вокруг инородного тела с преобладанием относительно большого числа макрофагов (11,13 [9,79; 13,11] CD68⁺ клеток по данным компьютерной морфометрии) по сравнению с этим показателем в экспериментальной

группе на 14-е сут ($p = 0,007$) и с контрольной группой на 7-е сут ($p = 0,033$). Вокруг имплантата сформировалась более плотная толстостенная капсула со средней толщиной 165,2 [152,90; 188,80] мкм по сравнению с экспериментальной группой ($p = 0,003$).

Коллагеновые волокна имплантата были фрагментированы, отечны, имели выраженную оксифильную реакцию среды и были пропитаны кровью с примесью нейтрофилов и макрофагов. Было выявлено значительное количество тонких полнокровных сосудов непосредственно вблизи капсулы (средний диаметр 20,81 [19,41; 21,61] мкм) (рис. 4). Кроме того, наблюдалось большее число CD3-позитивных клеток в двух группах животных относительно предыдущего срока эксплантации образцов – 3,66 [3,42; 4,01] клеток на 1 мм² для экспериментальной группы ($p = 0,039$) и 7,14 [6,87; 7,93] клеток на 1 мм² для контрольной группы ($p = 0,041$).

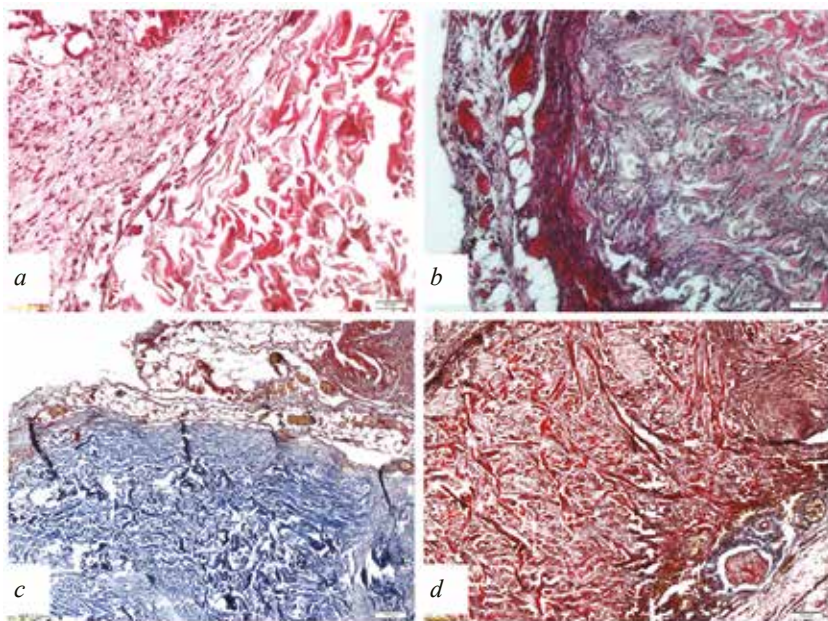


Рис. 4. Гистологическая оценка препаратов АДМ и нативной дермы свиньи после подкожной имплантации экспериментальным животным на 14-е сут: *a* – АДМ, гематоксилин и эозин, *b* – нативная дерма свиньи, гематоксилин и эозин, *c* – АДМ, трихром по Массону, *d* – нативная дерма свиньи, трихром по Массону; $\times 20$

Спустя 21 сут после имплантации АДМ в образцах толщина капсулы вокруг имплантата составляла 10,02 [9,95; 10,10] мкм и наблюдалось небольшое количество клеток воспаления: на 1 мм² среза – 2,73 [2,54; 2,89] CD68-позитивных макрофагов и 1,90 [1,76; 1,99] CD3-позитивных лимфоцитов, что было значительно ниже, чем в контрольной группе ($p = 0,012$ и $p = 0,009$ соответственно). Средний диаметр капилляров составлял 26,61 [19,48; 31,52] мкм, полнокровия кровеносных сосудов не наблюдалось. Коллагеновые волокна инкапсулированного АДМ были полностью сохранены и имели диаметр 11,67 [10,02; 14,50] мкм. Кроме того, не обнаружено скопления лейкоцитов в АДМ или пропитывания его

кровью. У животных контрольной группы в те же сроки наблюдалось формирование плотной соединительнотканной капсулы толщиной 66,53 [61,24; 7,59] мкм; были отмечены многочисленные небольшие скопления Т-лимфоцитов, CD68-позитивных макрофагов (содержание составило 14,37 [12,33; 15,65] клетки на 1 мм² среза) и клеток инородных тел. Интересно, что наряду с выраженной инкапсуляцией было отмечено появление полнокровных сосудов диаметром 23,80 [19,24; 27,76] мкм внутри образца, что свидетельствовало об активной его биodeградации. Коллагеновые волокна были набухшими и частично разрушенными – толщина их варьировала от 5 до 37 мкм. В толще имплантата при-

существовали макрофаги и Т-лимфоциты, что также подтверждало иммунное отторжение.

На 60-е сут после подкожной имплантации АДМ был окружен соединительнотканной капсулой (толщина 13,83 [12,03; 15,54] мкм), воспалительные явления полностью отсутствовали. Иммуногистохимическая реакция не выявила наличия макрофагов и Т-лимфоцитов в месте имплантации. Атрофия окружающих тканей отсутствовала, отмечался очаговый реактивный липоматоз. Коллагеновые волокна имплантата диаметром 15,06 [12,45; 15,99] мкм были полностью сохранены, явления биодеградации в нем минимальны. В образцах контрольной группы отме-

чалась значительная деградация имплантата за счет его лизиса макрофагами, а также сохраняющееся перифокальное воспаление.

Количественная оценка показала присутствие 15,79 [14,50; 17,67] Т-лимфоцитов и 18,86 [16,09; 20,22] макрофагов на 1 мм² среза ткани, что было значимо выше относительно предыдущей контрольной точки ($p = 0,008$ и $p = 0,048$ соответственно). Вокруг фрагмента нативной дермы свиньи сформировалась многослойная капсула толщиной 107,20 [91,32; 117,50] мкм, окружающие ее сосуды были полнокровны и имели диаметр 28,50 [26,32; 31,45] мкм (рис. 5).

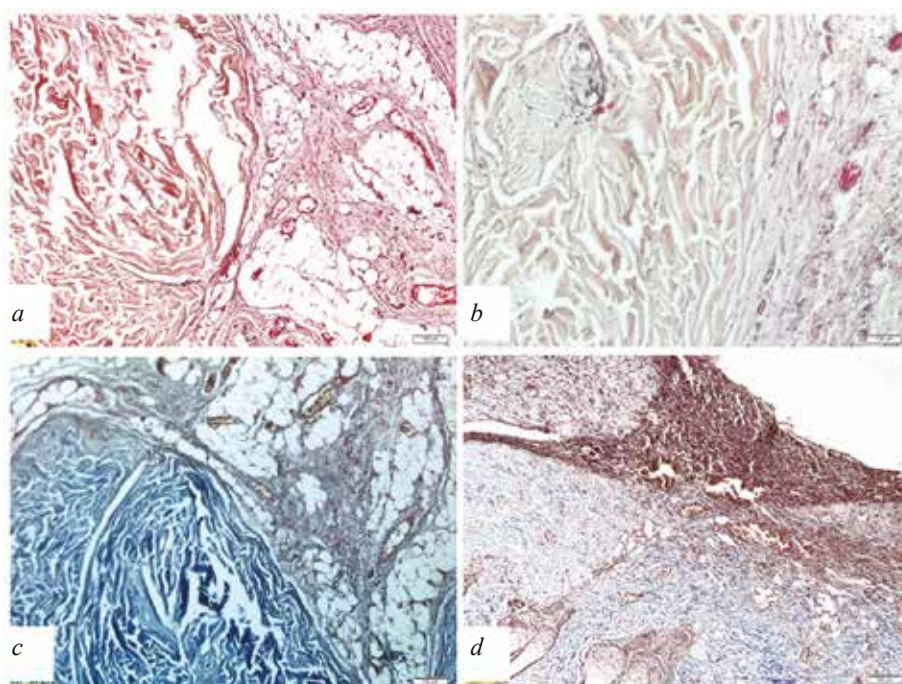


Рис. 5. Гистологическая оценка препаратов АДМ и нативной дермы свиньи после подкожной имплантации экспериментальным животным на 60-е сут: *a* – АДМ, гематоксилин и эозин, *b* – нативная дерма свиньи, гематоксилин и эозин, *c* – АДМ, трихром по Массону, *d* – нативная дерма свиньи, трихром по Массону; $\times 20$

Таким образом, результаты иммунофенотипирования воспалительного инфильтрата вокруг и непосредственно внутри имплантата на различных сроках эксперимента позволяют утверждать, что полученный АДМ, по сравнению с нативной дермой свиньи, обладает минимальной иммуногенностью. В пользу низких антигенных свойств АДМ говорит также относительно слабая воспалительная реакция и тонкая соединительнотканная капсула вокруг имплантированного фрагмента, отмеченная в срезах на поздних этапах эксперимента. При этом на всем протяжении исследования коллагеновые волокна, представляющие собой основную составляющую организованного внеклеточного матрикса дермы и обуславливающие ее механические свойства, оставались практически интактными. В то же самое время вследствие выраженного воспалительного ответа имплан-

тированная нативная дерма свиньи подверглась значительной биодеградации, о чем свидетельствовала фрагментация коллагеновых волокон, наличие полнокровных капилляров, а также плотная фиброзная капсула, окружающая имплантированный фрагмент.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что разработанный нами АДМ обладает низкой иммуногенностью и малой степенью биодеградации. Это позволяет апробировать протокол его получения и использовать данную конструкцию как отправную точку для проведения дальнейших исследований по изучению биологических и биомеханических свойств АДМ для создания полноценного хирургического материала, безопасного для применения в клинической практике.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Brouki Milan P., Pazouki A., Joghataei M.T., Mozafari M., Amini N., Kargozar S. et al. Decellularization and preservation of human skin: A platform for tissue engineering and reconstructive surgery. *Methods*. 2020;171:62–67. DOI: 10.1016/j.ymeth.2019.07.005.
2. Gholipourmalekabadi M., Bandehpour M., Mozafari M., Hashemi A., Ghanbarian H., Sameni M. et al. Decellularized human amniotic membrane: More is needed for an efficient dressing for protection of burns against antibiotic-resistant bacteria isolated from burn patients. *Burns*. 2015;41(7):1488–1497. DOI: 10.1016/j.burns.2015.04.015.
3. Nowacki M., Nowacka K., Kloskowski T., Pokrywczynska M., Tyloch D., Rasmus M. et al. Are agricultural and natural sources of bio-products important for modern regenerative medicine? A review. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2017;11;24(2):207–212. DOI: 10.5604/12321966.1235171.
4. Hsu P.W., Salgado C.J., Kent K., Finnegan M., Pello M., Simons R. et al. Evaluation of porcine dermal collagen (Permacol) used in abdominal wall reconstruction. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2009;62(11):1484–1489. DOI: 10.1016/j.bjps.2008.04.060.
5. JoAnna Nguyen T., Carey J.N., Wong A.K. Use of human acellular dermal matrix in implant-based breast reconstruction: evaluating the evidence. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2011;64(12):1553–1561. DOI: 10.1016/j.bjps.2011.02.001.
6. Shekhter A.B., Fayzullin A.L., Vukolova M.N., Rudenko T.G., Osipcheva V.D., Litvitsky P.F. Medical applications of collagen and collagen-based materials. *Cur. Med. Chem.* 2019;26(3):506–516. DOI: 10.2174/0929867325666171205170339.
7. Hartzell T.L., Taghinia A.H., Chang J., Lin S.J., Slavin S.A. The use of human acellular dermal matrix for the correction of secondary deformities after breast augmentation: results and costs. *Plast. Reconstr. Surg.* 2010;126(5):1711–1720. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181ef900c.
8. Гуменюк А.С., Ушмаров Д.И., Гуменюк С.Е., Гайворонская Т.В., Сотниченко А.С., Мелконян К.И. и др. Перспективы применения многослойных раневых покрытий на основе хитозана в стоматологической практике. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020;27(1):27–39. DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-1-27-39.
9. Lucey P., Goldberg D.J. Complications of collagen fillers. *Facial. Plast. Surg.* 2014;30(6):615–622. DOI: 10.1055/s-0034-1396904.
10. Liu Y., Bharadwaj S., Lee S., Atala A., Zhang Y. Optimization of a natural collagen scaffold to aid cell-matrix penetration for urologic tissue engineering. *Biomaterials*. 2009;30(23–24):3865–3873. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.04.008.
11. Crapo P.M., Gilbert T.W., Badylak S.F. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials*. 2011;32(12):3233–3243. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.057.

Вклад авторов

Мелконян К.И., Русинова Т.В. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Вережкин А.А., Сотниченко А.С. – выполнение экспериментальной части исследования, анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Козмай Я.А., Асякина А.С., Карташевская М.И. – обзор публикаций по теме статьи, анализ и интерпретация данных. Гуревич К.Г., Быков И.М. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Мелконян Карина Игоревна – канд. мед. наук, доцент, зав. ЦНИЛ, КубГМУ, г. Краснодар, kimelkonian@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2451-6813>

Вережкин Александр Александрович – науч. сотрудник, лаборатория фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, КубГМУ, г. Краснодар, vilehand@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4159-2618>

Сотниченко Александр Сергеевич – канд. мед. наук, зав. лабораторией фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, КубГМУ, г. Краснодар, alex24.88@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7322-0459>

Русинова Татьяна Викторовна – канд. биол. наук, науч. сотрудник, ЦНИЛ, КубГМУ, г. Краснодар, rusinova.tv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2962-3212>

Козмай Яна Андреевна – мл. науч. сотрудник, лаборатория фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, КубГМУ, г. Краснодар, yana.kozmay@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5043-4315>

Асякина Алевтина Сергеевна – лаборант-исследователь, лаборатория фундаментальных исследований в области регенеративной медицины, КубГМУ, г. Краснодар, alevtina.asyakina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5596-7783>

Карташевская Марина Игоревна – канд. мед. наук, ассистент, кафедра дерматовенерологии, КубГМУ, г. Краснодар, marinaika@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9060-2969>

Гуревич Константин Георгиевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой ЮНЕСКО «Здоровый образ жизни – залог успешного развития», МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, kgurevich@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7603-6064>

Быков Илья Михайлович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии, КубГМУ, г. Краснодар, ilya.bh@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1787-0040>

(✉) Мелконян Карина Игоревна, kimelkonian@gmail.com

Поступила в редакцию 19.04.2021;
одобрена после рецензирования 20.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.895.1-072.8-053.6

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-105-114>

Применение скрининговых методик для ранней диагностики риска биполярного аффективного расстройства у подростков

Осипова Н.Н.¹, Барденштейн Л.М.¹, Лямец Л.Л.², Дмитриева Е.В.²

¹Московский государственный медико-стоматологический университет (МГМСУ) им. А.И. Евдокимова
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20/1

²Смоленский государственный медицинский университет (СГМУ)
Россия, 214019, г. Смоленск, ул. Крупской, 28

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение возможности комплексного применения скрининговых методик в ранней диагностике риска биполярного расстройства (БР) у подростков.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 139 подростков в возрасте 13–16 лет. Были использованы клиничко-психопатологический метод и скрининговые методы исследования: диагностическая шкала расстройств биполярного спектра (Bipolar Spectrum Diagnostic Scale, *BSDS*, R. Pies, 2005); вопросник расстройства настроения (Mood Disorder Questionnaire *MDQ*, R.M. Hirschfeld, 2000).

Результаты. При клиничко-психопатологическом исследовании подростков в соответствии с критериями МКБ-10 (класс V: психические расстройства и расстройства поведения (F00-F99)) психические расстройства, в том числе аффективная патология, не выявлены. По результатам скрининговой методики *MDQ* показан риск БР у 63 респондентов (45,3%; 95-й доверительный интервал (ДИ): 36,8–53,9). С помощью методики *BSDS* риск БР отмечен у 16,2% респондентов (ДИ: 11,9–28,3). Совместное использование скрининговых шкал (*MDQ* и *BSDS*) продемонстрировало согласованность их работы по выявлению значений, как не превышающих пороговые (48,7% случаев), так и превышающих пороговые показатели (17,1% случаев).

Заключение. Ранняя диагностика риска БР у подростков наряду с клиничко-психопатологическим методом может включать использование скрининговых шкал. Комплексное использование нескольких скрининговых методов обосновано проблемой полиморфизма начальных гипоманиакальных и депрессивных состояний, а также трудностями субъективной оценки симптомов биполярного аффективного расстройства подростками.

Ключевые слова: подростки, биполярное аффективное расстройство, гипомания, скрининговые методы

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Информированное согласие подписано родителями подростков по соответствующей форме. Исследование одобрено этическим комитетом СГМУ (протокол № 3 от 02.12.2018).

Для цитирования: Осипова Н.Н., Барденштейн Л.М., Лямец Л.Л., Дмитриева Е.В. Применение скрининговых методик для ранней диагностики риска биполярного аффективного расстройства у подростков. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):105–114. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-105-114>.

✉ Осипова Наталья Николаевна, natinen@yandex.ru

Application of screening techniques for early diagnostics of bipolar disorder and application of screening techniques for early diagnosis of a risk of bipolar disorder in adolescents

Osipova N.N.¹, Bardenshteyn L.M.¹, Lyamets L.L.², Dmitrieva E.V.²

¹A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry
20/1, Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russian Federation

²Smolensk State Medical University
28, Krupskoy Str., 214019, Smolensk, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the possibility of combined application of screening methods for early detection of risks of bipolar disorder in adolescents.

Materials and methods. The study included 139 adolescents aged 13–16 years. A clinical psychopathology assessment as well as screening methods were used. The screening methods included the Bipolar Spectrum Diagnostic Scale ((BSDS), R. Pies, 2005) and the Mood Disorder Questionnaire ((MDQ), R.M. Hirschfeld, 2000).

Results. The clinical psychopathology assessment was performed in accordance with criteria of ICD-10, Class V. No mental and behavioral disorders (F00-F99), including affective pathology, were identified. Following the MDQ screening, the risk of bipolar disorder was revealed in 63 individuals (45.3%; 95 % confidence interval (CI): (36.8–53.9)). When the BSDS method was used, the risk of bipolar disorder was revealed in 16.2% of cases (CI: (11.9–28.3)). The combined use of the screening scales (MDQ and BSDS) confirmed their consistency in detecting values both not exceeding (48.7% of the cases) and exceeding the threshold rates (17.1% of the cases).

Conclusion. Early diagnosis of a risk of bipolar disorder in adolescents, along with a clinical psychopathology assessment, may include application of screening scales. Combined use of several screening methods is justified by polymorphism of initial hypomanic and depressive states, as well as by difficulties in subjective assessment of symptoms of bipolar disorder in adolescents.

Keywords: adolescents, bipolar disorder, hypomania, screening methods

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. Parents of adolescents signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Smolensk State Medical University (Protocol No. 3 of 02.12.2018).

For citation: Osipova N.N., Bardenshteyn L.M., Lyamets L.L., Dmitrieva E.V. Application of screening techniques for early diagnostics of bipolar disorder and application of screening techniques for early diagnosis of a risk of bipolar disorder in adolescents. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):105–114. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-105-114>.

ВВЕДЕНИЕ

Биполярное расстройство (БР) — хроническое, практически пожизненное заболевание, включающее в себя не только эпизоды нарушений настроения (субдепрессии, депрессии, гипомании, мании, смешанные состояния), но и широкий спектр коморбидной патологии, снижение нейрокогнитивных функций, значительное ухудшение социального функционирования [1].

БР является одной из ведущих причин инвалидизации населения, связано с высокими показателями

преждевременной смертности, как от самоубийств [2], так и сопутствующих заболеваний [3, 4]. Среди пациентов с БР, особенно при смешанных и психотических состояниях, риск суицидального поведения является одним из самых высоких среди всех психических расстройств, особенно в подростковом возрасте [5].

Биполярное расстройство характеризуется высокой степенью распространенности в общей популяции (0,6–5,84%), а с учетом субсиндромальных проявлений достигает 12% [6]. Проблема изучения БР, манифестирующего в подростковом возрасте, пред-

ставляется актуальной в свете увеличения удельного веса этой патологии в пубертатном периоде [7, 8].

Важным аспектом данной проблемы является трудность диагностики, во многом связанная с атипичностью клинической картины субдепрессивных, депрессивных, гипоманиакальных, маниакальных и смешанных эпизодов, дебютирующих в подростковом возрасте, ее полиморфностью и синдромальной незавершенностью, обусловленной особенностями формирующейся подростковой психики [9]. Это приводит к тому, что значительная часть подростков (до 70–80%) страдающих БР, не получает своевременного адекватного лечения или совсем не попадает в поле зрения психотерапевта, психиатра [10].

Депрессия является частым клиническим проявлением большинства психических заболеваний в пубертатном возрасте, особенно на их инициальной стадии, что, видимо, обусловлено превалированием на данном этапе онтогенеза эмоционально-идеаторного уровня реагирования [11, 12].

Гипоманиакальные состояния часто предшествуют БР в подростковом возрасте [13]. Существенной проблемой является дифференцирование гипертимного типа акцентуации характера, как крайнего варианта нормы, и гипоманиакальных состояний при БР. Кроме того, подростковые поведенческие особенности, составляющие пубертатный кризис развития (реакция эмансипации, оппозиции, группирования со сверстниками и др.) [12], часто связаны с началом злоупотребления психоактивными веществами, что может не исключать ранние симптомы гипомании [13, 14].

Гипомания представляет значительные проблемы в процессе диагностики БР II типа. Гипоманиакальные состояния трудно распознаются как самими пациентами, так и их родственниками, большинство пациентов не считают такие состояния болезненными и, соответственно, не обращаются за медицинской помощью [15]. Особенно это касается подростков, которым может нравиться состояние повышенного настроения, подъема энергии. Они могут усиливать подобное состояние приемом психоактивных веществ с последующим рискованным поведением [16].

Раздражительность, как один из диагностических критериев расстройств настроения (гипомании, мании, субдепрессии, депрессии), также достаточно часто встречается в препубертатном и пубертатном периодах. Раздражительность нередко сопровождается различными формами агрессивного поведения у подростков и требует тщательной дифференциально-диагностической оценки. В исследовании F. Benazzi, H. Akiskal (2004) раздражительность чаще

выявлялась при биполярном расстройстве II типа. Биполярная депрессия с раздражительностью имела более раннее начало, высокие показатели коморбидности, а также наследственную отягощенность по биполярному расстройству [17].

Подходы к диагностике гипомании, как одного из критериев биполярного аффективного расстройства II типа, в международных диагностических системах на протяжении десятилетий претерпевали изменения. Это касалось как продолжительности гипоманиакального эпизода, так и количества симптомов, которым он должен соответствовать. В проекте ICD-11 имеются изменения, касающиеся диагностики гипоманиакального эпизода [18–20].

J. Angst и соавт. (2020) провели сравнительный анализ диагностических критериев биполярного расстройства с использованием DSM-V (APA, 2013), проекта ICD-11. Они отметили, что в отличие от DSM-IV-TR и МКБ-10, в DSM-V и проекте ICD-11 в основных критериях диагностики гипоманиакального эпизода, помимо изменения настроения (эйфория, раздражительность), делается акцент на возрастающую активность, прилив сил, субъективное ощущение подъема энергии, что, по мнению авторов, является существенным для описания более полной и точной клинической картины расстройства. В DSM-V число дополнительных симптомов для диагностики гипомании ограничивается тремя и более при повышении настроения и четырьмя и более при раздражительности; в проекте ICD-11 достаточно «несколько» дополнительных симптомов для постановки диагноза. Различия касаются и длительности эпизода гипомании: в DSM-V симптомы должны присутствовать в течение, по крайней мере, 4 дней; в проекте ICD-11 такие ограничения отсутствуют, и имеются указания на период в «несколько дней».

Также J. Angst и соавт. (2020) отмечают, что диагностические критерии гипоманиакального эпизода в проекте ICD-11 позволят выявлять его в 2 раза чаще, чем при использовании DSM-V. Проблемой, требующей дальнейшего изучения, является не всегда субъективно нежелательные для больного социально-психологические последствия гипомании (повышение работоспособности, ускорение ассоциативных процессов, сокращение продолжительности ночного сна, усиление креативных способностей). Авторы указывают, что для более точной диагностики необходимо учитывать факты амбулаторного обращения за медицинской помощью, которые могут быть связаны в большей степени с негативными последствиями гипоманиакального эпизода и позволят максимально объективизировать психическое состояние пациента [21].

Исследователи указывают, что средний возраст дебюта биполярного аффективного расстройства варьирует от 20 до 30 лет. Некоторые авторы отмечают два пика дебюта БР: 15–24 и 45–54 лет. Имеются указания и на более раннее (до 12 лет) начало заболевания, связанное, в том числе, с воздействием психотравмирующей ситуации [22]. Отдельные симптомы БР в виде циклотимоподобных колебаний настроения могут обнаруживаться в подростковом возрасте и представляют собой риск перехода в биполярное расстройство [23, 24].

Исследователями также обсуждается диагноз препубертатного биполярного расстройства (prepubertal bipolar disorder, PPBD) [25]. Однако клинические проявления основных симптомов БР в детском возрасте существенно отличаются от таковых у взрослых, а в некоторых случаях не имеют сходных эквивалентов. Труднодиагностируемые смешанные состояния, распространенные у взрослых, также могут встречаться в детском и подростковом возрастах, что еще больше осложняет раннюю диагностику аффективной патологии в эти возрастные периоды [26].

При дебюте биполярного расстройства в детском возрасте наблюдается не только более неблагоприятное течение болезни по сравнению с началом заболевания у взрослых (большее количество эпизодов, употребление психоактивных веществ и инвалидность), но и более длительная задержка начала лечения. В исследовании J.S. Kroon и соавт. (2013) установлено, что первый эпизод БР, перенесенный в возрасте от 15 до 24 лет, в последующем способствует более тяжелому течению болезни у пациентов 45–54 лет [27].

Биполярное аффективное расстройство у подростков часто осложняется коморбидными психическими и соматическими расстройствами, которые значительно повышают риск суицидального поведения. В первую очередь это касается злоупотребления психоактивными веществами. По данным М.Н. Swahn и соавт. (2007), раннее начало употребления алкоголя (особенно в препубертатном периоде) статистически значимо повышает риск возникновения суицидальных мыслей и может провоцировать суицидальные попытки как у юношей, так и у девушек [28].

Большое значение исследователи уделяют выявлению продромальных симптомов, которые предшествуют началу заболевания. По данным исследования G.A. Fava и соавт. (2007), у большинства пациентов до появления клинически очерченных синдромов присутствовали такие признаки, как трудности при засыпании, раздражительность, тревожность [29]. A.R. Van Meter и соавт. (2016) отмечают, что более

чем у половины респондентов перед началом маниакального эпизода выявили симптом в виде значительного повышения энергии [30]. Имеются указания, что расстройства поведения, агрессивность и импульсивность в подростковом возрасте также предшествуют биполярному расстройству [31].

Для диагностики биполярного расстройства, и особенно для своевременного выявления гипоманиакальных эпизодов, наряду с основным клинико-психопатологическим методом широко используются скрининговые инструменты. В их числе Вопросник расстройств настроения (Mood Disorder Questionnaire (MDQ)), разработанный в 2000 г. группой специалистов под руководством R.M. Hirschfeld [32], Диагностическая шкала расстройств биполярного спектра (Bipolar Spectrum Diagnostic Scale), разработанная R. Pies и усовершенствованная исследователями под руководством S.N. Ghaemi в 2005 г. [33], Диагностический опросник по Биполярному расстройству (Hypomania Checklist (HCL-32)) [34], предложенный J. Angst с соавт. в 2005 г. и валидизированный в России С.Н. Мосоловым и соавт. [35]. Указанные скрининговые методы используются как в клинических, так и неклинических выборках.

Так, в исследованиях гипомании в неклинической выборке подростков с использованием HCL-32 была показана связь гипомании с нарушениями сна и личностными особенностями, что подтверждает обоснованность использования данного скринингового метода как инструмента для выявления подростков, имеющих риск развития БР [36]. А. Päären и соавт. (2012), изучая подростков ($n = 2\,300$) с положительным скринингом по гипомании, при повторном исследовании через 15 лет обнаружили гипоманиакальные эпизоды в 3–6% случаев [37].

По мнению многих исследователей, использование скрининговых методик в неклинических выборках для выявления риска БР вызывает много трудностей, поскольку показатели чувствительности и специфичности варьируют в широких пределах. Субъективная оценка эмоционального состояния (гипомании) у подростков также затруднена. Кроме того, дебют БР отличается высокой степенью полиморфизма, что в целом вносит дополнительные сложности в диагностику заболевания на ранних этапах [38].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью настоящего исследования было изучение диагностических возможностей совместного применения скрининговых шкал Mood Disorder Questionnaire (MDQ) и Диагностической шкалы расстройств биполярного спектра (Bipolar Spectrum

Diagnostic Scale) для выявления риска биполярного расстройства на неклинической выборке подростков.

В исследовании приняли участие 139 подростков, обучающихся в школе-гимназии Смоленской области по программам Федерального государственного образовательного стандарта среднего (полного) общего образования, из них 57 (41,1%) юношей и 82 (58,9%) девушки. Средний возраст составил $14,61 \pm 0,09$ лет ($min = 13$; $max = 16$). Участники исследования сопоставимы по возрасту и социально-образовательному статусу. Достоверных различий по полу не выявлено ($p > 0,05$).

Информированное согласие подписано родителями подростков по соответствующей форме. Исследование проводилось в группах по 15–20 человек. Предварительно была дана установка для возможности задавать уточняющие вопросы у присутствующего во время исследования врача-психиатра. В большинстве случаев вопросы по заполнению опросника у подростков не возникали. Заполнение бумажной формы скрининговых опросников занимало в среднем 30 мин.

В работе были использованы клинико-психопатологический метод и скрининговые методы: диагностическая шкала расстройств биполярного спектра (Bipolar Spectrum Diagnostic Scale; R. Pies, 2005) [33]; вопросник расстройства настроения (Mood Disorder Questionnaire (MDQ); R.M. Hirschfeld, 2000) [32].

Статистическая обработка данных включала методы описательной статистики. Построение 95%-го доверительного интервала (ДИ) проводилось по формуле для долей и частот методом Вальда, для малых значений – методом Вальда с коррекцией по Агрести – Коуллу. Достоверность различия изучаемых признаков оценивалась с помощью критериев Пирсона (χ^2) и углового преобразования Фишера. Статистическая значимость признавалась при вероятности $> 95\%$ ($p < 0,05$). Связь признаков оценивали по коэффициенту ранговой корреляции Спирмана. Статистический анализ результатов выполнен в Microsoft Excel 16 с использованием надстроек «Анализ данных», AtteStat и статистического пакета R.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При клинико-психопатологическом исследовании подростков в соответствии с критериями МКБ-10 (класс V: психические расстройства и расстройства поведения (F00-F99)) психические расстройства, в том числе аффективная патология, не выявлены.

Следующим этапом исследования было изучение риска развития БР с использованием методики Mood Disorder Questionnaire (MDQ). В нем приняли участие 139 подростков. Вопросник расстройств

настроения MDQ состоит из трех разделов: первый включает 13 вопросов, отражающих симптомы мании (гипомании), во втором регистрируется одномоментность присутствия одного и более симптомов, в третьем – степень нарушения привычной деятельности вследствие присутствия симптомов. Среднее значение положительных ответов респондентов в баллах по данной выборке – $7,14 \pm 0,26$ ($min = 1$; $max = 15$). Указанные значения не превышают скрининговый порог 7 баллов [20]. Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты распределения положительных ответов респондентов по шкале MDQ, $n = 139$		
Распределение положительных ответов по шкале MDQ, баллы	Количество респондентов, давших положительный ответ, n (%)	95%-й ДИ
15	1 (0,72)	0,13–3,96
14	2 (1,44)	0,4–5,1
13	3 (2,16)	0,74–6,16
12	3 (2,16)	0,74–6,16
11	12 (8,63)	3,96–13,30
10	12 (8,63)	3,96–13,30
9	14 (10,07)	5,07–15,08
8	16 (11,51)	6,21–16,82
7	16 (11,51)	6,21–16,82
6	16 (11,51)	6,21–16,82
5	16 (11,51)	6,21–16,82
4	9 (6,47)	2,38–10,57
3	10 (7,19)	2,90–11,49
2	6 (4,32)	0,94–7,70
1	3 (2,16)	0,74–6,16

Примечание. 95%-й ДИ относительного показателя частоты положительного ответа, $p < 0,05$ (здесь и в табл. 2).

Для выявления доли респондентов с повышенным уровнем скрининговых значений проведена группировка по скрининговому порогу. Респонденты были разделены на две группы. В первую группу вошли респонденты в количестве 76 человек, что составляет 54,7% (95%-й ДИ: 46,1–63,1), набравшие 7 и менее баллов (не превышающие скрининговый порог); во вторую группу – респонденты в количестве 63 человек, что составляет 45,3% (95%-й ДИ: 36,8–53,9), набравшие более 7 баллов (превышающие скрининговый порог).

Значимых различий между группами не выявлено $\phi^2_{эмп} = 1,329$ ($p > 0,05$), т.е. доля респондентов со значениями, не превышающими скрининговый порог, значимо не отличается от доли респондентов с превышением скринингового порога, в исследуемой социальной среде респонденты обеих групп встречаются равновероятно.

Следующим этапом исследования было изучение возможностей использования скрининговой методики Bipolar Spectrum Diagnostic Scale (BSDS) для выявления риска развития БР. В исследовании приняли участие 99 подростков из 139 общей выборочной совокупности в возрасте 13–16 лет.

Шкала диагностики биполярного спектра BSDS представляет собой методику, которая наряду с проявлениями депрессии учитывает симптомы гипомании (мании). Соглашение респондента с каким-либо утверждением из предлагаемых оценивается в 1 балл. Суммарный балл BSDS может располагаться в диапазоне 0–25. Оценка вероятности биполярного расстройства оценивается по сумме баллов: 20 баллов и более – расстройство биполярного спектра очень вероятно, 13–19 баллов – умеренная вероятность нарушений биполярного спектра, 7–11 баллов – низкая вероятность расстройств биполярного спектра, менее 7 баллов – БР маловероятно. Скрининговый порог – 13 баллов.

Среднее значение положительных ответов респондентов в баллах на данной выборке $8,93 \pm 0,39$ ($min = 1$; $max = 20$), что ниже скринингового порога (13 баллов). Результаты исследования представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты распределения суммарных баллов положительных ответов респондентов по шкале BSDS, $n = 99$		
Сумма положительных ответов по шкале MDQ, баллы	Количество респондентов, давших положительный ответ, n (%)	95% -й ДИ
20 и выше	1 (1,01)	0,18–5,5
13–19	28 (28,28)	20,35–37,83
7–11	50 (50,51)	40,83–60,15
Менее 7	20 (20,20)	13,47–29,15

Из табл. 2 видно, что у респондентов преобладает низкая (50,51%) и умеренная (28,28%) склонность

к биполярному расстройству. Для выявления доли респондентов с повышенным уровнем скрининговых значений (13 и более баллов) проведена группировка по скрининговому порогу. Респонденты были разделены на две группы. В первую группу вошли респонденты в количестве 83 человек, что составляет 83,8% (95%-й ДИ: 75,1–90,5), набравшие менее 13 баллов (не превышающие скрининговый порог); во вторую группу – респонденты в количестве 16 человек, что составляет 16,2% (95%-й ДИ: 11,9–28,3), набравшие 13 и более баллов (превышающие скрининговый порог).

При сравнении двух групп выявлены достоверные различия $\phi^*_{эмп} = 10,501$ ($p < 0,05$), т.е. доля респондентов со значениями, не превышающими скрининговый порог, значительно отличается от доли респондентов с превышением скринингового порога. В данной выборке преобладают респонденты со значениями, не превышающими скрининговый порог (менее 13 баллов), соответственно, не имеющие риска развития биполярного аффективного расстройства.

Следующим этапом исследования для изучения одновременного (совместного) применения скрининговых шкал MDQ и BSDS был проведен сравнительный анализ. В результате методика MDQ в большей степени, чем BSDS выявила склонность к БР в неклинической выборке подростков $\phi^*_{эмп} = 6,36$ ($p < 0,05$) (рис. 1). Среднее значение по методике MDQ приближается к скрининговому пороговому значению 7 баллов ($7,14 \pm 0,26$ $min = 1$; $max = 15$)), а среднее значение по шкале BSDS ($8,93 \pm 0,39$ ($min = 1$; $max = 20$)) ниже скринингового порогового значения 13 баллов. Полученные результаты могут свидетельствовать о трудностях оценки своего эмоционального состояния подростками, что обосновывает комплексный подход в диагностике склонности к аффективной патологии.

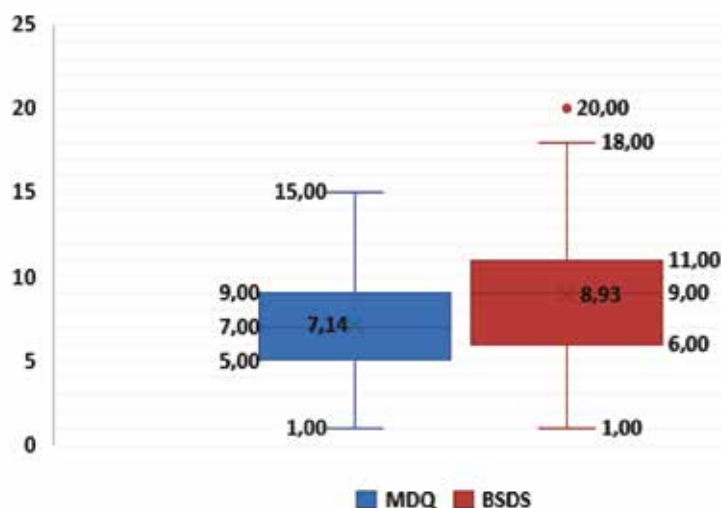


Рис. 1. Распределение средних значений по шкалам BSDS и MDQ

Далее был проведен корреляционный анализ результатов обследования респондентов по шкалам BSDS и MDQ. Выявлена прямая заметная и положительная связь ($r = 0,55$; $p < 0,05$), что говорит о возможности совместного применения данных скрининговых шкал (рис. 2).

Для оценки изучения возможности совместного (одновременного) применения скрининговых шкал MDQ и BSDS использовался критерий Пирсона. При анализе статистической связи между показателями

шкал MDQ и BSDS (выше (ниже) скринингового значения для обеих шкал) $\chi^2 = 12,6$, что указывает на высокую степень ее статистической значимости ($p = 0,0004$). Одновременная (совместная) работа скрининговых методик в группах с превышением скринингового порога выявлена в 17,1% случаев. В группах респондентов, где скрининговые значения по обеим шкалам не превышали пороговые значения, совместная работа методик выявлена в 48,7% случаев.

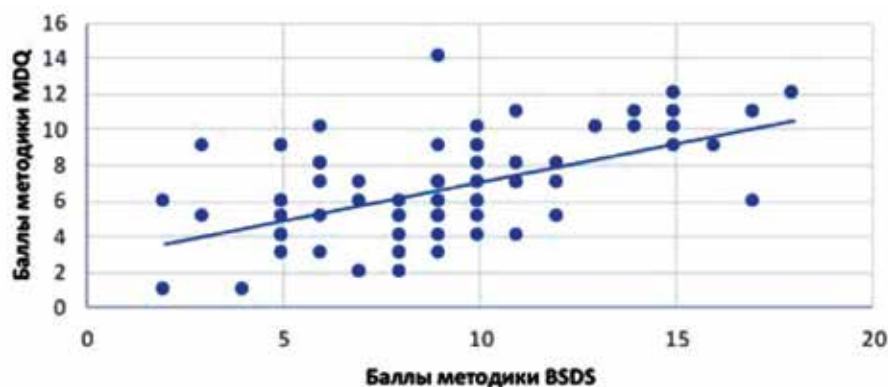


Рис. 2. Исследование корреляционной связи между методиками MDQ и BSDS

Полученные данные могут свидетельствовать об эффективности комплексного исследования в неклинических выборках. В настоящем исследовании совместное использование двух скрининговых шкал – MDQ и BSDS показало риск развития аффективных расстройств у 17% респондентов. Вместе с тем с применением указанных методик по отдельности получены противоречивые результаты: по данным MDQ, склонность к аффективной патологии выявлена у 45,3% респондентов, между тем, по данным шкалы BSDS, превышение скринингового порога отмечено лишь у 16,2% респондентов неклинической выборки.

Полученные данные согласуются с результатами исследований, изучающих возможности использования скрининговых шкал в общей популяции. Учеными обсуждается значительный разброс в показателях чувствительности и специфичности скрининговых методов в неклинических выборках. R.M. Hirschfeld и соавт. (2003) при изучении валидности MDQ для применения в общей популяции, выявили, что чувствительность метода составила 28,1%, а специфичность – 97,2%, что существенно ограничивает его использование [39].

При изучении возможностей использования методики BSDS в амбулаторной психиатрической практике показана большая чувствительность в отношении исключения диагноза биполярного рас-

стройства. Вместе с тем некоторыми специалистами шкала BSDS оценивается как полезный скрининговый инструмент для выявления субклинических проявлений гипомании [40]. С целью оптимизации скрининга биполярного расстройства, по мнению многих исследователей, может быть рекомендовано сочетанное использование нескольких диагностических опросников. Было отмечено повышение эффективности скрининга БР при совместном использовании MDQ и HCL-32, BSDS и HCL-32, а также BSDS и MDQ [41, 42].

Таким образом, настоящий анализ показал, что совместное использование двух скрининговых шкал в сочетании с клинико-психопатологическим исследованием может способствовать получению более достоверных результатов при выявлении расстройств настроения в неклинических выборках подростков и минимизировать проблему гипер- и гиподиагностики субдепрессивных и гипоманиакальных состояний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При клинико-психопатологическом исследовании подростков в соответствии с критериями МКБ-10, класс V (психические расстройства и расстройства поведения (F00-F99)) психические расстройства, в том числе аффективная патология, не выявлены. На основании полученных результатов

можно предположить, что скрининговые методики MDQ и BSDS в данном исследовании могут работать согласованно, как по выявлению респондентов со значениями, не превышающими скрининговый порог, так и респондентов с превышением скринингового порога. В частности, согласованность измерений работы методик по выявлению значений, не превышающих скрининговый порог, подтверждается в 48,7% случаев, что свидетельствует об отсутствии риска биполярного аффективного расстройства у исследуемого контингента здоровых подростков. Согласованность измерений двух методик по выявлению превышения скринингового порога в 17,1% случаев соответствует риску развития биполярного аффективного расстройства у данного контингента респондентов.

Выявление риска биполярного расстройства у подростков представляет большие трудности ввиду существенного полиморфизма как продромальных, так и начальных проявлений биполярного расстройства. Подростковый возраст, характеризующийся сложными нейроэндокринными перестройками организма, также вносит определенные коррективы в инициальные проявления БР. Свойственные подростковому возрасту психологические особенности (реакции эмансипации, оппозиции, активного и пассивного протеста; заострение характерологических черт и др.), могут выступать как в качестве психологических феноменов, так и психопатологических симптомов и требуют тщательной дифференциальной диагностики.

Ранняя диагностика риска биполярного расстройства у подростков, наряду с клинико-психопатологическим методом, может включать использование скрининговых шкал. Комплексное использование нескольких скрининговых методов обосновано проблемой полиморфизма начальных гипоманиакальных и депрессивных состояний, а также трудностями субъективной оценки симптомов биполярного аффективного расстройства подростками. Дальнейшее изучение возможностей ранней диагностики риска биполярного аффективного расстройства требует комплексного подхода с использованием основного клинико-психопатологического метода и применения дополнительных скрининговых психометрических шкал, тщательной оценки анамнестических сведений и последующего клинико-динамического наблюдения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Baldessarini R.J., Tondo L., Vázquez G.H. Pharmacological treatment of adult bipolar disorder. *Mol. Psychiatry*. 2019;24(2):198–217. DOI: 10.1038/s41380-018-0044-2.
2. Hayes J.F., Miles J., Walters K., King M., Osborn D.P.J. A systematic review and meta-analysis of premature mortality in bipolar affective disorder. *Acta Psychiatr. Scand.* 2015;131(6):417–425. DOI: 10.1111/acps.12408.
3. Ösby U., Westman J., Hällgren J., Gissler M. Mortality trends in cardiovascular causes in schizophrenia, bipolar and unipolar mood disorder in Sweden 1987–2010. *Eur. J. Public. Health*. 2016;26(5):867–871. DOI: 10.1093/eurpub/ckv245.
4. Dickerson F., Origoni A., Schroeder J., Adamos M., Katsafanas E., Khushalani S. et al. Natural cause mortality in persons with serious mental illness. *Acta Psychiatr. Scand.* 2018;137(5):371–379. DOI: 10.1111/acps.12880.
5. Chen T.Y., Kamali M., Chu C.S., Yeh C.B., Huang S.Y., Mao W.C. et al. Divalproex and its effect on suicide risk in bipolar disorder: A systematic review and meta-analysis of multinational observational studies. *J. Affect. Disord.* 2019;245:812–818. DOI: 10.1016/j.jad.2018.11.093.
6. Yildiz A. The bipolar book. History, neurobiology, and treatment. New York: Oxford University Press, 2015:710.
7. Vieira D.C., de Azevedo Cardoso T., Mondin T.C., Jansen K., da Silva R.A., de Mattos Souza L.D. et al. Mood disorders and prospective suicidality in young adults: a population-based cohort study. *Acta Psychiatr. Scand.* 2018;137(2):109–115. DOI: 10.1111/acps.12846.
8. Van Meter A., Moreira A.L.R., Youngstrom E. Updated Meta-analysis of epidemiologic studies of pediatric bipolar disorder. *J. Clin. Psychiatry*. 2019;80(3):18r12180. DOI: 10.4088/JCP.18r12180.
9. Crockett M.A., Martínez V., Jiménez-Molina Á. Subthreshold depression in adolescence: Gender differences in prevalence, clinical features, and associated factors. *J. Affect. Disord.* 2020;272:269–276. DOI: 10.1016/j.jad.2020.03.111.
10. Post R.M., Altshuler L.L., Kupka R., McElroy S.L., Frye M.A., Rowe M. et al. Verbal abuse, like physical and sexual abuse, in childhood is associated with an earlier onset and more difficult course of bipolar disorder. *Bipolar. Disord.* 2015;17(3):323–330. DOI: 10.1111/bdi.12268.
11. Ковалев В.В. Психиатрия детского возраста: руководство для врачей. М.: Медицина, 1979:608.
12. Личко А.Е. Психопатии и акцентуации характера у подростков. Л.: Медицина, 1983:255.
13. Axelson D., Goldstein B., Goldstein T., Monk K., Yu H., Hickey M.B. et al. Diagnostic Precursors to Bipolar Disorder in Offspring of Parents with Bipolar Disorder: A Longitudinal Study. *Am. J. Psychiatry*. 2015;172(7):638–646. DOI: 10.1176/appi.ajp.2014.14010035.
14. Birmaher B., Merranko J.A., Goldstein T.R., Gill M.K., Goldstein B.I., Hower H., Yen S. et al. A risk calculator to predict the individual risk of conversion from subthreshold bipolar symptoms to bipolar disorder I or II in Youth. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry*. 2018;57(10):755–763.e4. DOI: 10.1016/j.jaac.2018.05.023.
15. Päären A., von Knorring A.L., Olsson G., von Knorring L., Bohman H., Jonsson U. Hypomania spectrum disorders from adolescence to adulthood: a 15-year follow-up of a community sample. *J. Affect. Disord.* 2013;145(2):190–199. DOI: 10.1016/j.jad.2012.07.031.
16. Post R.M., Kalivas P. Bipolar disorder and substance misuse: pathological and therapeutic implications of their comorbidity

- and cross-sensitisation. *Br. J. Psychiatry*. 2013;202(3):172–176. DOI: 10.1192/bjp.bp.112.116855.
17. Benazzi F., Akiskal H. Irritable-hostile depression: further validation as a bipolar depressive mixed state. *J. Affect. Disord.* 2005;84(2-3):197–207. DOI: 10.1016/j.jad.2004.07.006.
 18. Fredskild M.U., Mintz J., Frye M.A., McElroy S.L., Nolen W.A., Kupka R. et al. Adding Increased Energy or Activity to Criterion (A) of the DSM-5 Definition of Hypomania and Mania: Effect on the Diagnoses of 907 Patients From the Bipolar Collaborative Network. *J. Clin. Psychiatry*. 2019;80(6):19m12834. DOI: 10.4088/JCP.19m12834.
 19. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5™; 5th ed. Arlington: American Psychiatric Association, 2013.
 20. Reed G.M., First M.B., Kogan C.S., Hyman S.E., Gureje O., Gaebel W. et al. Innovations and changes in the ICD-11 classification of mental, behavioural and neurodevelopmental disorders. *World Psychiatry*. 2019;18(1):3–19. DOI: 10.1002/wps.20611.
 21. Angst J., Ajdacic-Gross V., Rössler W. Bipolar disorders in ICD-11: current status and strengths. *Int. J. Bipolar. Disord.* 2020;8(1):3. DOI: 10.1186/s40345-019-0165-9.
 22. Goodday S., Levy A., Flowerdew G., Horrocks J., Grof P., Ellenbogen M. et al. Early exposure to parental bipolar disorder and risk of mood disorder: the Flourish Canadian prospective offspring cohort study. *Early Interv. Psychiatry*. 2015;12(2):160–168. DOI: 10.1111/eip.12291.
 23. Tijssen M.J., van Os J., Wittchen H.U., Lieb R., Beesdo K., Mengelers R. et al. Prediction of transition from common adolescent bipolar experiences to bipolar disorder: 10-year study. *Br. J. Psychiatry*. 2010;196(2):102–108. DOI: 10.1192/bjp.bp.109.065763.
 24. Bardenshteyn L.M., Slavgorodsky Y.M., Beglyankin N.I., Kekelidze D.Z., Aleshkina G. A. Early recognition of bipolar depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2016;19(S1):21–22. DOI: 10.1093/ijnp/pyw043.062.
 25. Malhi G.S., Bell E. Prepubertal bipolar disorder: a diagnostic quandary? *Int. J. Bipolar. Disord.* 2020;8(1):20. DOI: 10.1186/s40345-020-00187-0.
 26. Toohey M.J. Irritability characteristics and parameters in an international sample. *J. Affect. Disord.* 2020;263:558–567. DOI: 10.1016/j.jad.2019.11.021.
 27. Kroon J.S., Wohlfarth T.D., Dieleman J., Sutherland A.L., Storsum J.G., Denys D. et al. Incidence rates and risk factors of bipolar disorder in the general population: a population-based cohort study. *Bipolar. Disord.* 2013;15(3):306–313. DOI: 10.1111/bdi.12058.
 28. Swahn M.H., Bossarte R.M. Gender, early alcohol use, and suicide ideation and attempts: findings from the 2005 youth risk behavior survey. *J. Adolesc. Health*. 2007;41(2):175–181. DOI: 10.1016/j.jadohealth.2007.03.003.
 29. Fava G.A., Tossani E. Prodromal stage of major depression. *Early Interv. Psychiatry*. 2007;1(1):9–18. DOI: 10.1111/j.1751-7893.2007.00005.x.
 30. Van Meter A.R., Burke C., Youngstrom E.A., Faedda G.L., Correll C.U. The bipolar prodrome: Meta-analysis of symptom prevalence prior to initial or recurrent mood episodes. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry*. 2016;55(7):543–555. DOI: 10.1016/j.jaac.2016.04.017.
 31. Sewall C.J.R., Girard J.M., Merranko J., Hafeman D., Goldstein B.I., Strober M. et al. A Bayesian multilevel analysis of the longitudinal associations between relationship quality and suicidal ideation and attempts among youth with bipolar disorder. *J. Child. Psychol. Psychiatry*. 2021;62(7):905–915. DOI: 10.1111/jcpp.13343.
 32. Hirschfeld R.M., Williams J.B., Spitzer R.L., Calabrese J.R., Flynn L., Keck P.E.Jr. et al. Development and validation of a screening instrument for bipolar spectrum disorder: the Mood Disorder Questionnaire. *Am. J. Psychiatry*. 2000;157(11):1873–1875. DOI: 10.1176/appi.ajp.157.11.1873.
 33. Ghaemi S.N., Miller C.J., Berv D.A., Klugman J., Rosenquist K.J., Pies R.W. Sensitivity and specificity of a new bipolar spectrum diagnostic scale. *J. Affect. Disord.* 2005;84(2–3):273–277. DOI: 10.1016/S0165-0327(03)00196-4.
 34. Angst J., Adolfsson R., Benazzi F., Gamma A., Hantoché E., Meyer T.D. et al. The HCL-32: towards a self-assessment tool for hypomanic symptoms in outpatients. *J. Affect. Disord.* 2005;88(2):217–233. DOI: 10.1016/j.jad.2005.05.011.
 35. Mosolov S.N., Ushkalova A.V., Kostukova E.G., Shafarenko A.A., Alfimov P.V., Kostyukova A.B. et al. Validation of the Russian version of the Hypomania Checklist (HCL-32) for the detection of bipolar II disorder in patients with a current diagnosis of recurrent depression. *J. Affect. Disord.* 2014;155:90–95. DOI: 10.1016/j.jad.2013.10.029.
 36. Hosang G.M., Cardno A.G., Freeman D., Ronald A. Characterization and structure of hypomania in a British nonclinical adolescent sample. *J. Affect. Disord.* 2017;207:228–235. DOI: 10.1016/j.jad.2016.08.033.
 37. Päären A., von Knorring A.L., Olsson G., von Knorring L., Bohman H., Jonsson U. Hypomania spectrum disorders from adolescence to adulthood: a 15-year follow-up of a community sample. *J. Affect. Disord.* 2013;145(2):190–199. DOI: 10.1016/j.jad.2012.07.031.
 38. Vázquez G.H., Romero E., Fabregues F., Pies R., Ghaemi N., Mota-Castillo M. Screening for bipolar disorders in Spanish-speaking populations: sensitivity and specificity of the Bipolar Spectrum Diagnostic Scale-Spanish Version. *Compr. Psychiatry*. 2010;51(5):552–556. DOI: 10.1016/j.comppsy.2010.02.007.
 39. Hirschfeld R.M., Holzer C., Calabrese J.R., Weissman M., Reed M., Davies M. et al. Validity of the mood disorder questionnaire: a general population study. *Am. J. Psych.* 2003;160(1):178–180. DOI: 10.1176/appi.ajp.160.1.178.
 40. Zimmerman M., Galione J.N., Chelminski I., Young D., Ruggero C.J. Performance of the Bipolar Spectrum Diagnostic Scale in psychiatric outpatients. *Bipolar Disorders*. 2010;12(5):528–538. DOI: 10.1111/j.1399-5618.2010.00840.x.
 41. Lee D., Cha B., Park C.S., Kim B.J., Lee C.S., Lee S. Usefulness of the combined application of the Mood Disorder Questionnaire and Bipolar Spectrum Diagnostic Scale in screening for bipolar disorder. *Compr. Psychiatry*. 2013;54(4):334–340. DOI: 10.1016/j.comppsy.2012.10.002.
 42. Shabani A., Koohi-Habibi L., Nojomi M., Chimeh N., Ghaemi S.N., Soleimani N. The Persian Bipolar Spectrum Diagnostic Scale and Mood Disorder Questionnaire in Screening the Patients with Bipolar Disorder. *Archives of Iranian Medicine*. 2009;12(1):41–47.

Информация об авторах

Осипова Наталья Николаевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра психиатрии и наркологии, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, natinen@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8034-4457>

Барденштейн Леонид Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный врач РФ, зав. кафедрой психиатрии и наркологии, МГМСУ им. А.И. Евдокимова, г. Москва, barden@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1171-5517>

Лямец Леонид Леонидович – канд. тех. наук, доцент, зав. кафедрой физики, математики и медицинской информатики, СГМУ, г. Смоленск, LLL1965@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9173-3044>

Дмитриева Елена Владимировна – ст. преподаватель, кафедра физики, математики и медицинской информатики, СГМУ, г. Смоленск, vernulas@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0375-0870>

(✉) **Осипова Наталья Николаевна**, natinen@yandex.ru

Поступила в редакцию 25.06.2021;
одобрена после рецензирования 30.06.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.721-002:616-006-002.4
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-115-121>

Сывороточная концентрация интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли α у пациентов со спондилоартритами: связь между системным воспалением и анемией

Сафарова К.Н.¹, Федотов Э.А.², Ребров А.П.¹

¹Саратовский государственный медицинский университет (ГМУ) им. В.И. Разумовского
Россия, 410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112

²Саратовская областная станция переливания крови
Россия, 410033, г. Саратов, ул. Гвардейская, 27

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить взаимосвязи между лабораторной активностью системного воспаления и уровнем гемоглобина у пациентов со спондилоартритами (СПА).

Материалы и методы. Обследованы 92 пациента со СПА (возраст – $42,9 \pm 11,6$ года, длительность СПА – $14,8 \pm 9,6$ лет, 55 (60%) мужчин). Рассчитаны индексы BASDAI, ASDAS-CRP, исследованы клинический анализ крови, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), параметры феррокинетики, уровень С-реактивного белка (СРБ), сывороточная концентрация фактора некроза опухоли α (ФНО- α) и интерлейкина-6 (ИЛ-6).

Результаты. У 52 (57%) пациентов выявлена анемия: у 13 (25%) диагностирована анемия хронического воспаления (АХВ), у 39 (75%) – комбинация АХВ и железодефицитной анемии. У пациентов с анемией по сравнению с больными без анемического синдрома отмечено статистически значимое увеличение уровня СРБ ($17,8$ и $9,0$ мг/л соответственно, $p = 0,001$) и СОЭ (23 и 10 мм/ч соответственно, $p < 0,001$), установлена тенденция к повышению уровня ИЛ-6 ($5,4$ и $4,1$ пг/мл соответственно, $p = 0,051$), концентрация ФНО- α статистически значимо не различалась ($3,4$ и $3,0$ пг/мл, $p = 0,245$). Установлена обратная взаимосвязь между уровнем гемоглобина и уровнем СРБ ($r = -0,327$; $p = 0,001$), СОЭ ($r = -0,527$; $p < 0,001$). Концентрация ИЛ-6 статистически значимо взаимосвязана с уровнем ФНО- α , СРБ и СОЭ ($r = 0,431$; $r = 0,361$; $r = 0,369$; $p < 0,001$ для всех). При концентрации ИЛ-6 > 10 пг/мл шансы развития анемии у пациентов со СПА увеличивались в 5,3 раза (95%-й доверительный интервал 1,4–19,9; $p = 0,009$).

Заключение. В ходе исследования подтверждена взаимосвязь между лабораторной активностью системного воспаления и анемией у больных СПА. Учитывая патогенез АХВ, основой антианемической терапии является достижение ремиссии, а при невозможности – минимальной активности СПА. Требуется проведение дополнительных исследований для определения влияния базисной противовоспалительной терапии на развитие и течение анемии у пациентов со СПА.

Ключевые слова: анемия, гемоглобин, воспаление, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли α , спондилоартрит

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования одобрено этическим комитетом Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского (протокол № 3 от 07.11.2017).

✉ Сафарова Карина Николаевна, kn.safarova@yandex.ru

Для цитирования: Сафарова К.Н., Федотов Э.А., Ребров А.П. Сывороточная концентрация интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли α у пациентов со спондилоартритами: связь между системным воспалением и анемией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):115–121. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-115-121>.

Serum concentrations of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in patients with spondyloarthritis: a relationship between systemic inflammation and anemia

Safarova K.N.¹, Fedotov E.A.², Rebrov A.P.¹

¹V.I. Razumovsky Saratov State Medical University
112, Bolshaya Kazachia Str., Saratov, 410012, Russian Federation

²Saratov Regional Blood Center
27, Gvardeyskaya Str., Saratov, 410033, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the relationship between the activity of systemic inflammation and the hemoglobin level in patients with spondyloarthritis (SpA).

Materials and methods. We examined 92 patients with SpA aged 42.9 ± 11.6 years (SpA duration – 14.8 ± 9.6 years, 55 (60%) men). We calculated the BASDAI and ASDAS-CRP scores, performed complete blood count, evaluated erythrocyte sedimentation rate (ESR), ferrokinetic parameters, C-reactive protein (CRP) level, and serum concentrations of tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6).

Results. Anemia was found in 52 (57%) patients: 13 (25%) patients were diagnosed with anemia of inflammation (AI), 39 (75%) individuals had a combination of AI and iron deficiency anemia. A significant increase in CRP (17.8 vs. 9.0 mg / l, respectively; $p = 0.001$) and ESR (23 vs. 10 mm / h, $p < 0.001$), a tendency toward an increase in IL-6 levels (5.4 vs. 4.1 pg / ml, $p = 0.051$), and no difference in TNF- α levels (3.4 vs. 3.0 pg / ml, $p = 0.245$) were revealed in patients with anemia compared with patients with normal hemoglobin level. The hemoglobin concentration was negatively correlated with the CRP level ($r = -0.327$, $p = 0.001$) and ESR ($r = -0.527$, $p < 0.001$). IL-6 was positively correlated with the levels of TNF- α , CRP, and ESR ($r = 0.431$, $r = 0.361$, $r = 0.369$; all $p < 0.001$). With the IL-6 concentration >10 pg / ml, the odds for anemia were 5.3 times higher (95% confidence interval: 1.4–19.9, $p = 0.009$).

Conclusion. The relationship between the activity of systemic inflammation and anemia in patients with SpA was confirmed. Taking into account the pathogenesis of AI, the aim of antianemic treatment is to achieve remission or minimal activity of SpA. Additional studies are required to determine the effect of anti-inflammatory therapy on the development and course of anemia in patients with SpA.

Keywords: anemia, hemoglobin, inflammation, interleukin-6, tumor necrosis factor α , spondyloarthritis

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at V.I. Razumovsky Saratov State Medical University (Protocol No. 3 of 07.11.2017).

For citation: Safarova K.N., Fedotov E.A., Rebrov A.P. Serum concentrations of interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in patients with spondyloarthritis: a relationship between systemic inflammation and anemia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):115–121. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-115-121>.

ВВЕДЕНИЕ

Анемия хронического воспаления (АХВ) занимает второе место по распространенности после истинной железодефицитной анемии (ЖДА) и характеризуется высокой частотой встречаемости среди пациентов различного терапевтического профиля [1–3]. Анемия выступает в качестве характерной коморбидной патологии у пациентов с ревматическими заболеваниями, что связано с особенностями патогенеза аутоиммунных состояний [4]. Ключевое значение в патогенезе АХВ имеет гиперпродукция интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли α (ФНО- α), приводящая к нарушению процессов феррокинезики и дисфункции эритропоэза [4, 5].

К значимым эффектам ИЛ-6 относится стимуляция секреции гепсидина в печени, под влиянием которого подавляется абсорбция алиментарного железа в двенадцатиперстной кишке и нарушается рециркуляция эндогенного железа вследствие его секвестрации в клетках макрофагально-моноцитарной системы [4, 5]. ФНО- α обладает способностью напрямую ингибировать всасывание пищевого железа в кишечнике по гепсидин-независимому механизму, снижает продолжительность жизни эритроцитов и стимулирует эритрофагоцитоз, подавляет пролиферацию эритроидных прогениторных клеток за счет реализации проаптопического эффекта, а также угнетает синтез эритропоэтина [4, 5]. В результате суммарного влияния гепсидина и цитокинов развивается функциональный дефицит железа, сопровождающийся гипохромией на фоне нормального или повышенного уровня ферритина, нарушается синтез гема и снижается эффективность эритропоэза [4, 5].

Спондилоартриты (СПА) – группа хронических аутоиммунных заболеваний, характеризующихся высокой воспалительной активностью, поражением осевого скелета и периферических суставов, энтезисов, возможными внескелетными проявлениями в виде псориаза, увеита, болезни Крона или язвенного колита [6]. СПА широко распространены в популяции, однако на настоящий момент отсутствует убедительная доказательная база о встречаемости и особенностях анемии у данной категории больных. Характеристика и определение патогенетического типа анемии способствуют выбору оптимальной стратегии коррекции анемического синдрома при СПА. Наличие АХВ, рассматриваемой в качестве маркера активности системного воспаления, ее тяжесть и особенности патогенеза могут влиять на выбор базисной противовоспалительной терапии, определяя персонализированный подход в лечении

СПА. Учитывая вышеизложенное, представляет интерес изучение взаимосвязи между анемией и воспалительной активностью при СПА.

Цель – оценить взаимосвязи между уровнем гемоглобина и лабораторными маркерами активности СПА: сывороточной концентрацией ФНО- α , ИЛ-6, С-реактивного белка (СРБ) и скоростью оседания эритроцитов (СОЭ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 92 пациента со СПА (55 мужчин и 37 женщин, возраст – $42,9 \pm 11,6$ года, продолжительность заболевания – $14,8 \pm 9,6$ лет), находившихся на стационарном лечении в отделении ревматологии ГУЗ «Областная клиническая больница» (г. Саратов) с 2017 по 2019 г. Критериями включения в исследование служили: возраст 18 лет и старше; достоверный диагноз, отвечающий критериям Международного общества по изучению СПА (Assessment of Spondyloarthritis International Society, 2009) [7]; подписание информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения из исследования являлись: терапия генно-инженерными биологическими препаратами; истинная железодефицитная, постгеморрагическая, мегалобластная или гемолитическая анемия; онкологические заболевания; туберкулез, ВИЧ, HBV- и HCV-гепатиты; 3–5-я стадия хронической болезни почек; беременность и лактация.

Работа выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского (протокол № 3 от 07.11.2017).

Активность СПА определяли путем расчета индексов BASDAI (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index) и ASDAS-CRP (Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score on CRP). Оценены основные показатели клинического и биохимического анализов крови, в том числе показатели обмена железа и СРБ. Исследована сывороточная концентрация ФНО- α и ИЛ-6 методом количественного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов реагентов «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» и «Интерлейкин-6-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск), согласно инструкции за референсные значения ФНО- α принята концентрация менее 6 пг/мл, ИЛ-6 – менее 10 пг/мл.

Анемию устанавливали при снижении гемоглобина менее 130 г/л у мужчин и 120 г/л у женщин. При условии повышения ферритина более 100 нг/мл, СРБ более 5 мг/л и (или) снижении сатурации трансферрина менее 20% диагностировали АХВ. Комбинацию АХВ и ЖДА (АХВ/ЖДА) определяли при кон-

центрации ферритина 30–100 нг/мл, СРБ более 5 мг/л и (или) сатурации трансферрина менее 20% [8].

Статистический анализ выполнен в программе SPSS 26.0 (IBM SPSS Statistics, США). Проверка распределения признака на соответствие с нормальным законом проводилась с помощью критериев Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова, нормальным считалось распределение при $p > 0,05$. Для описания нормально распределенных количественных признаков использовали среднее значение и среднее квадратичное отклонение $M \pm SD$, для описания признаков с распределением, отличным от нормального, указывали медиану, верхний и нижний квартили $Me [Q_1; Q_3]$. В зависимости от характера распределения признака использовались методы параметрической и непараметрической статистики. Для оценки различия количественных признаков в двух независимых группах применяли t -критерий Стьюдента при нормальном распределении данных, критерий Манна – Уитни – при распределении признака, отличным от нормального. Для оценки различий категориальных переменных использовался тест χ^2 Пирсона или точный критерий Фишера. Для оценки влияния гиперпродукции цитокинов на развитие анемии у пациентов со СПА применялся параметр отношения шансов (ОШ) с определением 95%-го доверительного интервала (ДИ). Оценка связи между количественными признаками осуществлялась непараметрическим методом ранговой корреляции Спирмена, теснота связи определялась по шкале Чеддока. При уровне $p < 0,05$ различия считали статистически значимыми; $p < 0,1$ рассматривали как тенденцию к различию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У 52 (57%) включенных в исследование пациентов выявлена анемия: у 13 (25%) диагностирована АХВ, у 39 (75%) – комбинация АХВ и ЖДА. У 47 (90%) пациентов выявлена анемия легкой степени, у 5 (10%) больных снижение уровня гемоглобина соответствовало анемии средней степени. Больные СПА с наличием и без анемического синдрома были сопоставимы по полу, возрасту, длительности и активности заболевания, у большинства пациентов регистрировалась высокая активность заболевания согласно значениям индексов BASDAI и ASDAS-CRP (табл. 1). У больных СПА с анемией отмечена тенденция к более частому проведению многокомпонентной терапии, включающей использование нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), глюкокортикоидов (ГК) и базисных противовоспалительных препаратов (БПВП). Среди пациентов со СПА без анемии в большинстве случаев (70%) проводилась терапия НПВП без дополнитель-

ного использования ГК, а синтетические БПВП применялись у 40% больных (табл. 1).

Таблица 1

Основные демографические и клинические показатели пациентов со СПА			
Показатель	Пациенты со СПА ($n = 92$)		p
	без анемии ($n = 40$)	с анемией ($n = 52$)	
Возраст, годы, $M \pm SD$	45,1 $\pm$ 13,0	41,3 $\pm$ 10,3	0,139
Мужчины, n (%)	25 (63)	30 (58)	0,641
Длительность СПА, годы, $Me [Q_1-Q_3]$	12,3 [7,4–20,3]	15,8 [8,7–21,6]	0,521
BASDAI, $M \pm SD$	4,8 $\pm$ 2,2	5,6 $\pm$ 2,1	0,117
BASDAI >4, n (%)	22 (55)	33 (64)	0,799
ASDAS-CRP, $M \pm SD$	3,3 $\pm$ 1,0	3,8 $\pm$ 1,2	0,062
ASDAS-CRP $\geq 2,1$, n (%)	27 (68)	42 (81)	0,434
Терапия СПА, n (%):	–	–	–
НПВП	28 (70)	26 (50)	0,053
НПВП + ГК	11 (28)	24 (46)	0,068
Синтетические БПВП, в том числе:	16 (40)	31 (60)	0,103
Метотрексат	8 (50)	14 (45)	0,472
Сульфасалазин	7 (44)	12 (39)	0,608
Метотрексат + сульфасалазин	1 (6)	4 (13)	0,383
Гидроксихлорохин	–	1 (3)	–

В табл. 2 приведены основные показатели клинического анализа крови, параметры обмена железа и маркеры системного воспаления больных СПА, вошедших в исследование. У пациентов с анемией выявлены анизоцитоз, тенденция к микроцитозу и гипохромии эритроцитов согласно полученным значениям эритроцитарных индексов. У этих больных регистрировали более высокий уровень тромбоцитов, уменьшение сатурации трансферрина и тенденцию к снижению сывороточного железа, что характерно для АХВ. У пациентов с наличием анемического синдрома отмечены тенденция к повышению сывороточной концентрации ИЛ-6, статистически значимое повышение уровня СРБ и СОЭ в сравнении со значениями пациентов без анемии ($p = 0,051$; $p = 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно), при этом статистически значимые различия концентрации ФНО- α у пациентов с наличием и без анемии не выявлены ($p = 0,245$).

Для определения взаимосвязей между маркерами системного воспаления, индексами активности СПА и уровнем гемоглобина проведен корреляционный анализ (табл. 3). Концентрация гемоглобина обратно взаимосвязана с уровнем СРБ и СОЭ ($p = 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно). Прямая взаимосвязь установлена между уровнем ИЛ-6 и другими маркерами системного воспаления – ФНО- α , СРБ и СОЭ ($p < 0,001$ для всех).

В табл. 4 представлен сравнительный анализ частоты развития анемии в зависимости от наличия превышения сывороточной концентрации ФНО- α и ИЛ-6 референсных значений. Установлено, что на

фоне гиперпродукции ИЛ-6 шансы развития анемии увеличиваются в 5,3 раза (95%-й ДИ: 1,4–19,9). Между сопоставляемыми признаками отмечена взаимосвязь средней силы (Cramer's $V = 0,281$).

Таблица 2

Гематологические параметры, показатели феррокинетики и маркеры системного воспаления у пациентов со СпА					
Показатель	Пациенты со СпА (n = 92)				p
	без анемии (n = 40)		с анемией (n = 52)		
	n	Me [Q ₁ –Q ₃]	n	Me [Q ₁ –Q ₃]	
Гемоглобин, г/л	40	139 [134–149]	52	116 [107–120]	<0,001*
Средний объем эритроцита (MCV), фл	40	90,4 [88,9–92,9]	52	85,3 [79,3–91,0]	0,002*
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг	40	30,3 [29,5–30,9]	52	27,3 [24,6–29,7]	<0,001*
Ширина распределения эритроцитов по объему (RDW), %	40	13,5 [12,9–14,3]	52	15,1 [13,6–16,8]	<0,001*
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	40	278 [236–319]	52	297 [265–362]	0,028*
СОЭ, мм/ч	40	10 [6–15]	52	23 [12–32]	<0,001*
Железо сыворотки, мкмоль/л	16	13,8 [10,5–14,0]	52	8,7 [6,3–13,7]	0,071
Ферритин, нг/мл	16	69 [49–162]	52	70 [46–98]	0,640
Трансферрин, г/л	16	2,2 [2,0–2,3]	52	2,2 [2,1–2,3]	0,688
Сатурация трансферрина, %	16	24,9 [18,0–27,5]	52	15,7 [11,2–23,0]	0,038*
СРБ, мг/л	40	9,0 [3,9–16,6]	52	17,8 [9,5–30,5]	0,001*
ФНО-α, пг/мл	40	3,0 [2,4–4,0]	52	3,4 [2,7–4,1]	0,245
ИЛ-6, пг/мл	40	4,1 [2,0–6,7]	52	5,4 [2,4–11,7]	0,051

* $p < 0,05$

Таблица 3

Корреляционный анализ маркеров системного воспаления с клинико-лабораторными показателями у пациентов со СпА				
Показатель	СРБ	СОЭ	ИЛ-6	ФНО- α
BASDAI	$r = 0,147$ $p = 0,202$	$r = 0,105$ $p = 0,362$	$r = -0,094$ $p = 0,417$	$r = 0,102$ $p = 0,378$
ASDAS-CRP	$r = 0,489$ $p < 0,001^*$	$r = 0,358$ $p = 0,001^*$	$r = 0,160$ $p = 0,167$	$r = 0,208$ $p = 0,071$
Гемоглобин	$r = -0,327$ $p = 0,001^*$	$r = -0,527$ $p < 0,001^*$	$r = -0,155$ $p = 0,142$	$r = -0,104$ $p = 0,323$
ФНО- α	$r = 0,153$ $p = 0,146$	$r = 0,233$ $p = 0,025^*$	$r = 0,431$ $p < 0,001^*$	1
ИЛ-6	$r = 0,361$ $p < 0,001^*$	$r = 0,369$ $p < 0,001^*$	1	$r = 0,431$ $p < 0,001^*$

* $p < 0,05$

Таблица 4

Сравнение частоты развития анемии в зависимости от наличия повышения сывороточной концентрации ФНО- α и ИЛ-6				
Фактор риска	Частота анемии		p	ОШ (95%-й ДИ)
	Наличие фактора, n (%)	Отсутствие фактора, n (%)		
ФНО- α >6 пг/мл	4 (80,0)	48 (55,2)	0,383	3,3 (0,3–30,3)
ИЛ-6 >10 пг/мл	16 (84,2)	36 (50,0)	0,009*	5,3 (1,4–19,9)

* $p < 0,05$

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе произведена попытка оценки вклада системного воспаления в развитие анемии у пациентов со СпА. В нашем исследовании не получены статистически значимые различия концентрации ФНО- α у пациентов с наличием и без анемического синдрома. При этом отмечена тенденция к повышению концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови у пациентов со сниженным уровнем гемоглобина, а гиперпродукция данного цитокина обуславливала более чем пятикратное увеличение шансов развития анемии. Традиционные показатели воспалительной активности – уровень СРБ и СОЭ были статистически значимо выше у больных СпА с анемией, при этом были взаимосвязаны с индексом ASDAS-CRP, уровнем гемоглобина и сывороточной концентрацией ИЛ-6.

Установлено, что концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови пациентов со СпА значимо выше, чем у здоровых лиц [9, 10]. Однако в ходе исследований J. Sieper и соавт. [11, 12] эффективность ингибиторов ИЛ-6 (тоцилизумаб, сарилумаб) в лечении анкилозирующего спондилита (АС) не подтверждена. Несмотря на значимое снижение лабораторной активности, у пациентов не отмечено улучшения аксиальных и периферических симптомов, статистические значимые различия терапевтического ответа по критериям ASAS20 и ASAS40 по сравнению с плацебо не

получены. Стоит отметить, что в данных работах не производился анализ взаимосвязи между уровнем гемоглобина и концентрацией ИЛ-6, а также не представлена оценка гематологического ответа на прием ингибиторов ИЛ-6. В то же время при выборе ГИБП у пациентов с ревматоидным артритом, имеющих анемию и другие признаки ИЛ-6-зависимого воспаления, отдается предпочтение блокаторам ИЛ-6, показавшим свою высокую клиническую эффективность [13]. Следует полагать, что применение ингибиторов ИЛ-6 при наличии тяжелой АХВ у пациента со СпА может быть оправдано.

В исследованиях с участием пациентов с псориатическим артритом [14] и АС [15] страдающих изолированной АХВ без признаков абсолютного железодефицита, продемонстрирован четкий прирост уровня гемоглобина, редукция сывороточной концентрации СРБ и ферритина на фоне терапии ингибиторами ФНО- α . Известно, что цитокины способны потенцировать эффекты друг друга, в особенности это характерно для триады воспалительных медиаторов – ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-6. Реализуется и обратное влияние – блокирование эффектов ФНО- α в «цитокиновом ансамбле» может приводить к снижению экспрессии ИЛ-6, играющего центральную роль в развитии АХВ.

У пациентов с аксиальными СпА в качестве терапии первой линии рекомендован длительный прием НПВП. В исследовании Y. Yап и соавт. [16] продемонстрировано существенное снижение лабораторной активности АС на фоне терапии НПВП: отмечено статистически значимое уменьшение СОЭ, уровня СРБ, ИЛ-6 и ФНО- α . Учитывая патогенез АХВ, очевидно, что адекватная противовоспалительная терапия НПВП способна предотвращать развитие анемии у пациентов со СпА. Однако постоянный прием НПВП требует проведения мониторинга лекарственной безопасности на предмет поражения желудочно-кишечного тракта с развитием кровопотери и ЖДА. В настоящем исследовании у 75% пациентов констатировано наличие АХВ в сочетании с абсолютным железодефицитом, при этом отсутствовали указания на НПВП-гастроэнтеропатию. Ранее не было получено убедительных данных об ассоциации между наличием ЖДА и приемом НПВП у пациентов со СпА [17]. Присутствие железодефицитного компонента анемии следует рассматривать как следствие гепсидин-индуцированного нарушения метаболизма железа в условиях хронического системного воспаления.

Результаты настоящего исследования подтверждают наличие взаимосвязи между активностью системного воспаления и концентрацией гемоглобина

у больных СпА. В связи с этим стратегия коррекции анемического синдрома должна основываться на подавлении, а при невозможности – минимизации воспалительной активности основного заболевания, что является непосредственной целью терапии СпА и достижимой задачей при условии подбора адекватной базисной противовоспалительной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования подтверждена взаимосвязь между лабораторной активностью системного воспаления и анемией у больных СпА. В большинстве случаев у пациентов регистрировалась анемия смешанного генеза (АХВ/ЖДА) с небольшим или умеренным снижением уровня гемоглобина, при этом основным в формировании анемии следует считать воспалительный компонент. Учитывая патогенетические особенности развития АХВ, основой антианемической терапии является достижение ремиссии, а при невозможности – минимальной активности СпА. Требуется проведение дополнительных исследований для определения влияния НПВП, синтетических БПВП и ГИБП на развитие и течение анемии у пациентов со СпА.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kassebaum N.J., Jasrasaria R., Naghavi M., Wulf S.K., Johns N., Lozano R. et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*. 2014;123(5):615–624. DOI: 10.1182/blood-2013-06-508325.
2. Мартынов С.А., Шестакова М.В., Шилов Е.М., Шамхалова М.Ш., Викулова О.К., Сухарева О.Ю. и др. Распространенность анемии у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа с поражением почек. *Сахарный диабет*. 2017;20(5):318–328. DOI: 10.14341/DM9369.
3. Mentz R.J., Greene S.J., Ambrosy A.P., Vaduganathan M., Subacius H.P., Swedberg K. et al. Clinical profile and prognostic value of anemia at the time of admission and discharge among patients hospitalized for heart failure with reduced ejection fraction. *Circ. Hear Fail.* 2014;7(3):401–8. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000840.
4. Weiss G, Schett G. Anaemia in inflammatory rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2013;9(4):205–15. DOI: 10.1038/nrrheum.2012.183.
5. Рукавицын О.А. Анемия хронических заболеваний: отдельные аспекты патогенеза и пути коррекции. *Онкогематология*. 2016;11(1):37–46. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-37-46.
6. Эрдес Ш.Ф., Ребров А.П., Дубинина Т.В., Бадюкин В.В., Бочкова А.Г., Бугрова О.В. и др. Спондилоартриты: современная терминология и определения. *Терапевтический архив*. 2019; 91 (5): 84–88. DOI: 10.26442/00403660.2019.05.00208.
7. Sieper J., Rudwaleit M., Baraliakos X., Brandt J., Braun J., Burgos-Vargas R. et al. The Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS) handbook: a guide to assess

- spondyloarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2009;68:1–44. DOI: 10.1136/ard.2008.104018.
8. Muñoz M., Acheson A.G., Auerbach M., Besser M., Habler O., Kehlet H. et al. International consensus statement on the peri-operative management of anaemia and iron deficiency. *Anaesthesia*. 2017;72(2):233–247. DOI: 10.1111/anae.13773.
 9. Bal A., Unlu E., Bahar G., Aydog E., Eksioglu E., Yorgancioğlu R. Comparison of serum IL-1 β , sIL-2R, IL-6, and TNF- α levels with disease activity parameters in ankylosing spondylitis. *Clin. Rheumatol.* 2006;26(2):211–215. DOI: 10.1007/s10067-006-0283-5.
 10. Elkayam O., Yaron I., Shirazi I., Yaron M., Caspi D. Serum levels of IL-10, IL-6, IL-1ra, and sIL-2R in patients with psoriatic arthritis. *Rheumatol. Int.* 2000;19(3):101–105. DOI: 10.1007/s002960050111.
 11. Sieper J., Porter-Brown B., Thompson L., Harari O., Dougados M. Assessment of short-term symptomatic efficacy of tocilizumab in ankylosing spondylitis: results of randomised, placebo-controlled trials. *Ann. Rheum. Dis.* 2014;73(1):95–100. DOI:10.1136/annrheumdis-2013-203559.
 12. Sieper J., Braun J., Kay J., Badalamenti S., Radin A.R., Jiao L. et al. Sarilumab for the treatment of ankylosing spondylitis: Results of a Phase II, randomised, double-blind, placebo-controlled study (ALIGN). *Ann. Rheum. Dis.* 2015;74(6):1051–1057. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204963.
 13. Favalli E.G. Understanding the Role of Interleukin-6 (IL-6) in the Joint and Beyond: A Comprehensive Review of IL-6 Inhibition for the Management of Rheumatoid Arthritis. *Rheumatol. Ther.* 2020;7(3):473–516. DOI: 10.1007/s40744-020-00219-2.
 14. Corrado A., Di Bello V., D’Onofrio F., Maruotti N., Cantatore F.P. Anti-TNF- α effects on anemia in rheumatoid and psoriatic arthritis. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2017;30(3):302–307. DOI: 10.1177/0394632017714695.
 15. Niccoli L., Nannini C., Cassarà E., Kaloudi O., Cantini F. Frequency of anemia of inflammation in patients with ankylosing spondylitis requiring anti-TNF α drugs and therapy-induced changes. *Int. J. Rheum. Dis.* 2012;15(1):56–61. DOI: 10.1111/j.1756-185X.2011.01662.x.
 16. Yan Y., Guo T.M., Zhu C. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on serum proinflammatory cytokines in the treatment of ankylosing spondylitis. *Biochem. Cell Biol.* 2018;96(4):450–456. DOI:10.1139/bcb-2017-0267.
 17. Сафарова К.Н., Дорогойкина К.Д., Ребров А.П. Является ли анемия клиническим маркером НПВП-индуцированного поражения верхних отделов желудочно-кишечного тракта у пациентов со спондилоартритами? *Альманах клинической медицины*. 2019;47(5):410–418. DOI: 10.18786/2072-0505-2019-47-037.

Информация об авторах

Сафарова Карина Николаевна – аспирант, кафедра госпитальной терапии лечебного факультета, Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, kn.safarova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8989-8405>

Федотов Эдуард Анатольевич – канд. мед. наук, зам. главного врача по лабораторной диагностике, Саратовская областная станция переливания крови, г. Саратов, eduard_fedotov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3563-5535>

Ребров Андрей Петрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии лечебного факультета, Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, andreymbrov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3463-7734>

(✉) Сафарова Карина Николаевна, kn.safarova@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.01.2021;
одобрена после рецензирования 31.05.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.12-008.46-036.12:612.111.7:57.085.2
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-122-128>

Агрегация тромбоцитов в условиях «вихревого» потока *in vitro* у пациентов с хронической сердечной недостаточностью

Трубачева О.А., Кологривова И.В., Сулова Т.Е., Сваровская А.В., Гарганеева А.А.

Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

РЕЗЮМЕ

Цель – сравнительное изучение влияния повышенной концентрации индукторов агрегации при пятикратном добавлении в стандартных условиях и в условиях «вихревого» потока *in vitro* на агрегацию тромбоцитов у пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

Материалы и методы. В исследование включены 28 пациентов. Активность агрегации тромбоцитов в богатой тромбоцитами плазме (БТП) оценивали по кривым светопропускания (%) и среднего размера агрегатов (в относительных единицах, отн. ед.). Определение проводили с индуктором агрегации при однократном добавлении на 10-й с исследования (стандартная методика) и при пятикратном добавлении индуктора на 10-й с, 1, 2, 3 и 4-й мин исследования, при постоянном перемешивании со скоростью 800 об/мин. Эти же параметры оценивали в условиях «вихревого» потока плазмы, что достигалось изменением скорости перемешивания БТП с 800 до 0 об/мин и вновь до 800 об/мин с помощью кнопки выключения и включения центрифугирования на анализаторе.

Результаты. В ходе проведенного исследования у пациентов увеличился размер агрегатов только в условиях «вихревого» потока. При добавлении индуктора агрегации коллагена как в концентрации 2 ммоль/л, так и 10 ммоль/л показатели агрегации тромбоцитов увеличились в условиях «вихревого» потока. В ходе исследования эпинефрин-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов выявили возрастание параметров агрегации, как при пятикратном добавлении индуктора, так и в условиях «вихревого» потока по сравнению со стандартной методикой.

Заключение. Предложенные нами методические подходы по созданию условий «вихревого» потока *in vitro* и по пятикратному добавлению индуктора эпинефрина показали увеличение размеров агрегатов и степени агрегации тромбоцитов. Коллаген-индуцированная агрегация в условиях «вихревого» потока позволила выявить 7 (25%) пациентов с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов, а эпинефрин-индуцированная – 15 (54%) пациентов.

Ключевые слова: агрегация, тромбоцит, коллаген, эпинефрин, хроническая сердечная недостаточность, остаточная реактивность

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках поисковой темы НИИ кардиологии АААА-А20-120041090007-8.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 139 от 18.11.2015).

Для цитирования: Трубачева О.А., Кологривова И.В., Сулова Т.Е., Сваровская А.В., Гарганеева А.А. Агрегация тромбоцитов в условиях «вихревого» потока *in vitro* у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):122–128. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-122-128>.

Platelet aggregation under the conditions of vortex flow *in vitro* in patients with chronic heart failure

Trubacheva O.A., Kologrivova I.V., Suslova T.E., Swarovskaya A.V., Garganeeva A.A.

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To compare the effect of increased concentrations of aggregation inducers (five-fold addition) under standard conditions and under the conditions of vortex flow *in vitro* on platelet aggregation in patients with chronic heart failure (CHF).

Materials and methods. The study included 28 patients. The activity of platelet aggregation in platelet-rich plasma (PRP) was evaluated according to light transmission curves (%) and the average size of aggregates (relative units (rel. units)). The aggregation inducer was added once at 10 seconds of the study (standard procedure) and five times at 10 seconds, 1, 2, 3, and 4 minutes of the study with a constant stirring rate of 800 rpm. The same parameters were evaluated under the conditions of vortex flow, which was created by changing the stirring rate of the PRP from 800 rpm to 0 rpm and again to 800 rpm by pressing the centrifugation button on the analyzer.

Results. In the course of the study, the size of the aggregates increased in patients with CHF only under the conditions of vortex flow. When a collagen aggregation inducer was added both at the concentration of 2 mmol / l and 10 mmol / l, platelet aggregation parameters increased under the conditions of vortex flow. During the study of epinephrine-induced platelet aggregation in patients with CHF, an increase in the aggregation parameters was revealed, both at five-fold addition of the inducer and under the conditions of vortex flow compared with the standard method.

Conclusion. The proposed methodological approaches to creating the conditions for vortex flow *in vitro* and to five-fold addition of epinephrine showed an increase in the size of the aggregates and the degree of platelet aggregation. Collagen-induced aggregation under the conditions of vortex flow revealed 7 (25%) patients with high residual platelet reactivity (HRPR), and epinephrine-induced aggregation detected 15 (54%) patients with HRPR.

Keywords: aggregation, platelets, collagen, epinephrine, chronic heart failure, residual reactivity

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The research was carried out within the exploratory study of the Cardiology Research Institute AAAA-A20-120041090007-8.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС (Protocol No. 139 от 18.11.2015).

For citation: Trubacheva O.A., Kologrivova I.V., Suslova T.E., Swarovskaya A.V., Garganeeva A. A. Platelet aggregation under the conditions of vortex flow *in vitro* in patients with chronic heart failure. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):122–128. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-122-128>.

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания являются главной причиной заболеваемости во всем мире, при этом хроническая сердечная недостаточность (ХСН) – прогрессирующее инвалидизирующее состояние – с высоким уровнем смертности. Несмотря на достижения в лечении, пациенты с ХСН имеют повышенный риск тромбообразования. Причинами развития тромбозов у пациентов с ХСН являются: нарушение гемодинамики, изменение реологических свойств крови, нарушение свертываемости крови и возрастание

тромбоцитарной активности. Тромбоциты играют центральную роль в развитии тромбов в кровеносных сосудах [1, 2]. При повреждении сосудов может происходить патологическая активация тромбоцитов, приводящая к неконтролируемому росту тромба, что вызывает последующие ишемические события. Высокая остаточная реактивность тромбоцитов (ВОРТ) у пациентов ассоциируется с развитием ишемических событий, что доказано в многочисленных исследованиях и данных метаанализов [2–6].

Механизмы агрегации тромбоцитов исследуются в стандартных методиках без учета турбулентности

или «вихревого» потока. Однако при сердечно-сосудистой патологии реология крови изменяется, и «вихревой» поток оказывает сильные протромботические эффекты. Аггезия нескольких тромбоцитов создает эффект «снежного кома», индуцируя выраженную агрегацию тромбоцитов с высокой остаточной реактивностью, результатом которой является быстрая окклюзия сосуда. Известно, что золотым стандартом и наиболее доступным методом в оценке агрегации тромбоцитов является световая трансмиссионная агрегометрия, которая проводит анализ агрегации по кривым светопропускания и размеров агрегатов [6]. Однако чувствительности используемых в настоящее время в рутинной практике методик оценки остаточной агрегации тромбоцитов оказывается недостаточно [7]. Поэтому существует необходимость в поиске новых перспективных методов диагностики повышенного проагрегантного потенциала тромбоцитов для профилактики тромбозов. Таким образом, изучение агрегации тромбоцитов у пациентов с ССЗ в условиях создания «вихревого» потока в богатой тромбоцитами плазме является весьма актуальным. Знания в данной области исследований актуальны как для клинической и фундаментальной медицины, так и для разработки новых методов диагностики.

Цель – сравнительное изучение влияния повышенной концентрации индукторов агрегации при пятикратном добавлении в стандартных условиях и в условиях «вихревого» потока *in vitro* на агрегацию тромбоцитов в богатой тромбоцитами плазме пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено одномоментное поперечное исследование. Набор пациентов проводился на базе Научно-исследовательского института кардиологии при плановой госпитализации в отделении патологии миокарда (под руководством профессора А.А. Гарганеевой) в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. В исследование включены 28 пациентов в возрасте 41–83 лет (18 мужчин и 10 женщин). Критерии включения в исследование: стабильная форма ишемической болезни сердца (ИБС) в сочетании с ХСН I–III функциональных классов (ФК) согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации сердца (NYHA) и непрерывный прием антиагрегантной терапии в течение 6 мес. Все обследованные пациенты получали регулярную комбинированную базисную терапию в соответствии с современными рекомендациями для лечения ИБС в сочетании с ХСН. Всем пациентам в соответствии с рекомендациями по диагностике и лечению ИБС в сочетании с ХСН выпол-

няли лабораторные и инструментальные методы исследования. Критерии исключения из исследования: неприверженность к терапии; острые сосудистые осложнения давностью менее 6 мес; тяжелая сопутствующая патология; клинические и лабораторные признаки острого воспаления; фибрилляция предсердий; желудочковая аритмия высокой градации по Lown и отказ от участия в исследовании.

Специальное исследование по оценке агрегации тромбоцитов проводили с помощью метода Г. Борна в модификации З.А. Габбасова на двухканальном лазерном анализаторе (220 LA «НПФ Биола», Россия). Для выделения суспензии тромбоцитов человека использовали периферическую венозную кровь, забранную утром натощак, в вакуумную пробирку объемом 7 мл с 3,8%-м цитратом натрия в качестве антикоагулянта, с соотношением плазмы к антикоагулянту 6 : 1.

Для каждого образца крови пациента определяли экспериментальные значения светопропускания, где бедная тромбоцитами плазма принимается за 0%, а богатая тромбоцитами плазма – за 100% агрегации у данного пациента. Активность агрегации тромбоцитов в богатой тромбоцитами плазме (БТП) оценивали по кривым светопропускания (%) и среднего размера агрегатов (в относительных единицах, отн. ед.), с индуктором агрегации при однократном добавлении на 10-й с исследования (стандартная методика) и при пятикратном добавлении индуктора на 10-й с, 1, 2, 3 и 4-й мин исследования, при постоянном перемешивании со скоростью 800 об/мин. Эти же параметры оценивали в методике по исследованию агрегации тромбоцитов в условиях «вихревого» потока плазмы, что достигалось пятикратным изменением скорости перемешивания БТП с 800 об/мин до 0 и последующим увеличением вновь до 800 об/мин с помощью пятикратного центрифугирования на анализаторе на 10-й с, 1, 2, 3 и 4-й мин с задержкой 10 с. Пятикратное добавление индуктора и создание условий «вихревого» потока плазмы с изменением скорости перемешивания было подобрано опытным путем. В качестве естественных индукторов использовали коллаген и эпинефрин (Helena, Великобритания) в концентрациях 2 мкмоль/л (стандартная методика) и 10 мкмоль/л (с пятикратным добавлением индуктора по 2 мкмоль/л на 10-й с, 1, 2, 3 и 4-й мин исследования).

Статистическую обработку данных проводили с использованием статистических пакетов SPSS (версия 19), Statistica 10.0. Для оценки распределения количественных признаков был использован критерий Шапиро – Уилка. Распределение количественных показателей агрегации не подчинялось нормальному

закону распределения; данные агрегации представляли в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1; Q_3)$. Достоверность различий для парных или зависимых выборок оценивали с использованием T -критерия Вилкоксона. Различия между выборками считали статистически значимыми при значении вероятности $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди рекрутированных преобладали пациенты со стенокардией напряжения ФК III – 15 (53%); ФК II установлен в 11 (30%) случаях, ФК I – в 2 (7%). В анамнезе 8 (29%) пациентов перенесли Q-инфаркт миокарда (ИМ) давностью ≥ 6 мес. В большинстве случаев у включенных в исследование пациентов диагностировали многососудистое поражение коронарных артерий 22 (79%). Также среди пациентов были широко распространены факторы сердечно-сосудистого риска: курение – у 17 (61%) пациентов, избыточная масса тела и ожирение – у 22 (78%), артериальная гипертензия – у 20 (71%), дислипидемия – у 13 (46 %) пациентов, сахарный диабет 2 типа – у 13 (46%) пациентов.

В ходе проведенного исследования у пациентов с ХСН показатели спонтанной агрегации, измеренные по стандартной методике, составили 3,1 (1,5; 4,0)% и 1,7 (1,1; 2,0) отн. ед. В условиях «вихревого» потока значительно увеличился только размер агрегата до 5,4 (3,2; 6,1) отн. ед. ($p = 0,04$). Размер агрегатов у пациентов с сердечно-сосудистой патологией не должен превышать 4 отн. ед., увеличение показателя указывает на ВОРТ у пациентов. При оценке спонтанной агрегации в условиях «вихревого» потока по показателю размера агрегата среди пациентов с ХСН было выявлено 5 (18%) пациентов с ВОРТ.

Степень агрегации и размер агрегатов у пациентов с ХСН при добавлении коллагена в концентрации 2 ммоль/л (стандартная методика) составили 9,3 (2,1; 65,4)% и 3,1 (1,9; 10,1) отн. ед. соответственно. При изменении скорости перемешивания от 800 об/мин до 0, а затем до 800 об/мин показатель степени агрегации значительно увеличился до 47,9 (40,6; 95,0)% ($p = 0,00$), а размер агрегатов составил 3,8 (1,3; 10,7) отн. ед. Но эти показатели не превышали нормативные значения (до 50% – для степени агрегации и до 4,5 отн. ед. – для размера агрегатов).

В условиях пятикратного добавления коллагена на 10-й с, 1, 2, 3 и 4-й мин исследования значимых изменений не наблюдалось, и показатели составили 22,3 (17,3; 89,6)% по степени агрегации и 6,42 (2,1; 39,8) отн. ед. по размеру агрегатов. В условиях «вихревого» потока показатели коллаген-индуцированной агрегации увеличились и составили для степе-

ни агрегации 80,1 (13,5; 165,0)% ($p = 0,04$), а размер агрегатов увеличился до 32,9 (1,1; 43,7) ($p = 0,00$) отн. ед. По результатам изучения коллаген-индуцированной агрегации у пациентов с ХСН в условиях «вихревого» потока было выявлено 7 (25%) пациентов с ВОРТ, тогда как при пятикратном добавлении индуктора значимых различий по сравнению со стандартной методикой не получено.

Показатели стандартной эпинефрин-индуцированной агрегации у пациентов с ХСН в концентрации индуктора 2 ммоль/л составили 46,7 (35,8; 66,2)% по степени агрегации и 15,0 (11,4; 18,9) отн. ед. по размеру агрегатов, а при изменении скорости перемешивания 800–0–800 об/мин показатели значительно увеличились до 52,7 (41,3; 76,5)% ($p = 0,00$) и 19,4 (17,3; 20,6) ($p = 0,04$) отн. ед. соответственно.

В условиях пятикратного добавления эпинефрина значительно увеличился только показатель степени агрегации и составил 52,5 (41,9; 74,5)% ($p = 0,03$), а размер агрегатов оставался неизменным и составил 15,8 (12,2; 18,4) отн. ед. ($p = 0,02$). В условиях «вихревого» потока показатели эпинефрин-индуцированной агрегации значительно увеличились. Степень агрегации составила 75,4 (62,0; 80,5)% ($p = 0,04$), в то время как увеличение размера агрегатов было многократным и достигло величины 356,0 (230,5; 462,5) отн. ед. ($p = 0,03$). Таким образом, в ходе исследования эпинефрин-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с ХСН мы выявили возрастание параметров агрегации как при пятикратном добавлении индуктора, так и в условиях «вихревого» потока по сравнению со стандартной методикой. В результате исследования ВОРТ была выявлена у 15 (54%) пациентов, что являлось максимальным количеством выявленной ВОРТ по сравнению со всеми использованными методическими подходами.

ОБСУЖДЕНИЕ

Значимые изменения показателей агрегации, полученные в ходе выполнения исследования, при пятикратном добавлении индуктора и в условиях «вихревого потока» в сравнении со стандартной методикой, которая является золотым стандартом, указывают на необходимость изучения новых методических подходов к оценке агрегации тромбоцитов и выявления пациентов с остаточной реактивностью тромбоцитов с целью предупреждения возможных ишемических событий у пациентов с ХСН. Современная терапия в условиях стационара является весьма затратной, поэтому поиск простых и недорогих диагностических тестов становится все более актуальным. Дискуссия по поводу целесообразности исследования агрегации тромбоцитов у пациентов

с ХСН все еще продолжается, что определяет необходимость проведения дальнейших исследований в данной области [5, 8, 9].

Настоящая работа носила характер открытого одноцентрового одномоментного наблюдения. Мы показали, что стандартные методы исследования агрегации не всегда являются достаточными для выявления ВОРТ. Использование повышенных концентраций индуктора эпинефрина при пятикратном добавлении во время исследования на 10-й с, 1, 2, 3 и 4-й мин исследования агрегации тромбоцитов, использование спонтанной, коллаген и эпинефрин-индуцированной агрегации в условиях «вихревого потока» при изменении скорости перемешивания 800–0–800 об/мин повышает точность оценки агрегации в выявлении высокой осадочной реактивности тромбоцитов у пациентов с ХСН. Результаты нескольких независимых метаанализов с участием более 100 тыс. пациентов показали, что ВОРТ была ассоциирована со значительным повышением частоты развития ИМ, тромбоза стента и смерти от сердечно-сосудистых причин [1, 2, 4].

Кровь, циркулирующая в сосудах в условиях перепада давления, оказывает воздействие на клетки крови, а также стенки сосудов [10]. Кровоток является ламинарным, с максимальной скоростью в центре просвета сосуда и нулевой на стенке сосуда [11]. Биомеханические силы, создаваемые силой кровотока, играют критическую роль в объединении или разделении основных гематологических компонентов, участвующих в образовании тромба. При нормальных условиях гематокрита (~40%) эритроциты в основном циркулируют вдоль центральной оси кровеносного сосуда за счет осевой миграции. Следовательно, тромбоциты перемещаются в непосредственной близости от стенок сосудов, что облегчает их связывание с адгезивными лигандами в реактивном эндотелиальном слое в поврежденных сосудистых участках [11–13]. В физиологических условиях течение крови в крупных артериях является ламинарным, однако стеноз сосуда из-за атеросклеротических поражений или ранее существовавших тромбов может изменять кровоток [8, 10, 14, 15].

За десятилетия изучения было установлено, что тромбоциты играют центральную роль в развитии тромбов в здоровых и патологических измененных кровеносных сосудах. При нарушении целостности сосудов циркулирующие тромбоциты задерживаются в месте повреждения, где они агрегируют, образуя гемостатические тромбы, тем самым предотвращая дальнейшее кровотечение. Однако при турбулентном или «вихревом» потоке крови образуются переходные агрегаты без предварительной активации

или изменения формы, что стабилизирует дисковидные агрегаты тромбоцитов и приводит к неконтролируемому росту нестабильно и слабо адгезированного тромба, который, в свою очередь, может закупорить кровеносный сосуд или эмболизировать его, вызывая последующие ишемические события [16].

Молекулярные процессы, вызывающие патологическое развитие тромба, во многом сходны с процессами, контролирующими физиологическое образование тромба. Самой большой проблемой антиагрегантной терапии является дифференцировка патологических и физиологических ответов тромбоцитов. В настоящее время реализуемые на рынке антиагрегантные препараты неэффективны в отношении таргетных патологических тромбов без нарушения нормального гемостаза. Изменения потоков крови из ламинарного в «вихревой» тип, возникающие в кровотоке, приводят к агрегации тромбоцитов при атеросклерозе. Турбулентное течение крови в закупоренных кровеносных сосудах может быть выше по скорости на два порядка по сравнению со здоровыми сосудами. Использование «вихревого» потока крови в микроокружении тромба может позволить дифференцировать тромбоз и физиологический гемостаз и разработать селективную к изменению тока крови антиагрегантную терапию.

Следует отметить, что современная антиагрегантная терапия не способна к селективной профилактике патологических тромбозов без вмешательства в физиологический процесс гемостаза. Одним из существенных различий между этими двумя процессами является различие в типах токов крови по сосудам, причем патологическое турбулентное течение крови наблюдается при патологических тромбах в местах окклюзии сосудов или разрыва атеросклеротической бляшки [17]. Известно, что ни один существующий, клинически используемый антиагрегантный препарат не способен специфически реагировать на эту биомеханическую силу в месте патологического тромбообразования. Аспирин, являющийся золотым стандартом антиагрегантной терапии, не способен полностью ингибировать агрегацию тромбоцитов, что показано в многочисленных исследованиях [18, 19]. При патологическом токе крови селективное ингибирование циклооксигеназы-2 может даже усилить агрегацию тромбоцитов за счет снижения базальной продукции простациклина (простагландина I₂; PGI₂), мощного ингибитора агрегации тромбоцитов [20, 21]. Также на сегодняшний день нет методик, которые учитывали бы эти изменения потока. Анализ агрегации тромбоцитов по кривой размеров агрегатов и степени агрегации в условиях «вихревого» потока доказывает возможность выявления ВОРТ

у пациентов с ХСН с учетом изменения потока крови.

Сравнение методик показало, что пятикратное добавление индуктора и создание условий «вихревого» потока путем изменения скорости перемешивания позволяют выявить тромбоциты с высокой остаточной активностью и склонностью к образованию агрегатов крупных размеров. С нашей точки зрения, выявление ВОРТ с помощью новых методических подходов позволит определить наличие повышенного кардиоваскулярного риска у пациентов с ХСН.

К ограничениям проведенного исследования можно отнести его одномоментный дизайн и относительно небольшое число обследованных пациентов. Однако полученные результаты доказывают необходимость проведения дальнейших исследований по изучению агрегации тромбоцитов и выявлению высокой остаточной реактивности тромбоцитов у пациентов для совершенствования методик и профилактики сердечно-сосудистых событий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стандартные методики по изучению агрегации тромбоцитов не всегда являются достаточными для выявления повышенного проагрегантного потенциала тромбоцитов, что важно для диагностики и профилактики сердечно-сосудистых осложнений. Предложенные нами методические подходы по созданию условий «вихревого» потока *in vitro* и по пятикратному добавлению индуктора эпинефрина при коллаген-индуцированной и эпинефрин-индуцированной агрегации показали увеличение размеров агрегатов и степени агрегации тромбоцитов, что доказывает перспективность этих методических подходов для выявления высокой остаточной реактивности тромбоцитов у пациентов с хронической сердечной недостаточностью.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гуськова Е.В., Панченко Е.П., Комаров А.Л., Добровольский А.Б., Самко А.Н. Остаточная реактивность тромбоцитов к АДФ и риск кровотечений у больных стабильной ИБС, получающих двойную антиромбоцитарную терапию в связи с плановым чрескожным коронарным вмешательством. *Российский кардиологический журнал*. 2015;3(119):35–42. DOI: 10.15829/1560-4071-2015-3-35-42.
2. Трубачева О.А., Сулова Т.Е., Гусакова А.М., Кологривова И.В., Шнайдер О.Л., Завадовский К.В. и др. Высокая остаточная агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца: новый методический подход к выявлению. *Бюллетень сибирской медицины*. 2021;20(2):113–119. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-2-113-119.
3. Сваровская А.В., Тепляков А.Т. Инсулинорезистентность при сахарном диабете. Контроль над риском кардиоваскулярных осложнений. Томск: НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, 2018:196.
4. Jastrzebska M., Marciniowska Z., Oledzki S. et al. Variable gender-dependent platelet responses to combined antiplatelet therapy in patients with stable coronary-artery disease. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2018;69(4):595–605. DOI: 10.26402/jpp.2018.4.10.
5. Stone G.W., Witzencbichler B., Weisz G., Rinaldi M.J., Neumann F.-J., Metzger D.C. et al. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet*. 2013;382(9892):614–623. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61170-8.
6. Мирзаев К.Б., Андреев Д.А., Сычев Д.А. Оценка агрегации тромбоцитов в клинической практике. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2015;11(1):85–91.
7. Трубачева О.А. и соавт. Способ определения высокой остаточной реактивности тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца, находящихся на антиагрегантной терапии. Патент России RU № 2743808 C1.
8. Aradi D., Storey R.F., Komocsi A., Trenk D., Gulba D., Kiss R.G. et al. Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Eur. Heart J*. 2014;35(4):209–215. DOI: 10.1093/eurheartj/ehf375.
9. Jastrzebska M., Marciniowska Z., Oledzki S. et al. Variable gender-dependent platelet responses to combined antiplatelet therapy in patients with stable coronary-artery disease. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2018;69(4):595–605. DOI: 10.26402/jpp.2018.4.10.
10. Kroll M.H., Hellums J.D., McIntire L.V., Schafer A.L., Moake J.L. Platelets and shear stress. *Blood*. 1996;88(5):1525–1541.
11. Goldsmith H.L., Turitto V.T. Rheological aspects of thrombosis and haemostasis: basic principles and applications. ICTH-report-subcommittee on rheology of the international committee on thrombosis and haemostasis. *Thromb. Haemost.* 1986;55(3):415–435. DOI: 10.1055/s-0038-1661576.
12. Lipowsky H.H., Kovalcheck S., Zweifach B.W. The distribution of blood rheological parameters in the microvasculature of cat mesentery. *Circ. Res.* 1978;43(5):738–749. DOI: 10.1161/01.RES.43.5.738.
13. Basmadjian D. The effect of flow and mass transport in thrombogenesis. *Ann. Biomed. Eng.* 1990;18(6):685–709. DOI: 10.1007/BF02368455.
14. Gogia S., Neelamegham S. Role of fluid shear stress in regulating VWF structure, function and related blood disorders. *Biorheology*. 2015;52(5-6):319–335. DOI: 10.3233/BIR-15061.
15. Sakariassen K.S. Thrombus formation on apex of arterial stenoses: the need for a fluid high shear stenosis diagnostic device. *Fut. Cardiol.* 2007;3(2):193–201. DOI: 10.2217/14796678.3.2.193.
16. Nesbitt W.S., Westein E., Tovar-Lopez F.J., Tolouei E., Mitchell A., Fu J. et al. A shear gradient-dependent platelet aggregation mechanism drives thrombus formation. *Nat. Med.* 2009;15(6):665–673. DOI: 10.1038/nm.1955.

17. Sakariassen K.S., Orning L., Turitto V.T. The impact of blood shear rate on arterial thrombus formation. *Future Sci. OA*. 2015;1(4):FSO30. DOI: 10.4155/fso.15.28.
18. Rinder C.S., Student L.A., Bonan J.L., Rinder H.M., Smith B.R. Aspirin does not inhibit adenosine diphosphate-induced platelet alpha-granule release. *Blood*. 1993;82(2):505–512.
19. Barstad R.M., Orvim U., Hamers M.J., Tjonnfjord G.E., Brosstad F.R., Sakariassen K.S. Reduced effect of aspirin on thrombus formation at high shear and disturbed laminar blood flow. *Thromb. Haemost.* 1996;75(5):827–832. DOI: 10.1055/s-0038-1650374.
20. Weiss H.J., Turitto V.T. Prostacyclin (prostaglandin I₂, PGI₂) inhibits platelet adhesion and thrombus formation on subendothelium. *Blood*. 1979;53(2):244–250.
21. Borgdorff P., Tangelder G.J., Paulus W.J. Cyclooxygenase-2 inhibitors enhance shear stress-induced platelet aggregation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;48(4):817–823. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.03.053.

Вклад авторов

Трубачева О.А., Кологривова И.В. – разработка концепции и дизайна, выполнение экспериментальной части исследования, интерпретация и анализ данных, написание рукописи. Сулова Т.Е., Гарганеева А.А. – проверка интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации. Сваровская А.В. – опрос и подбор пациентов, проведение необходимого перечня обследований.

Информация об авторах

Трубачева Оксана Александровна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение клинической лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, otrubacheva@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1253-3352>.

Кологривова Ирина Вячеславовна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение функциональной и лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, ikologrivova@gmail.com., <https://orcid.org/0000-0003-4537-0008>

Сулова Татьяна Евгеньевна – канд. мед. наук, зав. отделением клинической лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, tes@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9645-6720>

Сваровская Алла Владимировна – д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, avk@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7834-2359>

Гарганеева Алла Анатольевна – д-р мед. наук, профессор, зав. отделением патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, aag@cardio-tomsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9488-6900>

(✉) **Трубачева Оксана Александровна**, otrubacheva@inbox.ru

Поступила в редакцию 04.08.2021;
одобрена после рецензирования 22.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.379-008.64-021.6:618.14-006.66]-092.4
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-129-136>

Инсулиноподобные факторы роста и их белки-переносчики в печени крыс при экспериментальном диабете, злокачественном росте аденокарциномы тела матки и их сочетании

Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Шейко Е.А., Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Трепитаки Л.К., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д., Немашкалова Л.А., Котиева И.М., Шапошников А.В., Морозова М.И.

*Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63*

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследовать содержание инсулиноподобных факторов роста (IGF) 1 и 2, их белков-переносчиков IGFBP-1 и IGFBP-2 в печени крыс с сахарным диабетом, аденокарциномой Герена и при их сочетании.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на 64 белых беспородных крысах обоего пола, которые были разделены на 4 группы по 8 особей: 1-я – интактные животные, 2-я – животные с экспериментальным диабетом, 3-я – животные с подкожной перевивкой карциномы Герена, 4-я – животные с экспериментальным диабетом и с подкожной перевивкой опухоли Герена. В работе осуществляли биохимический, иммуноферментный и статистический анализы.

Результаты. В печени беспородных крыс установлена половая специфичность содержания инсулиноподобных факторов роста и IGFBP-1: у самцов уровень IGF-1, IGF-2 и IGFBP-1 оказался ниже, чем у самок. Развитие сахарного диабета и рост перевивной карциномы Герена в самостоятельных вариантах приводили к изменению половых особенностей изученных компонентов в печени крыс.

Заключение. Рост карциномы Герена и сахарный диабет вызывают разнонаправленные изменения IGF и IGFBP в печени самок, но однонаправленные – в печени самцов. В результате развития карциномы Герена на фоне сахарного диабета половые различия в содержании изученных показателей нивелируются, сахарный диабет изменяет метаболический профиль печени у животных обоего пола.

Ключевые слова: карцинома Герена, сахарный диабет, печень, IGF, IGFBP

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке бюджетной темы по госзаданию 2021–2023 гг. «Влияние коморбидных заболеваний на течение злокачественных процессов».

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено этическим комитетом НМИЦ онкологии (протокол № 21/99 от 24.12.2020).

Для цитирования: Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В., Шейко Е.А., Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Трепитаки Л.К., Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д., Немашкалова Л.А., Котиева И.М., Шапошников А.В., Морозова М.И. Инсулиноподобные факторы роста и их белки-переносчики в печени крыс при экспериментальном диабете, злокачественном росте аденокарциномы тела матки и их сочетании. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):129–136. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-129-136>.

Insulin-like growth factors and their transporter proteins in the liver of rats with experimental diabetes, adenocarcinoma of the uterine corpus, and their combination

Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Sheiko E.A., Surikova E.I., Neskubina I.V., Trepitaki L.K., Pogorelova Yu.A., Cheryarina N.D., Nemashkalova L.A., Kotieva I.M., Shaposhnikov A.V., Morozova M.I.

National Medical Research Center of Oncology
63, 14th Liniya Str., Rostov-on-Don, 344037, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To investigate the content of insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF-2, and their transporter proteins IGFBP-1 and IGFBP in the liver of rats with experimental diabetes, Guerin's carcinoma, and their combination.

Materials and methods. The experiment was carried out on 64 white outbred rats of both sexes, which were divided into 4 groups of 8 animals each: group 1 – intact animals, group 2 – animals with experimental diabetes, group 3 – animals with subcutaneously inoculated Guerin's carcinoma, group 4 – animals with experimental diabetes and subcutaneously inoculated Guerin's carcinoma. In the study, biochemical and statistical analyses and enzyme immunoassays were performed.

Results. In the liver of the outbred rats, sex specificity in the content of insulin-like growth factors and IGFBP-1 was established: the levels of IGF-1, IGF-2, and IGFBP-1 in males were lower than in females. It was shown that the development of diabetes mellitus and the growth of Guerin's carcinoma led to changes in the sex-specific components in the rat liver.

Conclusion. The growth of Guerin's carcinoma and the progression of diabetes mellitus cause multidirectional changes in IGF and IGFBP levels in the liver of females and unidirectional changes in the liver of males. Following the growth of Guerin's carcinoma against the background of diabetes mellitus, sex-specific differences in the content of the studied parameters were minimized. It was shown that diabetes mellitus changed the metabolic profile of the liver in the animals of both sexes.

Keywords: Guerin's carcinoma, diabetes mellitus, liver, IGF, IGFBP

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the budgetary topic within the state assignment 2021–2023 “Influence of comorbidities on the course of malignancies”.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at the National Medical Research Center of Oncology (Protocol No. 21/99 of 24.12.2020).

For citation: Frantsiyants E.M., Bandovkina V.A., Kaplieva I.V., Sheiko E.A., Surikova E.I., Neskubina I.V., Trepitaki L.K., Pogorelova Yu.A., Cheryarina N.D., Nemashkalova L.A., Kotieva I.M., Shaposhnikov A.V., Morozova M.I. Insulin-like growth factors and their transporter proteins in the liver of rats with experimental diabetes, adenocarcinoma of the uterine corpus, and their combination. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):129–136. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-129-136>.

ВВЕДЕНИЕ

Заболеваемость диабетом и раком значительно возросла в последние годы. Кроме того, существует множество общих факторов риска как диабета, так и рака. Большое количество эпидемиологических данных указывает на то, что диабет считается независимым фактором риска увеличения частоты возникновения и смерти разнородных типов рака. Забо-

леваемость и смертность от различных типов рака, таких как рак поджелудочной железы, печени, толстой кишки, груди, эндометрия и мочевого пузыря, у диабетиков незначительно растет. Несмотря на то, что лежащие в основе биологические механизмы до конца не изучены, исследования подтвердили, что ось инсулин/инсулиноподобный фактор роста (IGF), гипергликемия и половые гормоны создают благоприятные условия для пролиферации и мета-

стазирования раковых клеток. Ось инсулин/IGF активирует несколько метаболических и митогенных сигнальных путей; гипергликемия дает энергию для роста раковых клеток. Таким образом, эти факторы влияют на все типы рака, в то время как половые гормоны играют важную роль только при раке груди, раке эндометрия и раке простаты [1].

Наиболее распространенными типами диабета являются тип 1 и тип 2. С одной стороны, аутоиммунное нарушение инсулин-продуцирующих бета-клеток, вызывающее абсолютный дефицит инсулина, приводит к сахарному диабету 1-го типа (СД1) и составляет около 5 от 10% всех случаев диабета. С другой стороны, СД2 ассоциирован с метаболическими нарушениями, при которых клетки становятся нечувствительными к инсулину и, следовательно, проявляют относительный дефицит инсулина. Несмотря на то что СД1 и СД2 связаны с повышенным риском развития рака, несколько исследований показали, что СД2 имеет более сильную связь с раком как эпидемиологически, так и биологически [2, 3].

Рак эндометрия (РЭ) является наиболее распространенным типом гинекологического рака. По сравнению с другими видами рака РЭ часто имеет более ранний диагноз и лучший прогноз. Однако смертность от него значительно выросла за последние 20 лет. Диабет связан с РЭ, что постоянно подтверждается в когортных исследованиях и метаанализах [4]. Кроме того, систематический обзор и метаанализ когортных исследований обобщили 29 когортных исследований и выявили заболеваемость РЭ у женщин с диабетом и без него. Суммарный относительный риск составил 1,89 (95%-й доверительный интервал (ДИ): 1,46–2,45; $p < 0,001$), а суммарный коэффициент заболеваемости составил 1,61 (95%-й ДИ: 1,51–1,71; $p < 0,001$). Это еще раз подтверждает, что диабет является независимым фактором риска для повышения заболеваемости РЭ [5].

Инсулин-пептидный гормон регулирует метаболизм углеводов и жиров, улучшая всасывание глюкозы. Инсулин теряет функцию увеличения клеточного поглощения и использования глюкозы у диабетиков, что клинически определяется как инсулинорезистентность [6]. Высокий уровень инсулина является признаком гиперинсулинемии, которая стимулирует клетки печени производить IGF-1, когда инсулин связывается с рецептором инсулина на поверхности клеток-мишеней. IGF-1 соединяется с рецептором IGF-1 (IGF-1R), рецепторной тирозинкиназой для активации нескольких метаболических и митогенных сигнальных путей, регулирующих пролиферацию, дифференцировку и апоптоз раковых клеток [7].

Инсулиноподобные факторы роста (IGF) и связывающие белки (IGFBP) являются фундаментальными медиаторами роста, развития и выживания клеток и экспрессируются в большинстве тканей. Эпидемиологические данные свидетельствуют о причастности IGF и IGFBP к риску рака простаты, груди, колоректального рака и рака щитовидной железы [8]. Пациенты с диабетом связаны с более высоким уровнем IGF-1, что делает его более восприимчивым к повышенному риску развития многих типов рака. Кроме того, многие исследования показали, что IGF-1 чаще экспрессируется в клетках гормон-зависимых раков, чем при других типах рака [9].

В эксперименте с использованием мышинной модели HER2-опосредованного рака груди было обнаружено, что гиперинсулинемия способствует усиленному росту опухолей молочной железы через ось инсулин / IGF [10]. Эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что диабет ассоциирован с более высоким риском развития и смертности от многих видов рака. Однако основные механизмы, связывающие диабет и развитие рака, еще полностью не определены; но было высказано предположение, что гипергликемия как признак диабета может способствовать прогрессированию опухоли [11].

Целью настоящего исследования явилось изучение содержания IGF-1, IGF-2 и их белков-переносчиков IGFBP-1 и IGFBP-2 в печени крыс с сахарным диабетом, аденокарциномой Герена и при их сочетании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены белые беспородные крысы обоего пола весом 180–220 г, полученные из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (филиал «Андреевка», Московская область), содержащиеся при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Работа с животными проводилась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (Директива 86/609/ЕЕС), с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» и приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Исследование одобрено комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ онкологии» (протокол № 21/99 от 01.09.2020).

Животные каждого пола были разделены на 4 группы по 8 особей: 1-я – интактные, 2-я – сахарный диабет, 3-я – рост перевивной карциномы Герена (контрольная группа), 4-я – рост перевивной карциномы Герена на фоне аллоксанового диабета

(основная группа). Для воспроизведения экспериментального диабета животным однократно внутрибрюшинно вводили аллоксан в дозировке 150 мг/кг веса. Далее в течение 1 нед у них измеряли содержание глюкозы в крови. Высокое содержание глюкозы в крови в пределах 15–30 ммоль/л свидетельствовало о развитии сахарного диабета.

Крысам группы с самостоятельным ростом опухоли и спустя 1 нед стойкой гипергликемией подкожно вводили по 0,5 мл взвеси клеток опухоли Герена в физиологическом растворе в разведении 1 : 5. Для этого, соблюдая все условия асептики, описанные выше, ассистент фиксировал крысу спиной вверх, предварительно сбрав шерсть и обработав кожу 5%-м спиртовым раствором йода книзу от угла правой лопатки. Экспериментатор рукой в стерильной перчатке захватывал обработанную кожную складку, иглой шприца прокалывал кожу и вводил опухолевую взвесь. Затем извлекал иглу и место введения плотно прижимал ватным тампоном, смоченным в 70%-м спирте с небольшим добавлением йода, на 1 мин, чтобы исключить вытекание вводимой взвеси. Через 3 сут после введения взвеси штамма карциномы Герена регистрировали подкожный рост опухоли.

На момент перевивки карциномы Герена у животных основной группы ($n = 8$) средние показатели глюкозы в крови составили $25,4 \pm 1,2$ ммоль/л, тогда как в контрольной группе интактных животных ($n = 8$) – $5,2 \pm 0,3$ ммоль/л.

Забой животных проводили через 10 сут с помощью гильотины. В печени у животных всех групп методом иммуноферментного анализа определяли содержание IGF-1, IGF-2, IGFBP-1, IGFBP-2 (Casabio, Китай) на анализаторе Infiniti F50 TECAN (Австрия). Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0. Соответствие распределения нормальному оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Значимость различий между выборками оценивали с помощью t -критерия Стьюдента и критерия Манна – Уитни. Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего $M \pm m$. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень глюкозы в крови интактных животных не имел значимых половых различий и в среднем составил $5,4 \pm 0,5$ ммоль/л. У крыс с перевитой карциномой Герена уровень глюкозы в крови составил в среднем $5,1 \pm 0,43$ ммоль/л. У животных с индуцированным аллоксаном СД1 содержание глюкозы в крови составило в среднем $22,5 \pm 2,1$ ммоль/л. У крыс основной группы с ростом карциномы Герена на фоне сахарного диабета уровень глюкозы в крови на момент выхода опухоли был $25,3 \pm 2,4$ ммоль/л.

В печени самцов беспородных белых крыс содержание IGF-1 и IGF-2 оказалось ниже, чем у самок в 1,4 раза и IGFBP-1 в 1,8 раза ($p < 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1

Содержание инсулиноподобных факторов роста и белков-переносчиков в печени крыс, нг/гтк, $M \pm m$				
Группа	IGF-1	IGFBP-1	IGF-2	IGFBP-2
<i>Самки</i>				
Интактные	$1166,5 \pm 98,7^4$	$123,2 \pm 11,4^4$	$14,6 \pm 1,2^4$	$230,1 \pm 21,4$
Диабет	$1480,4 \pm 120,1^{1,3}$	$200,5 \pm 17,6^{1,3,4}$	$32,9 \pm 2,9^{1,3}$	$454,0 \pm 43,6^{1,3,4}$
Опухоль Герена	$903,5 \pm 87,4^{2,4}$	$77,4 \pm 6,7^{1,2,4}$	$16,0 \pm 1,4^2$	$197,4 \pm 18,5^{2,4}$
Диабет + опухоль Герена	$1322,2 \pm 113,5$	$140,1 \pm 12,0^{2,3}$	$39,8 \pm 3,5^{1,3}$	$425,7 \pm 39,2^{1,3,4}$
<i>Самцы</i>				
Интактные	$843,6 \pm 81,3$	$66,6 \pm 5,8$	$10,8 \pm 0,9$	$202,9 \pm 19,1$
Диабет	$1269,2 \pm 97,8^1$	$140,5 \pm 10,3^{1,3}$	$51,0 \pm 4,3^{1,3}$	$704,8 \pm 65,7^{1,3}$
Опухоль Герена	$1233,7 \pm 101,6^1$	$93,8 \pm 8,3^{1,2}$	$18,7 \pm 1,6^{1,2}$	$298,2 \pm 21,4^{1,2}$
Диабет + опухоль Герена	$1526,3 \pm 132,5^1$	$152,1 \pm 11,4^{1,3}$	$43,0 \pm 3,7^{1,3}$	$726,7 \pm 64,3^{1,3}$

¹ статистически значимые отличия по сравнению с интактными животными; ² статистически значимые отличия по сравнению с диабетом;

³ статистически значимые отличия по сравнению с Гереном; ⁴ статистически значимые отличия по сравнению с самцами соответствующих групп, $p < 0,05$ (здесь и в табл. 2).

У самок крыс с сахарным диабетом установлено повышение уровня как IGF-1 и IGF-2 в образцах печени в 1,3 и 2,3 раза соответственно ($p < 0,05$), так и IGFBP-1 и IGFBP-2 в 1,6 и 2 раза соответственно, по сравнению с показателями интактных животных. Рост перевивной опухоли Герена вызвал снижение содержания в печени только IGF-1 и IGFBP-1 в 1,3 и 1,6 раза соответственно ($p < 0,05$), не повлияв на

концентрацию IGF-2 и IGFBP-2. В результате роста карциномы Герена на фоне СД уровень IGF-1 в печени не отличался от показателей у животных с СД и был выше в 1,5 раза ($p < 0,05$), чем у животных с самостоятельным ростом злокачественной опухоли. Концентрация IGF-2 была в 2,5 раза выше по сравнению с показателями при росте карциномы Герена.

Что касается связывающих белков, то содержание в печени крыс основной группы IGFBP-1 и IGFBP-2 превышало значения при самостоятельном росте опухоли в 1,8 и 2,2 раза соответственно, при этом уровень IGFBP был ниже в 1,4 раза показателей при СД.

У самцов крыс сахарный диабет вызвал повышение уровня как IGF-1 и IGF-2 в 1,5 и 4,7 раза соответственно ($p < 0,05$), по сравнению с показателями интактных животных, так и IGFBP-1 и IGFBP-2 в 2,1 и 3,5 раза соответственно (см. табл. 1).

Рост карциномы Герена также повысил уровень IGF-1 и IGF-2 в 1,5 раза ($p < 0,05$) и в 1,7 раза ($p < 0,05$) соответственно, а IGFBP-1 и IGFBP-2 в 1,4 раза ($p < 0,05$) и в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с показателями интактных животных. Так как при злокачественном росте и СД в самостоятельных

вариантах установлено повышение исследованных показателей, в результате сочетанного роста карциномы Герена на фоне сахарного диабета значимых отклонений в направленности по сравнению с самостоятельными процессами не выявлено.

Несмотря на тот факт, что в печени у животных обоего пола выявлено повышение уровня обоих IGF и связывающих белков как при самостоятельных, так и при сочетанных процессах, за исключением роста карциномы Герена у самок, отмечено изменение коэффициента соотношения IGF/IGFBP во всех группах (табл. 2). Так, у самок под влиянием СД снизились все коэффициенты соотношения: в 1,8 раза ($p < 0,05$) IGF-1/IGF-2, в 1,8 раза ($p < 0,05$) IGF-I/IGFBP-1, в 1,5 раза ($p < 0,05$) IGF-I/IGFBP-2, в 1,4 раза ($p < 0,05$) IGF-2/IGFBP-1 и в 1,3 раза ($p < 0,05$) IGF-2/IGFBP2.

Таблица 2

Соотношение инсулиноподобных факторов роста и белков-переносчиков в печени крыс, $M \pm m$				
Группа	IGF-1/ IGFBP-1	IGF-1/ IGFBP-2	IGF-2/ IGFBP-1	IGF-2/ IGFBP-2
<i>Самки</i>				
Интактные	$79,9 \pm 7,1$	$5,1 \pm 0,45$	$8,4 \pm 0,76$	$0,5 \pm 0,04$
Диабет	$45,0 \pm 4,2^{1,4}$	$3,3 \pm 0,27^{1,3,4}$	$6,1 \pm 0,52^{1,3,4}$	$0,4 \pm 0,03^{1,4}$
Опухоль Герена	$56,5 \pm 5,5^1$	$4,6 \pm 0,42^2$	$4,8 \pm 0,33^{1,2}$	$0,4 \pm 0,03^{1,4}$
Диабет + опухоль Герена	$33,2 \pm 2,9^{1,2,3}$	$3,1 \pm 0,29^{1,3}$	$3,5 \pm 0,31^{1,2}$	$0,3 \pm 0,02^{1,2,3,4}$
<i>Самцы</i>				
Интактные	$78,1 \pm 6,7$	$4,2 \pm 0,38$	$6,2 \pm 0,54$	$0,3 \pm 0,02$
Диабет	$24,9 \pm 2,3^{1,3}$	$1,8 \pm 0,15$	$2,8 \pm 0,27^{1,3}$	$0,2 \pm 0,019^{1,3}$
Опухоль Герена	$66,0 \pm 5,8^2$	$4,1 \pm 0,34$	$5,0 \pm 0,43^{1,2}$	$0,3 \pm 0,02^2$
Диабет + опухоль Герена	$35,5 \pm 3,1^{1,2,3}$	$2,1 \pm 0,19$	$3,5 \pm 0,32^{1,2,3}$	$0,2 \pm 0,018^{1,3}$

При росте опухоли Герена у самок в печени установлено снижение IGF-1/IGFBP-1 в 1,4 раза ($p < 0,05$), IGF-2/IGFBP-1 в 1,8 раза ($p < 0,05$) и IGF-2/IGFBP-2 в 1,3 раза ($p < 0,05$). При сочетанной патологии установлено падение соотношения IGF-1/IGFBP-1 и IGF-2/IGFBP-1 в 1,4 раза ($p < 0,05$) и 1,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с диабетом и в 1,7 раза ($p < 0,05$) и 1,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с самостоятельным ростом Герена. Также выявлено снижение IGF-I/IGFBP2 в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с ростом карциномы Герена и снижение IGF-II/IGFBP2 в 1,3 раза ($p < 0,05$) по сравнению с группами с самостоятельными процессами.

У самцов коэффициенты соотношения IGF к связывающим белкам снизились по сравнению с показателями у интактных животных в 1,5–3,1 раза ($p < 0,05$) в группе с сахарным диабетом, но не с самостоятельным ростом опухоли (см. табл. 2). В основной группе с ростом карциномы на фоне СД соотношение IGF/IGFBP оказалось ниже в 1,5–2 раза

($p < 0,05$), чем при самостоятельном росте опухоли. По сравнению с группой самцов с диабетом в основной группе коэффициенты соотношения практически не имели значимых отличий, за исключением IGF-1/IGFBP-1, который оказался выше в 1,4 раза.

ОБСУЖДЕНИЕ

В печени беспородных белых крыс содержание инсулиноподобных факторов роста и IGFBP-1 имело половую специфику. Так, у самцов в печени уровни IGF-1, IGF-2 и IGFBP-1 оказались ниже, чем у самок. В результате развития сахарного диабета в печени крыс выявлено изменение половой специфичности содержания IGF и связывающих белков: уровень IGF-1 у самцов не отличался от показателей у самок, а содержание IGF-2 и IGFBP-2 превышало значения в печени самок. Различия содержания IGF и IGFBP в печени самок и самцов в норме и патологии имеют связь с основными половыми стероидами – эстрогенами и андрогенами. Так, исследования показали, что биологически доступные эстроген и тестосте-

рон повышены у женщин с диабетом [12], в то время как общая концентрация тестостерона у мужчин с диабетом ниже, чем у мужчин без диабета [13]. Несмотря на то, что механизм остается неясным, он, вероятно, объясняется разным сродством стероидов к стероид-связывающему глобулину (ССГ) [14, 15]. Известно, что синтез ССГ снижается с повышением уровня глюкозы и инсулина в крови, что способствует увеличению уровня свободного эстрогена и тестостерона. Это основная причина, по которой диабет может играть важную роль в защите мужчин от рака простаты, но не женщин от рака груди и эндометрия. Высокий уровень свободных эстрогенов и андрогенов связан с более высоким риском развития многих типов рака, таких как рак груди, эндометрия и простаты [16]. Подкожная перевивка карциномы Герена привела к тому, что изначально имеющаяся половая специфичность содержания IGF и IGFBP-1 в печени нивелировалась, в результате чего уровень IGF-1 и IGFBP-2 у самцов превышал уровень у самок, а содержание IGF-2 и IGFBP-1 не отличалось от показателей у самок.

Установлено, что инсулиноподобные факторы роста и белки, влияющие на их биодоступность, действуют аутокринно-паракринным образом, уменьшая воспаление и фиброз печени, ингибируя активацию звездчатых клеток печени [17]. Высокий уровень инсулина стимулирует клетки печени производить IGF. В свою очередь, IGF связываются с рецепторами IGF (IGF-R) для активации ряда метаболических и митогенных сигнальных путей, регулирующих пролиферацию, дифференцировку и апоптоз раковых клеток [7]. В нашем исследовании установлено, что уровень IGF в печени возрастает у крыс обоего пола с сахарным диабетом, но только у самцов с опухолью Герена. Необходимо учитывать, что IGF связываются с IGFBP, в том числе с IGFBP-2 [18]. В нашем исследовании выявлено повышение содержания в печени IGFBP у животных обоего пола с сахарным диабетом. Предполагают, что повышение концентрации IGFBP-1 и IGFBP-2, в частности у пожилых мужчин, может быть связано со снижением чувствительности к инсулину [8].

Обращает на себя внимание существенный рост уровня IGFBP-2 в печени крыс под влиянием сахарного диабета как в самостоятельном варианте, так и при коморбидной патологии, на фоне которой развивается злокачественный процесс. Роль IGFBP-2 при физиологических и патологических состояниях до сих пор полностью не изучена. Однако установлена связь IGFBP-2 с метаболическим синдромом, СД2 и жировым гепатозом печени. Предполагают, что изменение секреции IGFBP-2 может указывать на кле-

точную дисфункцию гепатоцитов [19]. Считают, что IGFBP-2 является неинвазивным биомаркером степени накопления липидов в печени, показывающим прогрессирование заболевания [1].

Изменение содержания IGF и IGFBP при росте злокачественной карциномы Герена на фоне сахарного диабета однонаправленно у животных обоего пола и характеризуется возрастанием концентрации исследуемых веществ по сравнению с показателями интактных животных. Можно сказать, что эндокринное заболевание – сахарный диабет, вызванный у экспериментальных животных, – определяет статус IGF оси. Этот факт показателен у самок крыс, у которых в самостоятельном варианте рост карциномы Герена вызывает снижение в печени уровня IGF-I, тогда как на фоне сахарного диабета их концентрации так же, как и IGFBP, возрастают.

Таким образом, рост карциномы Герена и сахарный диабет вызывают разнонаправленные изменения IGF и IGFBP в печени самок, но однонаправленные – у самцов. В результате развития карциномы Герена на фоне сахарного диабета половые различия в содержании изученных показателей нивелируются, сахарный диабет изменяет метаболический профиль печени у животных обоего пола. Хочется подчеркнуть, что только экспериментальные исследования позволяют решить ряд вопросов, связанных с патогенезом рака на фоне коморбидных заболеваний [20].

Предполагают, что заболеваемость диабетом и раком во всем мире быстро растет из-за изменения образа жизни и увеличения продолжительности жизни. Поскольку внутренняя неоднородность диабета и рака затрудняет проведение исследований, остается много вопросов, основные из которых: «Каким образом воздействует коморбидная эндокринная патология на риск, течение и исход злокачественного заболевания?», «Каковы основные биологические механизмы развития злокачественного процесса на фоне такой серьезной сопутствующей патологии, как сахарный диабет?» Необходимо провести дополнительные исследования, чтобы предоставить более широкий выбор профилактических и терапевтических методов лечения больных раком на фоне сахарного диабета.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wang M., Yang Y., Liao Z. Diabetes and cancer: Epidemiological and biological links. *World Journal of Diabetes*. 2020;11(6):227–238. DOI: 10.4239/wjd.v11.i6.227.
2. Arneith B., Arneith R., Shams M. Metabolomics of type 1 and type 2 diabetes. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(10):2467. DOI: 10.3390/ijms20102467.

3. Yaribeygi H., Bo S., Ruscica M., Sahebkar A. Ceramides and diabetes mellitus: an update on the potential molecular relationships. *Diabet. Med.* 2020;37(1):11–19. DOI: 10.1111/dme.13943.
4. Saltzman B.S., Doherty J.A., Hill D.A., Beresford S.A., Voigt L.F., Chen C. et al. Diabetes and endometrial cancer: an evaluation of the modifying effects of other known risk factors. *Am. J. Epidemiol.* 2008;167(5):607–614. DOI: 10.1093/aje/kwm333.
5. Liao C., Zhang D., Mungo C., Tompkins D.A., Zeidan A.M. Is diabetes mellitus associated with increased incidence and disease-specific mortality in endometrial cancer? A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Gynecol. Oncol.* 2014;135(1):163–171. DOI: 10.1016/j.ygyno.2014.07.095.
6. Godsland I.F. Insulin resistance and hyperinsulinaemia in the development and progression of cancer. *Clin. Sci. (Lond.)* 2009;118(5):315–332. DOI: 10.1042/CS20090399.
7. Liao Z., Tan Z.W., Zhu P., Tan N.S. Cancer-associated fibroblasts in tumor microenvironment - Accomplices in tumor malignancy. *Cell Immunol.* 2019;343:103729. DOI: 10.1016/j.cellimm.2017.12.003.
8. Watts E.L., Perez-Cornago A., Appleby P.N., Albanes D., Ardanaz E., Black A. et al. The associations of anthropometric, behavioural and sociodemographic factors with circulating concentrations of IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-2 and IGFBP-3 in a pooled analysis of 16,024 men from 22 studies. *Int. J. Cancer.* 2019;145(12):3244–3256. DOI: 10.1002/ijc.32276.
9. Collins K.K. The diabetes-cancer link. *Diabetes Spectr.* 2014;27(4):276–280. DOI: 10.2337/diaspect.27.4.276.
10. Ferguson R.D., Gallagher E.J., Cohen D., Tobin-Hess A., Alikhani N., Novosyadlyy R. et al. Hyperinsulinemia promotes metastasis to the lung in a mouse model of Her2-mediated breast cancer. *Endocr. Relat. Cancer.* 2013;20(3):391–401. DOI: 10.1530/ERC-12-0333.
11. Mansor R., Holly J., Barker R., Biernacka K., Zielinska H., Koupparis A. et al. IGF-1 and hyperglycaemia-induced FOXA1 and IGFBP-2 affect epithelial to mesenchymal transition in prostate epithelial cells. *Oncotarget.* 2020;11(26):2543–2559. DOI: 10.18632/oncotarget.27650.
12. Muka T., Nano J., Jaspers L., Meun C., Bramer W.M., Hofman A. et al. Associations of steroid sex hormones and sex hormone-binding globulin with the risk of type 2 diabetes in women: A population-based cohort study and meta-analysis. *Diabetes.* 2017;66(33):577–586. DOI: 10.2337/db16-0473.
13. Ding E.L., Song Y., Malik V.S., Liu S. Sex differences of endogenous sex hormones and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2006;295(1):1288–1299. DOI: 10.1001/jama.295.11.1288.
14. Liu S., Sun Q. Sex differences, endogenous sex-hormone hormones, sex-hormone binding globulin, and exogenous disruptors in diabetes and related metabolic outcomes. *J. Diabetes.* 2018;10(6):428–441. DOI: 10.1111/1753-0407.12517.
15. Gambineri A., Pelusi C. Sex hormones, obesity and type 2 diabetes: is there a link? *Endocr. Connect.* 2019;8(1):R1–R9. DOI: 10.1530/EC-18-0450.
16. Felix A.S., Yang H.P., Bell D.W., Sherman M.E. Epidemiology of endometrial carcinoma: etiologic importance of hormonal and metabolic influences. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;943:3–46. DOI: 10.1007/978-3-319-43139-0_1.
17. Takahashi Y. The role of growth hormone and insulin-like growth factor-I in the liver. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(7):E1447. DOI: 10.3390/ijms18071447.
18. Bach L.A., Headey S.J., Norton R.S. IGF-binding proteins – the pieces are falling into place. *Trends Endocrinol. Metab.* 2005;16(5):228–234. DOI: 10.1016/j.tem.2005.05.005.
19. Fahlbusch P., Knebel B., Hörbelt T., Barbosa D.M., Nikolic A., Jacob S. et al. Physiological disturbance in fatty liver energy metabolism converges on IGFBP2 abundance and regulation in mice and men. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(11):4144. DOI: 10.3390/IJMS21114144.
20. Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Шевченко А.Н., Каплиева И.В., Трепятаки Л.К. Экспрессия маркеров неоангиогенеза и фибринолитической системы в динамике экспериментальной ишемии почки у крыс. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2015;(1):20–23.

Вклад авторов

Франциянц Е.М., Котиева И.М., Каплиева И.В. – разработка концепции и дизайна эксперимента. Сурикова Е.И., Нескубина И.В., Погорелова Ю.А. – анализ и интерпретация результатов. Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Шапошников А.В. – подготовка и редактирование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Трепятаки Л.К., Морозова М.И., Немашкалова Л.А., Шейко Е.А. – проведение эксперимента. Погорелова Ю.А., Черярина Н.Д. – выполнение ИФА-анализа. Франциянц Е.М., Бандовкина В.А., Каплиева И.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Франциянц Елена Михайловна – д-р биол. наук, профессор, зам. генерального директора по науке, рук. лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Бандовкина Валерия Ахтямовна – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, valerryana@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2302-8271>

Каплиева Ирина Викторовна – д-р мед. наук, и.о. руководителя лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, kaplirina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>

Шейко Елена Александровна – канд. биол. наук, профессор РАЕ, науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, esheiko@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9616-8996>

Сурикова Екатерина Игоревна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, sunsur2000@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4318-7587>

Нескубина Ирина Валерьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, neskubina.irina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

Трепитаки Лидия Константиновна – науч. сотрудник, лаборант, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, legolab69@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9749-2747>

Погорелова Юлия Александровна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, flora-73@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2674-9832>

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, scalolas.92@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>

Немашкалова Людмила Анатольевна – науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, tilde09@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2713-8598>

Котиева Инга Мовлиевна – д-р мед. наук, профессор, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Kukulik70@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0252-4708>

Шапошников Александр Васильевич – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, отделение общей онкологии, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@yandex.ru

Морозова Мария Игоревна, врач-педиатр, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, maria-morozova94@yandex.ru

(✉) **Бандовкина Валерия Ахтямовна**, valerryana@yandex.ru

Поступила в редакцию 17.02.2021;
одобрена после рецензирования 15.04.2021;
принята к публикации 25.05.2021



УДК 616-018-001.32:615.031:547.995.15]-07-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-137-144>

Скрининг режимов локального применения гиалуроновой кислоты для повышения эффективности лечения компрессионной травмы мягких тканей

Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Кузьмина О.Ю.

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины (ГНИИИ ВМ)
Россия, 195043, г. Санкт-Петербург, Лесопарковая, 4

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить состояние микроциркуляции и метаболической активности в мягких тканях области компрессии при экспериментальной компрессионной травме после локального введения гиалуроновой кислоты и определить эффективный режим ее применения.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 178 самцах крыс линии Вистар весом 280–340 г в возрасте 4–4,5 мес. Дизайн исследования включал в себя обезболивание, моделирование компрессионной травмы (КТ), локальное введение 1,75%-го раствора гиалуроновой кислоты (ГК) в область компрессии, системное внутривенное введение 0,9%-го раствора натрия хлорида ежедневно 3 сут, исследование микроциркуляции и метаболизма мягких тканей области повреждения через 3, 7, 14 и 28 сут после травмы.

Результаты. Раннее (через 3 ч после травмы) локальное применение ГК при КТ улучшает микроциркуляцию, повышает потребление кислорода, активизирует окислительный метаболизм скелетных мышц, что способствует уменьшению выраженности деструктивных процессов в области повреждения. Наиболее эффективным является двукратное введение ГК через 3 ч после прекращения компрессии и дополнительно через 24 ч после травмы.

Заключение. При компрессионной травме мягких тканей раннее локальное внутримышечное введение гиалуроновой кислоты в область повреждения в первые несколько часов после прекращения компрессии является саногенетически обоснованным способом коррекции ишемических повреждений.

Ключевые слова: компрессионная травма, травматическая ишемия мышц, микроциркуляция, метаболизм, гиалуроновая кислота, лазерная доплеровская флоуметрия

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным комитетом по этике ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ (протокол № 13 от 22.06.2020).

Для цитирования: Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Кузьмина О.Ю. Скрининг режимов локального применения гиалуроновой кислоты для повышения эффективности лечения компрессионной травмы мягких тканей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):137–144. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-137-144>.

Screening of local hyaluronic acid injection modes to increase the efficiency of treating crush injury of soft tissues

Shperling I.A., Shulepov A.V., Shperling N.V., Kuzmina O.Yu.

State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine
4, Lesoparkovaya Str., St. Petersburg, 195043, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the state of microcirculation and metabolic activity of the soft tissues in the compression area in experimental crush injury after local hyaluronic acid injection and to determine the effective mode of its application.

Materials and methods. The experiments were carried out on 178 male Wistar rats aged 4–4.5 months and weighing 280–340 g. The study design included anesthesia, modeling of crush injury (CI), local injection of 1.75% hyaluronic acid (HA) solution into the compression area, systemic intravenous injection of 0.9% sodium chloride solution daily for 3 days, and a study of microcirculation and metabolism of the soft tissues in the damaged area 3, 7, 14, and 28 days after the injury.

Results. Early (3 hours after the injury) local application of HA for CI improved microcirculation, increased oxygen consumption, and activated oxidative metabolism in the skeletal muscles, which helped reduce the severity of destructive processes in the damaged area. The most effective injection mode was two-fold administration of HA: 3 hours after the compression cessation and additionally 24 hours after the injury.

Conclusion. In the crush injury, early local intramuscular injection of HA into the damaged area in the first few hours after the cessation of compression is a sanogenetically substantiated method for correcting traumatic ischemia of the muscles.

Keywords: crush injury, traumatic ischemia of the muscles, microcirculation, metabolic state, hyaluronic acid, laser Doppler flowmetry

Conflict of interests. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at the State Scientific Research Testing Institute of Military Medicine (Protocol No. 13 of 22.06.2020).

For citation: Shperling I.A., Shulepov A.V., Shperling N.V., Kuzmina O.Yu. Screening of local hyaluronic acid injection modes to increase the efficiency of treating crush injury of soft tissues. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):137–144. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-137-144>.

ВВЕДЕНИЕ

Компрессионная травма (КТ) (синоним: травматическая ишемия мышц) – патологический процесс, который развивается после продолжительного сдавления мягких тканей, преимущественно скелетных мышц конечностей, приводящий к деструкции мышечных волокон, формированию объемных дефектов мышечной ткани с последующим их замещением соединительной тканью [1]. Для нормального функционирования скелетных мышц в физиологических условиях, а также при их регенерации после повреждения особое значение имеет состояние локальной микроциркуляции, которое обеспечивает метаболические потребности мышечной ткани в кислороде и нутриентах [2]. Высокий уровень ми-

крокровотока в мышцах стимулирует пролиферацию миобластов и облегчает миграцию в область повреждения других клеток раневого процесса [3]. Создание матрикс-опосредованных локальных условий для межклеточных взаимодействий способствует активации камбиальных клеточных источников мышечной ткани [4].

Одним из перспективных подходов является использование биodeградируемых гидрогелей на основе гиалуроновой кислоты (ГК), которые обеспечивают индукцию пролиферации и миграции малодифференцированных клеток [5]. Положительный регенеративный эффект ГК при локальном применении связан с улучшением микроциркуляции, активацией метаболизма, усилением ангиогенеза и репаративного миогистогенеза [6]. Даже однократное

локальное введение гиалуроновой кислоты в раннем посткомпрессионном периоде способствует восстановлению микрокровотока и активации метаболизма в скелетных мышцах области повреждения [7]. Для определения лечебного потенциала ГК и выявления механизмов ее влияния на регенерацию скелетных мышц при КТ существует необходимость проведения исследований по изучению эффектов ГК на микроциркуляцию и метаболизм тканей области повреждения после ее одно- и многократного введения в различные сроки посткомпрессионного периода. Это позволит разработать методику локального применения ГК в рамках усовершенствования методов лечения пострадавших с КТ.

Цель исследования: изучить состояние микроциркуляции и метаболической активности мягких тканей при экспериментальной компрессионной травме конечности после локального введения гиалуроновой кислоты в область повреждения в различные сроки после травмы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 178 половозрелых самцах крыс линии Вистар весом 310 ± 30 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область, Россия), в лаборатории ГНИИИ ВМ. Возраст крыс составил 4–4,5 мес. До начала эксперимента все животные проходили карантин в течение 14 сут (температуре воздуха 25 ± 2 °С, свободном доступе к пище, воде). Исследование одобрено локальным комитетом по этике ГНИИИ ВМ (протокол № 13 от 22.06.2020), проведено в соответствии с Директивой 2010/63/ЕС, Хельсинкской декларацией и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Дизайн исследования включал следующие этапы: обезболивание; моделирование КТ; локальное введение ГК в область компрессии; системное внутривенное введение 0,9%-го раствора натрия хлорида ежедневно в течение 3 сут; исследование микроциркуляции и метаболизма мягких тканей области повреждения через 3, 7, 14 и 28 сут после травмы.

С целью обезболивания до нанесения травмы крысам внутримышечно вводили золетил (Virbac, Франция) и ксилазин (Pharmamagist Ltd., Венгрия) по 10 мг/кг каждого препарата. Моделирование КТ осуществляли путем контролируемой механической компрессии мягких тканей бедра по методике, описанной нами ранее [7].

Все животные были разделены на 6 групп по 28 особей в каждой: 5 основных (I–V) и контрольная группы. Животным основной группы I (ГК-3) локально в область компрессии стерильным однора-

зовым шприцем всеерным способом вводили водный раствор ГК однократно через 3 ч после прекращения компрессии; группы II (ГК-24) – вводили ГК однократно через 24 ч; группы III (ГК-48) – вводили ГК однократно через 48 ч; группы IV (ГК-3 + 24) – вводили ГК двукратно, через 3 и 24 ч дополнительно; группы V (ГК-3 + 24 + 48) – вводили ГК троекратно, через 3 ч и дополнительно через 24 и 48 ч. Крысы контрольной группы ($n = 28$) локальное лечение не получали. Интактные животные ($n = 10$) компрессионному воздействию не подвергались.

Для исследования применяли ГК в виде водного раствора геля Hyalift 3,5 (Aesthetic Dermal S.L., Испания), который непосредственно перед введением разводили 0,9%-раствором натрия хлорида в соотношении 1 : 1 и получали рабочий 1,75%-й раствор ГК с необходимой текучестью. Раствор ГК вводили подопытным животным внутримышечно в область компрессии путем всеерного обкалывания в суммарном объеме 0,5–0,8 мл на одно животное. С целью профилактики обезвоживания всем животным с КТ в течение 3 сут ежедневно в хвостовую вену вводили 0,9%-й раствор натрия хлорида в дозе 2,0 мл/кг массы тела.

В ходе динамического наблюдения за подопытными животными проводили оценку микроциркуляции и метаболизма в скелетных мышцах области бедра задней (тазовой) конечности с помощью комплекса «ЛАКК-М» (НПП «ЛАЗМА», Россия) через 3, 7, 14 и 28 сут после травмы. Под наркозом проводили разрез кожи в области компрессии и устанавливали измерительный датчик прибора на мышцы бедра. Продолжительность измерения – 10 мин, глубина зондирования объема мышечной ткани – 1,0–1,5 мм. В режиме работы прибора «Лазерная доплеровская флоуметрия» измеряли амплитуду показателей M и σ (постоянная и переменная составляющие показателя микроциркуляции), рассчитывали коэффициент вариации (K_v , %) по формуле: $K_v = \sigma/M \times 100\%$. Увеличение и (или) уменьшение величины K_v указывает, соответственно, на улучшение и (или) ухудшение состояния микроциркуляции.

В режиме прибора «Оптическая тканевая оксиметрия» измеряли показатель сатурации кислородом крови в микроциркуляторном русле зондируемой биоткани (SO_2 , %), вычисляли индекс удельного потребления кислорода в ткани (U , усл. ед.). Интенсивность метаболизма скелетных мышц в области повреждения измеряли в режиме «Лазерная флуоресцентная диагностика» и определяли значение амплитуды спектров флуоресценции восстановленной формы никотинамидадениндинуклеотида ($A_{НАДН}$, усл. ед.) и окисленной формы флавинаде-

ниндинуклеотида ($A_{\text{ФЛД}}$, усл. ед.) с последующим расчетом флуоресцентного показателя потребления кислорода (ФПК, отн. ед.) по формуле: $\text{ФПК} = A_{\text{ФЛД}}/A_{\text{НАДН}}$. Комплексное состояние микроциркуляции и метаболизма скелетных мышц оценивали с помощью показателя эффективности кислородного обмена (ЭКО, отн. ед.) и вычисляли как $\text{ЭКО} = M \times U \times \text{ФПК}$. Показатели ЭКО и ФПК – наиболее информативные показатели, которые характеризуют взаимосвязь состояния микроциркуляции в тканях с интенсивностью обмена веществ в них.

Определение концентрации миоглобина и калия в сыворотке крови осуществляли на автоматическом биохимическом и иммуноферментном анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology Inc., США). Повышение калия свидетельствовало о разрушении клеток в результате травмы, миоглобина – о деструкции преимущественно мышечной ткани [1]. Для получения среднестатистических значений нормы в эксперименте использовали интактных крыс.

Полученные данные обработаны с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). После проверки гипотезы на нормальность с помощью критерия Колмогорова – Смирнова рассчитывали медиану, верхний и нижний квартили $Me (Q_{25}-Q_{75})$. При сравнении данных использовали непараметрический U -критерий Манна – Уитни, а различия между величинами считали достоверными, если вероятность их тождества оказывалась менее 5% ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гибель животных в основных, контрольной и группе сравнения наблюдалась в первые 4 сут и составила в среднем 33%. При КТ у животных отмечались выраженные нарушения микроциркуляции в области повреждения. Так, коэффициент K_v во все сроки наблюдения был снижен на 35–49% ($p < 0,05$) относительно интактных крыс, с минимальными значениями на 3–7-е сут после травмы. Нарушение локального кровотока в поврежденных мышцах приводило к снижению потребления кислорода тканями, показатель SO_2 вначале (3–7-е сут) повышался в 2,7–2,8 раза ($p < 0,05$), а затем к 28-м сут снижался незначительно (в 2,2 раза при $p < 0,05$) по сравнению с интактными животными, что свидетельствовало о высокой концентрации в крови неутилизированного тканями кислорода.

Схожие противоположно направленные изменения отмечались в динамике индекса U . Низкий уровень потребления кислорода мягкими тканями приводил к нарушению окислительных процессов в них. Показатель ФПК на 3-и сут повышался на 90,1%

($p < 0,05$) относительно значений у интактных животных с последующим восстановлением на 7–28-е сут. Зафиксированы изменения комплексного показателя ЭКО, который был максимально снижен к исходу 7-х сут в 10,7 раз (при $p < 0,05$) по сравнению со здоровыми животными. Возможно, повышение интенсивности метаболических процессов в мягких тканях области повреждения в ранние сроки после прекращения компрессии (3 сут) были обусловлены активацией анаэробного обмена с использованием энергетических ресурсов (гликоген), находящихся в сохраненных мышечных волокнах. Истощение этих запасов приводило к снижению окислительных процессов в тканях на фоне низкого потребления кислорода клетками.

Локальное введение ГК в область повреждения способствовало улучшению перфузии тканей. Наиболее выраженные положительные изменения изучаемых параметров отмечались у животных, которым вводили ГК, начиная с 3 ч после прекращения компрессии (ГК-3, ГК-3/24, ГК-3/24/48), причем в группах животных с дву- и троекратным введением показатели микроциркуляции были значительно лучше. Так, показатель K_v в группе ГК-3/24 и ГК-3/24/48 повышался на 38,6–60,3% ($p < 0,05$), чем в контрольной группе во все сроки наблюдения и на 9,9–11,2% ($p < 0,05$), чем в группе ГК-3 и ГК-24 в раннем посткомпрессионном периоде (3–7-е сут). Введение ГК в более поздние сроки (48 ч) не приводило к усилению микрокровотока в области повреждения. Следует отметить, что показатели перфузии тканей во всех опытных группах в течение всего периода наблюдения имели положительную динамику. По данным K_v , к исходу 28-х сут в группах ГК-3/24 и ГК-3/24/48 уровень микроциркуляции в области повреждения восстанавливался до значений у интактных животных.

Улучшение микрокровотока в области повреждения способствовало повышению потребления кислорода тканями. Так, по данным SO_2 и U , интенсивность утилизации кислорода была наибольшей у животных из групп ГК-3, ГК-24, ГК-3/24 и ГК-3/24/48 во все сроки наблюдения, причем в группах с дву- и троекратным введением показатель SO_2 на 3 и 28 сут был ниже на 7,6–16,6% ($p < 0,05$), а показатель U выше на 20,0% ($p < 0,05$) только на 28 сут, чем у крыс из группы ГК-3. Наихудшие значения показателей потребления кислорода отмечались после инъекции ГК через 48 ч после прекращения компрессии. Полного восстановления сатурации тканей кислородом в области компрессии после применения ГК не наблюдалось.

У всех животных из опытных групп отмечались выраженные изменения соотношения амплитуды

ФАД и НАДН. Вследствие этого ФПК в группах ГК-3 и ГК-24 был повышен на 14–28-е сут, а в группах ГК-3/24 и ГК-3/24/48 немного раньше, начиная с 7-х сут – в 1,8–2,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с животными контрольной группы. Позднее применение ГК через 48 ч после прекращения компрессии приводит к усилению метаболизма в ранние сроки (3 сут) за счет активации анаэробных процессов и не имеет достоверных различий с крысами из контрольной группы. Изменения микроциркуляции, потребления кислорода и метаболизма в тканях области компрессии нашли отражение в динамике комплексного показателя ЭКО, который во всех экспериментальных группах имел минимальные значения на 7-е сут.

Максимальные значения ЭКО наблюдалось в группах ГК-3 и ГК-24 на 14–28-е сут и в группах ГК-3/24 и ГК-3/24/48 – во все сроки наблюдения. Применение ГК спустя 48 ч приводит к незначительному повышению ЭКО только к исходу 28 сут. Двух- и трехкратное введение ГК существенно повышает эффективность кислородного обмена в области повреждения (на 37,3–48,2%, $p < 0,05$) на 14–28-е сут по сравнению с крысами из группы с однократным ранним (через 3 ч) введением ГК. Следует отметить, что у крыс из группы ГК-3/24 и ГК-3/24/48 показатель ЭКО к концу периода наблюдения (28 сут) восстанавливался до значений у интактных животных. Учитывая, что показатель ЭКО отражает состояние тканевой перфузии, сатурации кислородом и метаболизма, представлен-

ная его динамика свидетельствует о положительном и (или) отрицательном влиянии ГК на тканевой обмен при раннем и (или) позднем ее введении.

Нарушение метаболизма при КТ приводит к развитию некробиотических процессов в мягких тканях. Продукты распада поврежденных мышц попадают в системный кровоток с развитием миоглобинемии и гиперкалиемии. Раннее однократное и (или) двукратное локальное введение ГК (через 3 и 24 ч) приводило к снижению уровня миоглобина на 19,7–38,7% ($p < 0,05$) на 3–14-е сут относительно животных контрольной группы. Применение ГК в поздние сроки (через 48 ч) не вызывало снижения миоглобина в крови. К исходу периода наблюдения выраженность миоглобинемии уменьшается, но остается в 4,1 раза выше ($p < 0,05$), чем у интактных животных. Сходные изменения отмечаются в динамике уровня калия крови, который после введения ГК через 3 и 24 ч снижается на 3 сут в среднем на 36,8% ($p < 0,05$) относительно животных контрольной группы. В дальнейшем (7–28-е сут) концентрация калия крови нормализуется и соответствует значениям у интактных крыс.

В табл. 1 и 2 группы животных, имеющие лучшие значения показателей микроциркуляции, потребления кислорода и окислительного метаболизма, а также низкий уровень миоглобина и калия в сыворотке крови, расположены в верхней части таблицы, а худшие – в нижней.

Таблица 1

Показатели микроциркуляции и метаболизма в мягких тканях бедра крыс после локального введения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной компрессионной травме, Ме (Q_{25} – Q_{75})							
Группа исследования	Срок наблюдения после травмы, сут	n	K_v , %	SO_2 , %	U, усл. ед.	ФПК, усл. ед.	ЭКО, отн. ед.
Интактные животные (n = 10)		10	13,5 (12,5–14,3)	31,6 (30,3–32,9)	3,10 (3,04–3,16)	0,51 (0,43–0,56)	22,5 (21,5–23,6)
Опытная группа IV (ГК-3/24), n = 28	3	8	10,9 ¹⁻⁴ (10,4–11,7)	64,1 ¹⁻⁴ (62,7–65,4)	1,50 ¹⁻³ (1,42–1,66)	0,90 ¹ (0,84–0,96)	9,7 ¹⁻³ (8,6–10,9)
	7	8	11,7 ¹⁻⁴ (11,1–12,3)	78,6 ¹⁻³ (77,5–80,2)	1,22 ¹ (1,10–1,30)	0,63 ^{2,3} (0,57–0,75)	6,1 ¹⁻³ (4,8–7,6)
	14	6	11,8 ^{2,3} (11,3–12,5)	59,8 ¹⁻³ (58,0–60,6)	1,64 ¹⁻³ (1,59–1,74)	0,79 ¹⁻³ (0,70–0,89)	12,6 ¹⁻⁴ (11,7–13,8)
	28	6	12,2 ^{2,3} (11,6–12,9)	39,8 ¹⁻⁴ (39,0–40,6)	2,46 ¹⁻⁴ (2,42–2,59)	0,90 ¹⁻³ (0,81–1,00)	22,8 ²⁻⁴ (21,6–24,6)
Опытная группа V (ГК-3/24/48), n = 28	3	8	11,4 ¹⁻⁴ (10,3–11,8)	63,5 ¹⁻⁴ (62,1–64,8)	1,54 ¹⁻³ (1,46–1,70)	0,89 ¹ (0,85–0,97)	10,1 ¹⁻³ (9,0–11,2)
	7	8	11,8 ¹⁻⁴ (11,2–12,4)	77,8 ¹⁻³ (76,7–79,4)	1,26 ¹ (1,16–1,39)	0,60 ² (0,52–0,73)	5,8 ¹⁻³ (4,6–7,0)
	14	6	12,0 ^{2,3} (11,4–12,6)	60,1 ¹⁻³ (59,0–62,1)	1,63 ¹⁻³ (1,58–1,73)	0,81 ¹⁻³ (0,72–0,91)	12,5 ¹⁻⁴ (11,1–13,8)
	28	6	12,1 ^{2,3} (11,4–12,7)	40,2 ¹⁻⁴ (39,4–41,0)	2,44 ¹⁻⁴ (2,40–2,57)	0,89 ¹⁻³ (0,79–0,94)	21,9 ²⁻⁴ (21,3–23,6)
Опытная группа I (ГК-3), n = 28	3	8	9,8 ^{1,2} (8,7–10,2)	69,4 ¹⁻³ (67,5–71,4)	1,38 ^{1,2} (1,34–1,48)	0,90 ¹ (0,84–0,98)	8,6 ^{1,2} (7,5–9,8)
	7	8	10,1 ¹⁻³ (9,2–10,5)	79,7 ¹⁻³ (77,3–80,9)	1,20 ¹ (1,10–1,33)	0,50 (0,41–0,58)	4,1 ¹ (2,7–5,1)

Окончание табл. 1

Группа исследования	Срок наблюдения после травмы, сут	<i>n</i>	$K_{\text{с}}$, %	SO_2 , %	<i>U</i> , усл. ед	ФПК, усл. ед.	ЭКО, отн. ед
Опытная группа I (ГК-3), <i>n</i> = 28	14	6	10,6 ^{1,2} (10,0–11,3)	62,1 ¹⁻³ (61,0–64,1)	1,58 ¹⁻³ (1,55–1,65)	0,77 ¹⁻³ (0,70–0,82)	8,5 ¹⁻³ (7,5–10,1)
	28	6	11,1 ^{1,2} (10,4–11,7)	47,7 ¹⁻³ (46,8–48,6)	2,05 ¹⁻³ (2,02–2,13)	0,89 ¹⁻³ (0,79–1,00)	16,6 ¹⁻³ (15,2–17,8)
Опытная группа II (ГК-24), <i>n</i> = 28	3	8	9,3 ^{1,2} (8,6–10,3)	72,8 ¹⁻³ (70,9–73,9)	1,35 ¹ (1,17–1,42)	0,93 ¹ (0,85–0,98)	8,4 ^{1,2} (7,2–9,6)
	7	8	9,7 ¹⁻³ (9,0–10,7)	82,5 ¹⁻³ (80,2–83,8)	1,19 ¹ (1,03–1,33)	0,46 (0,34–0,56)	3,4 ¹ (2,0–4,4)
	14	6	10,4 ^{1,2} (9,5–11,2)	65,6 ¹⁻³ (64,2–66,5)	1,49 ¹⁻³ (1,46–1,56)	0,67 ^{1,2} (0,57–0,77)	6,7 ^{1,2} (5,2–7,8)
	28	6	11,0 ^{1,2} (10,3–11,6)	45,4 ¹⁻³ (44,0–46,7)	2,16 ¹⁻³ (2,08–2,17)	0,79 ¹⁻³ (0,70–0,88)	15,2 ¹⁻³ (13,9–16,5)
Опытная группа III (ГК-48), <i>n</i> = 28	3	8	8,3 ¹ (7,7–8,8)	80,1 ^{1,2} (77,7–81,5)	1,22 ¹ (1,18–1,32)	0,95 ¹ (0,89–1,03)	6,4 ¹ (5,2–7,5)
	7	8	7,9 ¹ (7,2–8,7)	86,1 ¹ (84,4–88,3)	1,14 ¹ (1,02–1,26)	0,41 (0,34–0,49)	2,8 ¹ (1,6–4,3)
	14	6	9,2 ¹ (8,3–9,9)	74,5 ^{1,2} (72,7–78,0)	1,32 ¹ (1,24–1,39)	0,53 (0,44–0,62)	4,5 ¹ (3,4–6,1)
	28	6	9,9 ¹ (9,1–10,4)	57,1 ^{1,2} (55,3–58,0)	1,72 ^{1,2} (1,71–1,74)	0,57 (0,48–0,65)	8,4 ^{1,2} (7,2–9,7)
Контрольная группа (без локального лечения), <i>n</i> = 28	3	8	7,4 ¹ (6,7–8,0)	86,5 ¹ (84,6–87,6)	1,11 ¹ (0,95–1,15)	0,97 ¹ (0,89–1,06)	6,0 ¹ (5,1–6,9)
	7	8	6,8 ¹ (6,3–7,8)	89,7 ¹ (87,4–91,0)	1,07 ¹ (0,91–1,21)	0,36 (0,27–0,44)	2,1 ¹ (0,8–3,2)
	14	6	8,5 ¹ (7,7–9,2)	81,4 ¹ (80,0–82,3)	1,20 ¹ (1,09–1,23)	0,35 (0,26–0,45)	2,6 ¹ (1,1–3,7)
	28	6	8,8 ¹ (7,9–9,5)	69,1 ¹ (67,4–70,5)	1,42 ¹ (1,39–1,47)	0,34 (0,28–0,48)	3,7 ¹ (2,3–4,9)

^{1,2,3,4} $p < 0,05$ – различия с показателями у животных интактной, контрольной, ГК-48, ГК-3 группами (здесь и в табл. 2).

Таблица 2

Динамика содержания миоглобина и калия в сыворотке крови у крыс после локального введения гиалуроновой кислоты в разных режимах при экспериментальной компрессионной травме, $Me (Q_{25}-Q_{75})$

Группа исследования	Срок наблюдения после травмы, сут	<i>n</i>	Миоглобин, нг/мл	Калий, ммоль/л
Интактные животные, <i>n</i> = 10		10	77,5 (69,0–90,0)	4,1 (3,9–4,4)
Опытная группа IV (ГК-3/24), <i>n</i> = 28	3	8	780,4 ^{1,2} (731,8–829,0)	4,8 ^{1,2} (4,5–5,4)
	7	8	647,5 ¹⁻³ (583,0–660,7)	4,6 (4,2–4,9)
	14	6	409,0 ^{1,2} (357,1–461,1)	3,6 (3,1–4,0)
	28	6	322,4 ¹ (272,2–374,4)	3,6 (3,3–4,4)
Опытная группа V (ГК-3/24/48), <i>n</i> = 28	3	8	786,2 ^{1,2,3} (740,9–831,2)	4,9 ^{1,2} (4,7–5,3)
	7	8	634,2 ^{1,2} (586,8–679,1)	4,5 (4,0–4,8)
	14	6	411,4 ^{1,2} (368,9–453,0)	3,6 (3,3–3,8)
	28	6	318,1 ¹ (267,3–370,3)	3,6 (3,3–4,2)
Опытная группа I (ГК-3), <i>n</i> = 28	3	8	776,1 ^{1,2} (716,9–838,3)	5,0 ^{1,2} (4,7–5,6)
	7	8	694,0 ^{1,2,3} (630,4–707,3)	4,1 (3,5–4,4)
	14	6	447,2 ^{1,2} (386,0–507,2)	3,5 (3,3–3,9)
	28	6	354,6 ¹ (303,9–406,4)	4,4 (4,1–5,0)
Опытная группа II (ГК-24), <i>n</i> = 28	3	8	794,9 ^{1,2} (741,2–848,4)	5,8 ^{1,2} (5,5–6,4)
	7	8	768,2 ^{1,2} (721,2–815,7)	4,5 (3,9–4,8)
	14	6	549,3 ^{1,2} (497,9–601,6)	3,6 (3,3–3,8)
	28	6	346,5 ¹ (295,7–398,3)	3,8 (3,5–4,4)
Опытная группа III (ГК-48), <i>n</i> = 28	3	8	912,6 ¹ (861,9–964,7)	5,8 ^{1,2} (5,5–6,4)
	7	8	804,1 ¹ (757,1–851,6)	4,5 (3,9–4,8)
	14	6	584,5 ¹ (542,0–626,1)	3,4 (3,2–3,8)
	28	6	340,0 ¹ (289,2–392,2)	3,8 (3,5–4,4)
Контрольная группа (без локального лечения), <i>n</i> = 28	3	8	971,0 ¹ (959,5–1000,5)	7,6 ¹ (7,3–8,2)
	7	8	890,5 ¹ (832,50–960,0)	4,8 (4,2–5,1)
	14	6	701,0 ¹ (636,0–758,0)	3,6 (3,1–4,0)
	28	6	363,5 ¹ (318,0–409,0)	3,1 (2,8–3,9)

Таким образом, локальное введение ГК в ранние сроки после устранения компрессии (3 ч) при КТ приводит к улучшению микрокровотока в области повреждения, усилению потребления кислорода и активации метаболических процессов в тканях, что снижает выраженность деструктивных процессов в них. Лучшие эффекты наблюдались в группе животных, которым локально в область сдавления двукратно (через 3 и дополнительно через 24 ч после прекращения компрессии) вводили раствор ГК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных результатов показал, что в мягких тканях области сдавления при КТ развивались выраженные нарушения микроциркуляции и метаболизма с преобладанием процессов анаэробного пути окисления. В ответ на локальное введение ГК наблюдалось улучшение микрокровотока в поврежденных мягких тканях, о чем свидетельствовало повышение коэффициента K_v на 32,4–72,1% ($p < 0,05$) по сравнению животными контрольной группы. При этом уровень кровотока в области повреждения имел наибольшие значения после локального введения ГК через 3 и 24 ч дополнительно в ранние сроки (3–7-е сут) после прекращения компрессии.

Восстановление нарушенной микроциркуляции способствовало повышению сатурации тканей кислородом, что нашло отражение в динамике показателей SO_2 и U . Так, после локального применения ГК вне зависимости от режима ее дозирования наблюдалось снижение SO_2 во все сроки наблюдения, что свидетельствовало о повышении потребления тканями кислорода на фоне восстановления кровообращения. Наибольшее снижение значений показателя SO_2 отмечалось у животных, которым вводили ГК через 3 и 24 ч дополнительно. Значимые изменения были выявлены при оценке показателя U , который имел тенденцию к увеличению при повышении потребления кислорода тканями.

Локальное применение ГК приводило к повышению U преимущественно в поздние сроки (14–28-е сут), что, возможно, обусловлено кислородными потребностями интенсивно регенерирующих мягких тканей. Раннее однократное или двукратное (через 3 и 24 ч дополнительно) введение ГК способствовало увеличению потребления кислорода тканями не только на 14–28-е сут, но еще и на 3-и сут наблюдения. Применение ГК в поздние сроки (через 24 или 48 ч) после травмы приводило к повышению усвояемости кислорода тканями лишь только к концу периода наблюдения (28-е сут).

Средние значения комплексных показателей ФПК и ЭКО после локального применения ГК, отражающие интенсивность окислительного метабо-

лизма в мягких тканях, подвергшихся компрессии, соответствовали показателям микроциркуляторного статуса и уровня кислородопотребления. Наиболее значимый положительный эффект ГК наблюдался в группах с ранним его введением (через 3 и 24 ч после устранения компрессии): в группе ГК-3 и ГК-24 на 14–28-е сут, в группе ГК-3/24 – 7–28-е сут. Позднее введение ГК (через 48 ч) существенно не влияло на интенсивность обменных процессов в тканях области повреждения. Динамика показателя ЭКО имела четкую зависимость от режима применения ГК. Так, локальное введение ГК в группе животных ГК-48 способствовало увеличению его значений на 28-е сут, в группе ГК-24 – на 14–28-е сут, группах ГК-3, ГК3/24 и ГК-3/24/48 – в течение всего срока наблюдения относительно значений у крыс контрольной группы.

При повреждении мягких тканей основной задачей лечебных мероприятий является замещение тканевого дефекта и активация механизмов регенерации, которые возможны только при восстановлении межклеточных взаимодействий [8]. ГК, находящаяся в области повреждения, обладающая гидрофильностью и высокой биосовместимостью, обеспечивает условия для диффузии питательных веществ, кислорода, а также миграции клеток иммунной системы [9].

Положительные эффекты ГК в раннем посттравматическом периоде связаны с облегчением миграции иммунных клеток, способных ограничить зону некроза и утилизировать разрушенные клеточные структуры из тканей. Проведенное исследование показало, что наиболее выраженное действие ГК проявляется при ее раннем локальном введении (через 3 ч), в то время как позднее введение (через 48 ч) малоэффективно. Объяснением этому могут служить знания физиологических механизмов восстановления поврежденных тканей, которые активируются сразу после травмы. Эти процессы генетически детерминированы и осуществляются под нейрогуморальным контролем [10].

В ранние сроки после прекращения компрессии при КТ в тканях области повреждения запускаются локальные защитные системы в ответ на массивную секрецию медиаторов воспаления, необходимую для локализации очага повреждения, устранения факторов вызвавшего его и элиминации продуктов распада. Все это способствует сохранению метаболической активности клеток, находящихся в некробиозе, и запускает процесс регенерации. Таким образом биологическое действие ГК осуществляется как на клеточном, так и на межклеточном уровнях. Клеточные эффекты ГК обусловлены ее способностью активировать рецепторный аппарат клеточных мембран и изменять ионные потоки, межклеточные направлены на поддержание гоме-

остаза тканей путем формирования биохимически стабильной межклеточной среды. В связи с этим становится понятной неэффективность локального введения ГК в область повреждения при КТ в сравнительно более поздние сроки после повреждения (48 ч). В то же время однократное (через 3 ч) и многократное раннее (через 3 и 24 ч дополнительно) локальное введение ГК патогенетически обосновано и оказывает положительное влияние на формирование саногенеза при КТ.

ВЫВОДЫ

1. Раннее локальное введение гиалуроновой кислоты в область повреждения через 3 ч после прекращения компрессии улучшает микроциркуляцию, повышает потребление кислорода тканями и положительно влияет на метаболизм скелетных мышц, снижает выраженность деструктивных процессов в них.

2. Наиболее эффективным способом коррекции ишемических повреждений является раннее многократное введение гиалуроновой кислоты в область компрессии через 3 и 24 ч дополнительно после травмы.

3. При компрессионной травме однократное или многократное внутримышечное введение гиалуроновой кислоты в область повреждения в раннем посткомпрессионном периоде является саногенетически обоснованным способом коррекции повреждений ишемического генеза.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бордаков В.Н., Алексеев С.А., Чуманевич О.А., Пацай Д.И., Бордаков П.В. Синдром длительного сдавления. *Военная медицина*. 2013;26(1):26–32.
2. Latroche C., Gitiaux C., Chrétien F., Desguerre I., Mounier R., Chazaud B. Skeletal muscle microvasculature: A highly dynamic lifeline. *Physiology (Bethesda)*. 2015;30(6):417–427. DOI: 10.1152/physiol.00026.2015.
3. Ronzoni F.L., Giarratana N., Crippa S., Quattrocchi M., Cassano M., Ceccarelli G. et al. Guide cells support muscle regeneration and affect neuro-muscular junction organization. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):1939. DOI: 10.3390/ijms22041939.
4. Lev R., Seliktar D. Hydrogel biomaterials and their therapeutic potential for muscle injuries and muscular dystrophies. *J.R. Soc. Interface*. 2018;15(138):20170380. DOI: 10.1098/rsif.2017.0380.
5. Leng Y., Abdullah A., Wendt M.K., Calve S. Hyaluronic acid, CD44 and RHAMM regulate myoblast behavior during embryogenesis. *Matrix Biol.* 2019;78–79:236–254. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.08.008.
6. Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Шперлинг И.А. Регенеративные эффекты регионарного применения мезенхимных стромальных клеток человека в геле гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2018;1:75–83. DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60.
7. Шперлинг И.А., Шулепов А.В., Шперлинг Н.В., Юркевич Ю.В., Кузьмина О.Ю., Арутюнян А.А. и др. Саногенетические и фармакологические эффекты локального применения гиалуроновой кислоты при экспериментальной компрессионной травме мягких тканей. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020;10(2):53–60. DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-2-53-60.
8. Шибаев Е.Ю., Иванов П.А., Неведров А.В., Лазарев М.П., Власов А.П., Цоглин Л.Л. и др. Тактика лечения посттравматических дефектов мягких тканей конечностей. *Неотложная медицинская помощь им. Склифосовского*. 2018;7(1):37–43. DOI: 10.23934/2223-9022-2018-7-1-37-43.
9. Сигаева Н.Н., Колесов С.В., Назаров П.В., Вильданова Р.Р. Химическая модификация гиалуроновой кислоты и ее применение в медицине. *Вестник Башкирского университета*. 2012;17(3):1220–1241.
10. Vyas K.S., Vasconez H.C. Wound healing: biologics, skin substitutes, biomembranes and scaffolds. *Healthcare (Basel)*. 2014;2(3):356–400. DOI: 10.3390/healthcare2030356.

Информация об авторах

Шперлинг Игорь Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, зам. начальника НИИЦ ВМВМТ, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniivm_2@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7029-8602>

Шулепов Александр Васильевич – канд. мед. наук, науч. сотрудник, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, soash@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6134-809X>

Шперлинг Наталья Владимировна – д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniivm_2@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7865-486X>

Кузьмина Оксана Юрьевна – науч. сотрудник, ГНИИИ ВМ, г. Санкт-Петербург, gniivm_2@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4095-985X>

(✉) Шулепов Александр Васильевич, soash@mail.ru

Поступила в редакцию 10.12.2021;
одобрена после рецензирования 14.02.2022;
принята к публикации 10.03.2022

УДК 616.24-002-039.57-036-07:616.379-008.64
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-145-151>

Особенности клиники и течения внебольничной пневмонии на фоне сахарного диабета 2-го типа

Зайцева А.А., Букреева Е.Б., Агеева Т.С., Зоркальцев М.А., Саприна Т.В., Удодов В.Д., Ардаширов М.М.

*Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

РЕЗЮМЕ

Внебольничная пневмония остается ведущей инфекционной причиной смерти в мире. Многие факторы влияют на прогноз и исход данного заболевания. По сравнению со здоровыми лицами пациенты с сахарным диабетом подвергаются повышенному риску инфекций дыхательных путей, таких как внебольничная пневмония. Сахарный диабет способствует развитию микроангиопатии легких, изменяя функциональное состояние данного органа.

В многочисленных исследованиях пациентов с сахарным диабетом получены данные о состоянии легких инструментальными методами, такими как спирография, вентилиционная сцинтиграфия, перфузионная компьютерная томография и метод определения диффузионной способности легких по монооксиду углерода. У пациентов с внебольничной пневмонией сахарный диабет вызывает стертую клиническую симптоматику, приводит к тяжелому течению внебольничной пневмонии и способствует развитию осложнений. Диагностика же функционального состояния легких у пациентов с внебольничной пневмонией на фоне сахарного диабета не изучена.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, сахарный диабет

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Зайцева А.А., Букреева Е.Б., Агеева Т.С., Зоркальцев М.А., Саприна Т.В., Удодов В.Д., Ардаширов М.М. Особенности клиники и течения внебольничной пневмонии на фоне сахарного диабета 2-го типа. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(1):145–151. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-145-151>.

Features of the clinical presentation and course of community-acquired pneumonia against the background of type 2 diabetes mellitus

Zaytseva A.A., Bukreeva E.B., Ageeva T.S., Zorkaltsev M.A., Saprina T.V., Udodov V.D., Ardashirov M.M.

*Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

Community-acquired pneumonia remains the leading infectious cause of death around the world. Many factors influence the prognosis and outcome of this disease. Compared with healthy individuals, patients with diabetes

✉ Зайцева Анна Александровна, annanollz@mail.ru

mellitus are at increased risk of respiratory tract infections, such as community-acquired pneumonia. Diabetes mellitus contributes to the development of pulmonary thrombotic microangiopathy, changing the functional state of the lungs.

In numerous studies involving patients with diabetes mellitus, data on the state of the lungs were obtained by instrumental tests, such as spirometry, ventilation / perfusion scintigraphy, perfusion computed tomography, and diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide. In patients with community-acquired pneumonia, diabetes mellitus causes vague clinical symptoms, leads to a severe course of the disease, and contributes to development of complications. Diagnosing the functional state of the lungs in patients with community-acquired pneumonia against the background of diabetes mellitus has not been studied.

Keywords: community-acquired pneumonia, diabetes mellitus

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

For citation: Zaytseva A.A., Bukreeva E.B., Ageeva T.S., Zorkaltsev M.A., Saprina T.V., Udodov V.D., Ardashirov M.M. Features of the clinical presentation and course of community-acquired pneumonia against the background of type 2 diabetes mellitus. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):145–151. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-145-151>.

ВВЕДЕНИЕ

Внебольничная пневмония является одной из основных причин экстренной госпитализации пациентов в стационары терапевтического профиля и потенциально летальным заболеванием [1, 2]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), инфекции нижних дыхательных путей, включая пневмонию, остаются самыми смертоносными инфекционными заболеваниями, от которых в 2015 г. в мире умерли 3,2 млн человек. Тяжесть и исход внебольничной пневмонии определяет и коморбидная патология, такая как хроническая обструктивная болезнь легких, сердечная недостаточность, цереброваскулярные заболевания, заболевания почек, метаболический синдром и сахарный диабет [2–9].

В многочисленных работах подробно освещаются особенности сочетания сердечно-сосудистой патологии и сахарного диабета как взаимно отягощающих заболеваний. Тогда как только в ряде исследований проводится анализ особенностей течения внебольничной пневмонии на фоне сахарного диабета. В большинстве имеющихся работ представлены данные по частоте внебольничной пневмонии, а также анализу риска летального исхода внебольничной пневмонии на фоне сахарного диабета.

В настоящее время сахарный диабет – одно из наиболее распространенных хронических заболеваний в мире. В 2016 г. ВОЗ определила его как одну из наиболее опасных неинфекционных эпидемий XXI в. наряду с сердечно-сосудистыми, онкологическими заболеваниями и хронической обструктивной болезнью легких [10]. Численность больных сахарным ди-

абетом увеличивается со скоростью, опережающей прогнозы экспертов Международной диабетической федерации. В России, по данным крупного эпидемиологического исследования NATION, проведенного с 2013 по 2015 г., направленного на активное выявление сахарного диабета 2-го типа (СД2) среди населения России, его распространенность составляет 5,4% (около 6,5 млн человек) [11]. Осложнения сахарного диабета разделяются на макрососудистые и микрососудистые. К последним относят осложнения, влияющие на почки, сетчатку глаз, нервную систему [12, 13].

В настоящее время появляется все больше данных о том, что одним из органов-мишеней диабетической микроангиопатии являются легкие. Обширная капиллярная сеть данного органа участвует в процессе газообмена посредством альвеол, образуя единую мембрану. Гипергликемическое состояние вызывает структурные изменения стенки капилляра легкого, которые отрицательно влияют на альвеоларно-капиллярный барьер, формируют микроангиопатию в диабетическом легком, изменяют функциональное состояние всего органа [14]. Так, доказано, что у пациентов с сахарным диабетом снижена функция легких независимо от продолжительности течения диабета [15, 16]. В исследовании W.A. Davis и соавт. в группе пациентов с сахарным диабетом без заболевания легких, при снижении показателей функции внешнего дыхания на 4%, показано увеличение смертности от всех причин на 12% [17].

Также обсуждается влияние сахароснижающих препаратов на увеличение функции внешнего дыхания (объем форсированного выдоха за первую се-

кунду (ОФВ₁), жизненный объем легких) на 10% по сравнению с исходным уровнем в группе пациентов с СД2 [18].

В продольном наблюдательном исследовании, проведенном в США в 2005 г., включавшем 1 433 мужчин в возрасте 21–88 лет, были проанализированы показатели функции внешнего дыхания, уровня гликемии и выявлены достоверно низкие значения ОФВ₁ и форсированной жизненной емкости легких за несколько лет до того, как у них развился сахарный диабет, по сравнению с пациентами того же возраста без развития данного заболевания [19].

N. Guvener и соавт. методом диффузии газов показали замедление альвеолярно-капиллярной проницаемости в группе больных сахарным диабетом по сравнению с группой контроля ($p = 0,037$) [20]. Вместе с тем в литературе имеются прямо противоположные данные. В исследовании К. Özşahin метод диффузии газов не показал разницы в альвеолярно-капиллярной проницаемости между группой пациентов с сахарным диабетом и здоровыми людьми, тогда как она была значительно снижена в группе больных сахарным диабетом ($p = 0,01$) при использовании метода вентилиционной сцинтиграфии [21]. Это подтверждает, что нарушенная функция легких у больных сахарным диабетом вызывает субклинические изменения в структуре легких, которые, вероятно, при остром инфекционном процессе, таком как внебольничная пневмония, могут утяжелять его течение и способствовать развитию осложнений.

В обзоре, посвященном исследованию категории лиц, подверженных инвазивным пневмококковым инфекциям, указано, что именно при сахарном диабете значительно повышается восприимчивость к указанным инфекциям, включая внебольничную пневмонию [22, 23]. Сахарный диабет, по мнению большинства авторов, способствует более продолжительному пребыванию в стационаре и является предиктором повышенной смертности пациентов с внебольничной пневмонией [24, 25]. Так, в исследованиях, проведенных в Дании в 2007–2008 гг. J.B. Kognum и соавт., показано, что у пациентов с уровнем гликированного гемоглобина $\geq 9\%$ достоверно часто наблюдается более тяжелое течение внебольничной пневмонии и увеличивается риск госпитализации по поводу пневмонии на 60% [26, 27].

По данным многоцентрового проспективного когортного исследования CAPNETZ в период с 2007 по 2014 г., смертность в течение первого месяца после госпитализации по поводу внебольничной пневмонии у пациентов с сахарным диабетом составила 12,1% по сравнению с пациентами без диабета 3,8% ($p = 0,001$) [28]. В исследовании, проведенном в Япо-

нии в 2005–2011 гг., смертность в течение первого месяца среди пациентов с сахарным диабетом, госпитализированных по поводу внебольничной пневмонии, достоверно связана с уровнем гипергликемии во время госпитализации ($p < 0,0001$) [29]. S. Yende и соавт. показали, что госпитализация по поводу внебольничной пневмонии является достоверным фактором риска летального исхода в течение первого года после стационарного лечения у пациентов с сахарным диабетом (коэффициент риска = 1,87) [23]. M. Falcone и соавт. выявили достоверно более высокие значения годовой смертности у пациентов с сахарным диабетом, перенесших госпитализацию по поводу внебольничной пневмонии (30,3% против 16,8%; $p < 0,001$) по сравнению с другими причинами госпитализации [9].

Факторами риска летальности пациентов с внебольничной пневмонией на фоне СД2 являлись бактериемия, септический шок и наличие сопутствующей коморбидной патологии [30, 31]. Доказано, что значительное влияние на смертность у пациентов с внебольничной пневмонией на фоне сахарного диабета оказывает возраст.

На основании результатов исследования NHANES III (США) и анализа данных свидетельств о смерти 3 770 человек в возрасте 65 лет и старше установлено, что увеличение возраста на год повышает риск смерти от внебольничной пневмонии на 16%. Показано, что повышение риска смерти от внебольничной пневмонии наблюдается не только у пациентов с сахарным диабетом – 34,1 на 10 тыс. человеко-лет, но и у пациентов с нарушением толерантности к глюкозе – 16,9 на 10 тыс. человеко-лет [23, 32].

Результаты проспективного наблюдательного когортного исследования (6 лет), проведенного в Финляндии (2014), показали, что сахарный диабет и постпрандиальная гипергликемия, обнаруженная впервые среди недиабетической популяции пациентов с внебольничной пневмонией, ассоциируются с повышенным риском поздней смертности в течение нескольких лет после перенесенной внебольничной пневмонии. Коэффициент смертности в конце наблюдения составил 54, 37 и 10% среди пациентов с диабетом, пациентов без диабета с обнаруженной постпрандиальной гипергликемией и пациентов без диабета и без постпрандиальной гипергликемии соответственно ($p < 0,001$). Более того, гипергликемия у пациентов тяжелой внебольничной пневмонией имеет прогностическую ценность в качестве критерия тяжести состояния [33]. Только в единичных работах показаны практически одинаковые данные по смертности, но, как полагали сами авторы, это обусловлено тем, что пациенты, включенные в иссле-

дование, были старше и имели более тяжелое состояние при поступлении, поэтому влияние сахарного диабета на смертность оказалось незначительным [12, 34, 35].

При этом у многих авторов не вызывает сомнений, что для сахарного диабета характерно повышение уровня смертности среди пациентов после пребывания на стационарном лечении с диагнозом «внебольничная пневмония» по сравнению со случаями госпитализации по поводу неинфекционной патологии [23, 34]. Работ, описывающих клинические аспекты внебольничной пневмонии на фоне сахарного диабета, встретилось немного, и данные противоречивы.

Клиническая картина внебольничной пневмонии у пациентов с сахарным диабетом меняется. Пациенты с внебольничной пневмонией на фоне сахарного диабета имеют менее выраженные клинические симптомы: кашель, озноб, острое начало заболевания. Вероятно, с этим связано, что при поступлении пациенты с внебольничной пневмонией на фоне сахарного диабета набирают меньше баллов по шкалам CURB-65 и PSI/PORT, однако длительность госпитализации по поводу внебольничной пневмонии на фоне сахарного диабета увеличивается по сравнению с пациентами без диабета [34, 36].

Лихорадка, кашель, одышка, тахикардия – симптомы, раскрывающие перед врачом классическую картину внебольничной пневмонии, теряются у пациентов с сахарным диабетом, становятся малопоказательными и порой вовсе отсутствуют. При такой скудной симптоматике по результатам рентген-исследования часто имеют место многодолевые инфильтраты, сопровождающиеся плевральным выпотом, а иногда и эмпиемой. По данным М.А. Saibal, имеются достоверные различия ($p < 0,001$) по результатам рентгенологического исследования. Так, полисегментарное поражение легких чаще встречается в клинике внебольничной пневмонии у пациентов с сахарным диабетом, чем без него [37]. В ряде других исследований распространенность легочного инфильтрата между группами пациентов с внебольничной пневмонией на фоне сахарного диабета и без него статистически значимых различий не имела [25, 36].

Малая выраженность симптомов обуславливает трудность диагностики. Часто при объективном исследовании пациентов с внебольничной пневмонией на фоне сахарного диабета преобладающими, а порой и единственными проявлениями являются внелегочные симптомы: измененный психический статус, заторможенность, гипотония, тахипноэ. Так, пациенты с сахарным диабетом, госпитализированные по поводу внебольничной пневмонии, чаще

имеют метаболические нарушения и сердечно-сосудистые события [12, 37].

Данных в литературе по особенностям физического исследования легких у пациентов с внебольничной пневмонией на фоне сахарного диабета мы не встретили. Диагноз внебольничной пневмонии часто невозможен только на основании клинических симптомов и лабораторных данных, особенно у пожилых и пациентов с коморбидной патологией, такой как сахарный диабет [38–40]. Внебольничная пневмония является определенной только при наличии признаков инфильтрации лучевыми методами диагностики. Вместе с тем данные этих инструментальных методов позволяют получить информацию только о структурных нарушениях в легких [38, 41, 42].

Инструментальными методами, в ряде случаев, у пациентов с внебольничной пневмонией и с сопутствующей коморбидной патологией, в частности с сахарным диабетом, не всегда удается определить вклад пневмонии в тяжесть состояния у данной категории пациента. Для определения функционального состояния легких применяют ряд методов, например инспираторно-экспираторную компьютерную томографию, вентиляционно-перфузионную пульмоноскопию [21, 43].

Так, в 2006 г. К.Özşahin и соавт. провели исследование альвеолярно-капиллярной проницаемости у пациентов с сахарным диабетом и у группы здоровых лиц двумя методами: методом диффузии газов и методом вентиляционной сцинтиграфии. При определении первым методом разница между группами не была получена. Тогда как методом вентиляционной сцинтиграфии выявлено статистически значимое удлинение периода полувыведения радиофармпрепарата в группе пациентов с сахарным диабетом по сравнению с группой контроля $T_{1/2}$ 112,7 и $T_{1/2}$ 84,6% соответственно ($p = 0,01$) [21]. Показано, что утолщение стенки легочной артериолы происходит за счет формирования хронического воспалительного процесса [44], а также за счет увеличения количества коллагена, эластина и пролиферации фибробластов [45]. Таким образом, вентиляционная сцинтиграфия является более чувствительным методом определения проницаемости альвеолярно-капиллярной мембраны.

В исследовании, проведенном в Польше в 2011 г. К. Кузиемским и соавт. методом перфузионной компьютерной томографии, обнаружены количественные изменения объема кровотока, кровенаполнения и проницаемости сосудистой стенки в сторону увеличения в группе пациентов, страдающих сахарным диабетом, в отличие от контрольной группы здоровых ($p = 0,01$) [46]. В доступной литературе мы не

встретили данных о чувствительности и специфичности методов лучевой диагностики у пациентов с внебольничной пневмонией на фоне СД2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при сахарном диабете имеет место поражение легких, что сопровождается функциональными нарушениями данного органа. Изменения в микрососудистом русле легких имеют более рассеянный характер в отличие от сосудов почек, глаз, в связи с чем длительное время могут оставаться компенсированными, без проявления клинических симптомов. Несмотря на это, имеется немало доказательств субклинических проявлений диабетического легкого, которые сопряжены с высоким риском летальных исходов при развитии внебольничной пневмонии.

Так, получены данные об информативности вентилиционной сцинтиграфии, перфузионной компьютерной томографии у пациентов с сахарным диабетом, но возможности данных методов у пациентов внебольничной пневмонией на фоне сахарного диабета полностью не раскрыты. Таким образом, необходимо дальнейшее исследование чувствительности и специфичности таких методов, как инспираторно-экспираторная компьютерная томография и вентилиционно-перфузионная сцинтиграфия легких, у пациентов внебольничной пневмонии на фоне СД2.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cillóniz C., Dominedò C., Garcia-Vidal C., Torres A. Community-acquired pneumonia as an emergency condition. *Current Opinion in Critical Care*. 2018;24(6):531–539. DOI: 10.1097/mcc.0000000000000550.
2. Arias-Fernández L., Gil-Prieto R., Gil-de-Miguel Á. Incidence, mortality, and lethality of hospitalizations for community-acquired pneumonia with comorbid cardiovascular disease in Spain (1997–2015). *BMC Infectious Diseases*. 2020;20(1):477. DOI: 10.1186/s12879-020-05208-y.
3. Фатенков О.В., Кузьмина Т.М., Рубаненко О.А., Светлова Г.Н., Дзюбайло А.В. Течение внебольничной бактериальной пневмонии при коморбидной патологии у пожилых пациентов. *Успехи геронтологии*. 2017;30(3):394–397.
4. Титова О.Н., Кузубова Н.А., Александров А.Л., Перлей В.Е., Волочкова Е.В., Барышникова К.А. Особенности центральной гемодинамики у больных внебольничной пневмонией в зависимости от течения заболевания и сердечно-сосудистой коморбидности. *Терапевтический архив*. 2019;91(12):29–34. DOI: 10.26442/00403660.2019.12.000441.
5. Man M.Y., Shum H.P., Yu J.S.Y., Wu A., Yan W.W. Burden of pneumococcal disease: 8-year retrospective analysis from a single centre in Hong Kong. *Hong Kong Medical Journal*. 2020;26(5):372–381. DOI: 10.12809/hkmj208373.
6. Imai K., Petigara T., Kohn M.A., Nakashima K., Aoshima M., Shito A. et al. Risk of pneumococcal diseases in adults with underlying medical conditions: a retrospective, cohort study using two Japanese healthcare databases. *BMJ Open*. 2018;8(3):e018553. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-018553.
7. Falguera M., Martín M., Ruiz-González A., Pifarré R., García M. Community-acquired pneumonia as the initial manifestation of serious underlying diseases. *The American Journal of Medicine*. 2005;118(4):378–383. DOI: 10.1016/j.amjmed.2005.01.011.
8. Feldman C., Anderson R., Prevalence, pathogenesis, therapy, and prevention of cardiovascular events in patients with community-acquired pneumonia. *Pneumonia*. 2016;8:11. DOI: 10.1186/s41479-016-0011-0.
9. Falcone M., Tiseo G., Russo A., Giordano L., Manzini E., Bertazzoni G. et al. Hospitalization for pneumonia is associated with decreased 1-year survival in patients with type 2 diabetes. *Medicine*. 2016;95(5):e2531. DOI: 10.1097/md.00000000000002531.
10. World Health Organization 2016. Global report on diabetes. 2016.
11. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION). *Эпидемиология*. 2016;19(2):104–112. DOI: 10.14341/DM2004116-17.
12. Di Yacovo S., Garcia-Vidal C., Viasus D., Adamuz J., Oriol I., Gili F. et al. Clinical features, etiology, and outcomes of community-acquired pneumonia in patients with diabetes mellitus. *Medicine*. 2013;92(1):42–50. DOI: 10.1097/md.0b013e-31827f602a.
13. Litwak L., Goh S.-Y., Hussein Z., Malek R., Prusty V., Khamseh M. E. Prevalence of diabetes complications in people with type 2 diabetes mellitus and its association with baseline characteristics in the multinational A1chieve study. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2013;5(1):1–10. DOI: 10.1186/1758-5996-5-57.
14. Popov D., Simionescu M. Structural and transport property alterations of the lung capillary endothelium in diabetes. *Italian Archive of Anatomy and Embryology*. 2001;106(2Suppl.1):405–412.
15. Anandhalakshmi S., Manikandan S., Ganeshkumar P., Ramachandran C. Alveolar gas exchange and pulmonary functions in patients with type ii diabetes mellitus. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2013;7(9):1874–1877. DOI: 10.7860/jcdr/2013/6550.3339.
16. Lecube A., Simó R., Pallayova M., Punjabi N., López-Cano C., Turino C. et al. H Pulmonary function and sleep breathing: two new targets for type 2 diabetes care. *Endocrine Reviews*. 2017;38(6):550–573. DOI: 10.1210/er.2017-00173.
17. Davis W.A., Knuiman M., Kendall P., Grange V., Davis T. Glycemic Exposure Is Associated With Reduced Pulmonary Function in Type 2 Diabetes: The Fremantle Diabetes Study. *Diabetes Care*. 2004;27(3):752–757. DOI: 10.2337/diacare.27.3.752.
18. Gutiérrez-Carrasquilla L., Sánchez E., Barbé F., Dalmases M., López-Cano C., Hernández M. et al. Effect of Glucose Improvement on Spirometric Maneuvers in Patients With Type 2 Diabetes: The Sweet Breath Study. *Diabetes Care*. 2019;42(4):617–624. DOI: 10.2337/dc18-1948.
19. Litonjua A.A., Lazarus R., Sparrow D., DeMolles D., Weiss S.T. Lung function in type 2 diabetes: the Normative Aging

- Study. *Respiratory Medicine*. 2005;99(12):1583–1590. DOI: 10.1016/j.rmed.2005.03.023.
20. Guvener N., Tutuncu N.B., Akcay S., Eyuboglu F., Gokcel A. Alveolar gas exchange in patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocrine Journal*. 2003;50(6):663–667. DOI: 10.1507/endocrj.50.663.
 21. Özşahin K., Tuğrul A., Mert S., Yüksel M., Tuğrul G. Evaluation of pulmonary alveolo-capillary permeability in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*. 2006;20(4):205–209. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2005.07.003.
 22. Klekotka R.B., Mizgała E., Król W. The etiology of lower respiratory tract infections in people with diabetes. *Pneumologia. Alergol. Poland*. 2015;83(5): 401–408. DOI: 10.5603/PiAP.2015.0065.
 23. Yende S., Van der Poll T., Lee M., Huang D.T., Newman A.B., Kellum J.A. et al. The influence of pre-existing diabetes mellitus on the host immune response and outcome of pneumonia: analysis of two multicentre cohort studies. *Thorax*. 2010;65(10): 870–877. DOI: 10.1136/thx.2010.136317.
 24. Iroezindu M.O., Isiguzo G.C., Chima E.I., Mbata G.C., Onyedibe K.I., Onyedum C.C. et al. Predictors of in-hospital mortality and length of stay in community-acquired pneumonia: a 5-year multi-centre case control study of adults in a developing country. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2016;110(8):445–455. DOI: 10.1093/trstmh/trw057.
 25. Falguera M., Pifarre R., Martin A., Sheikh A., Moreno A. Etiology and outcome of community-acquired pneumonia in patients with diabetes mellitus. *Chest*. 2005;128(5):3233–3239. DOI: 10.1378/chest.128.5.3233.
 26. Kornum J.B., Thomsen R.W., Riis A., Lervang H.-H., Schonheyder H.C., Sorensen H.T. Type 2 Diabetes and Pneumonia Outcomes: A population-based cohort study. *Diabetes Care*. 2007;30(9): 2251–2257. DOI: 10.2337/dc06-2417.
 27. Kornum J.B., Thomsen R.W., Riis A., Lervang H.-H., Schonheyder H.C., Sorensen H.T. Diabetes, glycemic control, and risk of hospitalization with pneumonia: a population-based case-control study. *Diabetes Care*. 2008;31(8):1541–1545. DOI:10.2337/dc08-0138.
 28. Jensen A.V., Faurholt-Jepsen D., Egelund G.B., Andersen S.B., Petersen P.T., Benfield T., Witzénrath M. et al. Undiagnosed Diabetes Mellitus in Community-Acquired Pneumonia: A Prospective Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2017;65(12):2091–2098. DOI: 10.1093/cid/cix703.
 29. Hirata Y., Tomioka H., Sekiya R., Yamashita S., Kaneda T., Kida Y. et al. Association of hyperglycemia on admission and during hospitalization with mortality in diabetic patients admitted for pneumonia. *Internal Medicine*. 2013;52(21):2431–2438. DOI:10.2169/internalmedicine.52.9594.
 30. Luna C.M., Palma I., Niederman M.S., Membriani E., Giovini V., Wiemken T.L. et al. The impact of age and comorbidities on the mortality of patients of different age groups admitted with community-acquired pneumonia. *Annals of the American Thoracic Society*. 2016;13(9):1519–1526. DOI: 10.1513/annalsats.201512-848oc.
 31. Cheng S., Hou G., Liu Z., Lu Y., Liang S., Cang L. et al. Risk prediction of in-hospital mortality among patients with type 2 diabetes mellitus and concomitant community-acquired pneumonia. *Annals of Palliative Medicine*. 2020;9(5):3313–3325. DOI: 10.21037/apm-20-1489.
 32. Liu J. Impact of diabetes mellitus on pneumonia mortality in a senior population: results from the NHANES III follow-up study. *Journal of Geriatric Cardiology*. 2013;10(3):267–271. DOI:10.3969/j.issn.1671-5411.2013.03.005.
 33. Koskela H.O., Salonen P.H., Romppanen J., Niskanen L. Long-term mortality after community-acquired pneumonia – impacts of diabetes and newly discovered hyperglycemia: a prospective, observational cohort study. *BMJ Open*. 2014;4(8): e005715–e005715. DOI: 10.1136/bmjopen-2014-005715.
 34. Jensen A.V., Egelund G.B., Andersen S.B., Petersen T.P., Benfield T., Faurholt-Jepsen D. et al. The impact of blood glucose on community-acquired pneumonia: a retrospective cohort study. *ERJ Open Research*. 2017;3(2):00114–2016. DOI: 10.1183/23120541.00114-2016.
 35. Akbar D.H. Bacterial pneumonia: comparison between diabetics and non-diabetics. *Acta Diabetol*. 2001;38(2):77–82. DOI: 10.1007/s005920170017.
 36. Kofteridis D.P., Giourgouli G., Platakis M.N., Andrianaki A.M., Maraki S., Papadakis J.A. et al. Community-acquired pneumonia in elderly adults with type 2 diabetes mellitus. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2016;64(3):649–651. DOI: 10.1111/jgs.14011.
 37. Saibal M., Rahman S., Nishat L., Sikder N., Begum S., Islam M. et al. Community acquired pneumonia in diabetic and non-diabetic hospitalized patients: presentation, causative pathogens and outcome. *Bangladesh Medical Research Council Bulletin*. 2013;38(3):98–103. DOI: 10.3329/bmrcb.v38i3.14336.
 38. Poetter-Lang S., Herold C.J. Ambulant erworbene Pneumonien. *Der Radiologe*. 2017;57(1):6–12. DOI: 10.1007/s00117-016-0199-2.
 39. Sligl W.I., Marrie T.J. Severe community-acquired pneumonia. *Critical Care Clinics*. 2013;29(3):563–601. DOI: 10.1016/j.ccc.2013.03.009.
 40. Mandell L.A. Community-acquired pneumonia: An overview. *Postgraduate Medicine*. 2015;127(6):607–615. DOI: 10.1080/00325481.2015.1074030.
 41. Upchurch C.P., Grijalva C.G., Wunderink R.G., Williams D.J., Waterer G.W., Anderson E.J. et al. Community-acquired pneumonia visualized on ct scans but not chest radiographs. *Chest*. 2018;153(3):601–610. DOI: 10.1016/j.chest.2017.07.035.
 42. Franquet T. Imaging of community-acquired pneumonia. *Journal of Thoracic Imaging*. 2018;33(5):282–294. DOI: 10.1097/rti.0000000000000347.
 43. Caner B., Ugur O., Bayraktar M., Ulutuncel N., Menten T., Telatar F. et al. Impaired lung epithelial permeability in diabetics detected by technetium-99m-DTPA aerosol scintigraphy. *Nucl. Med*. 1994;35(2):204–206.
 44. Mondrinos M.J., Zhang T., Sun S., Kennedy P.A., King D.J., Wolfson M.R. et al. Pulmonary endothelial protein kinase c-delta (PKCδ) regulates neutrophil migration in acute lung inflammation. *The American Journal of Pathology*. 2014;184(1):200–213. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.09.010.
 45. Weynand B., Jonckheere A., Frans A., Rahier J. Diabetes mellitus induces a thickening of the pulmonary basal lamina. *Respiration*. 1999;66(1):14–19. DOI: 10.1159/000029331.

46. Kuziemski K., Pieńkowska J., Słomiński W., Specjalski K., Dziadziuszko K., Jassem E. et al. Role of quantitative chest perfusion computed tomography in detecting diabet-

ic pulmonary microangiopathy. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2011;91(1):80–86. DOI: 10.1016/j.diabres.2010.11.004.

Информация об авторах

Зайцева Анна Александровна – ассистент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, annanollz@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9762-6365>

Букреева Екатерина Борисовна – д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, kbukreeva@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7699-5492>

Агеева Татьяна Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, <http://orcid.org/0000-0002-9572-0064>.

Зоркальцев Максим Александрович – д-р мед. наук, доцент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, zorkaltsev@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0025-2147>

Саприна Татьяна Владимировна – д-р мед. наук, профессор, кафедра факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, tanja.v.saprina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9011-8720>

Удодов Владимир Дмитриевич – канд. мед. наук, ассистент, кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск, udodov.vd@ssmu.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1321-7861>

Ардаширов Марсель Маратович – студент, СибГМУ, г. Томск, m.ardashirov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4480-4345>

(✉) **Зайцева Анна Александровна**, annanollz@mail.ru

Поступила в редакцию 07.07.2021;
одобрена после рецензирования 04.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.12-008.46-036.12:615.254.1.015.46
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-152-167>

Резистентность к диуретикам у пациентов с хронической сердечной недостаточностью: механизмы, профилактика и преодоление

Калюжин В.В.¹, Тепляков А.Т.², Беспалова И.Д.¹, Калюжина Е.В.¹, Терентьева Н.Н.³,
Лившиц И.К.¹, Останко В.Л.¹, Гракова Е.В.², Копьева К.В.², Усов В.Ю.², Гарганеева Н.П.¹,
Горелова Ю.В.¹

¹Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

²Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский
медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111

³Сургутский государственный университет (СурГУ)
Россия, 628412, г. Сургут, пр. Ленина, 1

РЕЗЮМЕ

Проанализирована проблема резистентности к диуретикам (РД) у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Большинство симптомов и признаков ХСН связаны с гиперволемией и застоем крови в большом и малом кругах кровообращения. Выраженность последних является основным фактором, негативно влияющим на общую оценку удовлетворенностью жизнью пациентов с ХСН. Так как пациент даже в инкурабельной стадии ХСН в первую очередь ожидает от назначенной врачом терапии быстрого снижения выраженности проявлений декомпенсации, достижение эуволемии представляет собой суть ее краткосрочной задачи. Без диуретиков этих немедленных эффектов, по которым большинство пациентов с ХСН судят о квалификации врача, добиться практически невозможно. К сожалению, по-видимому, ни одному клиницисту не удалось избежать в своей практике разочарования в эффективности терапии сердечной недостаточности, связанного с РД. Как правило, РД отражает прогрессирующее течение ХСН и часто ассоциируется с неблагоприятным прогнозом.

В лекции последовательно рассмотрены вопросы терминологии, диагностики, патогенеза и профилактики РД, отягощающей ХСН, а также обсуждается комплекс мероприятий, направленный на восстановление чувствительности к диуретикам.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, резистентность к диуретикам, терминология, механизмы, водно-солевой режим, секвенциальная блокада нефрона, глифлозины, ваптаны, инотропы, вазоконстрикторы, глюкокортикостероиды, серелаксин, несиритид, альбумин, ультрафильтрация

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Терентьева Н.Н., Лившиц И.К., Останко В.Л., Гракова Е.В., Копьева К.В., Усов В.Ю., Гарганеева Н.П., Горелова Ю.В. Резистентность к диуретикам у пациентов с хронической сердечной недостаточностью: механизмы, профилактика и преодоление. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):152–167. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-152-167>.

Diuretic resistance in patients with chronic heart failure: mechanisms, prevention, and treatment

Kalyuzhin V.V.¹, Teplyakov A.T.², Beshpalova I.D.¹, Kalyuzhina E.V.¹, Terentyeva N.N.³, Livshits I.K.¹, Ostanko V.L.¹, Grakova E.V.², Kopeva K.V.², Usov V.Yu.², Garganeeva N.P.¹, Gorelova Yu.V.¹

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMCC), Russian Academy of Sciences (RAS) 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

³ Surgut State University (SurSU)

1, Lenina Av., Surgut, 628412, Russian Federation

ABSTRACT

The authors analyzed the problem of diuretic resistance (DR) in patients with chronic heart failure (CHF). Most of the symptoms and signs of CHF are associated with hypervolemia and vascular congestion in the systemic and pulmonary circulation. The severity of the latter is the main factor which negatively affects the overall assessment of life satisfaction in patients with CHF. Since the patient, even at the incurable stage of CHF, primarily expects a rapid decrease in the severity of manifestations of decompensation from the prescribed therapy, achieving euvolemia is the essence of its short-term objective. Without diuretics, these immediate effects, according to which most CHF patients judge the qualifications of the doctor, are almost impossible to achieve. Unfortunately, apparently, not a single clinician was able to avoid disappointment in the effectiveness of CHF therapy associated with DR in their practice. As a rule, DR reflects the progressive course of CHF and is often associated with a poor prognosis. The review consistently covers the issues of terminology, diagnosis, pathogenesis, and prevention of DR, which aggravates CHF, and discusses measures aimed at restoring sensitivity to diuretics.

Keywords: chronic heart failure, diuretic resistance, terminology, mechanisms, water and salt restriction, sequential nephron blockade, gliflozines, vaptans, inotropes, vasoconstrictors, glucocorticoids, serelaxin, nesiritide, albumin, ultrafiltration

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

For citation: Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Beshpalova I.D., Kalyuzhina E.V., Terentyeva N.N., Livshits I.K., Ostanko V.L., Grakova E.V., Kopeva K.V., Usov V.Yu., Garganeeva N.P., Gorelova Yu.V. Diuretic resistance in patients with chronic heart failure: mechanisms, prevention, and treatment. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):152–167. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-152-167>.

ВВЕДЕНИЕ

Многие дефиниции хронической сердечной недостаточности (ХСН) включают в себя описание ее основных проявлений [1]. В частности, эксперты Европейского общества кардиологов определяют клинически выраженную ХСН как клинический синдром, характеризующийся типичными симптомами (например, одышка, отеки лодыжек и усталость), которые могут сопровождаться признаками (например, повышенное давление в яремной вене, хрипы в легких и периферические отеки), вызванными структурной и (или) функциональной аномалией сердца

[2]. Как можно заметить, большинство симптомов (жалоб) и признаков, представленных в этом определении, связаны с гипervолемией и застоем крови в большом и малом кругах кровообращения. Выраженность последних является основным фактором, негативно влияющим на общую оценку удовлетворенностью жизнью пациентов с ХСН, в том числе с коморбидной патологией [3–5].

Несмотря на то, что апологеты медицинской практики, основанной на доказательствах, в качестве главного целевого вопроса фармакотерапии ХСН рассматривают увеличение продолжительности жизни, в ходе лечения не менее важно обеспе-

чить возможность прожить ее качественно [1, 6]. Это диктует необходимость максимально полной ликвидации симптомов сердечной недостаточности даже в инкурабельной стадии заболевания [7]. Так как пациент в первую очередь ожидает от назначенной врачом терапии быстрого снижения выраженности проявлений ХСН, достижение эуволемии представляет собой суть ее краткосрочной задачи [8]. Без диуретиков этих немедленных эффектов, по которым большинство пациентов с ХСН судят о квалификации врача, добиться практически невозможно [9]. Не случайно терапию диуретиками иногда называют краеугольным камнем лечения пациента с декомпенсированной ХСН [7, 10, 11].

К сожалению, по-видимому, ни одному клиницисту не удалось избежать в своей практике разочарования в эффективности терапии сердечной недостаточности, связанного с резистентностью к диуретикам (РД) [7, 12, 13]. Резистентность к диуретикам является серьезной, одной из активно обсуждаемых на страницах рецензируемых научных журналов клинической проблемой, которая, как правило, предвещает плохой прогноз [14]. Несмотря на то, что в последнее время были опубликованы согласованные позиции экспертов Европы, Северной Америки и России, касающиеся применения диуретиков при ХСН [9, 14, 15], не утихают споры о том, какой должна быть наиболее оптимальная стратегия в ситуации, когда достигнуть эуволемии и (или) поддерживать ее не удается.

О градусе накала страстей свидетельствуют заголовки статей, опубликованных в рецензируемых научных изданиях: «Резистентность к диуретикам при острой декомпенсированной сердечной недостаточности: сложная клиническая головоломка», «Использование диуретиков при сердечной недостаточности с застойными явлениями: мы не можем судить о книге по ее обложке», «Непрекращающийся квест подходящей роли ультрафильтрации» [16–18].

Целью настоящей лекции является рассмотрение современных взглядов на проблему резистентности к диуретикам, развивающейся у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с частотой, достигающей 20–35% (при острой декомпенсированной сердечной недостаточности – у половины больных), и на возможность ее преодоления.

ТЕРМИНОЛОГИЯ И КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ

Как говорил персидский поэт Шамсуддин ас-Самарканди, если болезнь не определена, невозможно и лечить ее. Так как верное распознавание любой патологии не мыслится без ясного понимания того, что

является целью диагностики, прежде всего следует определиться с терминологией. Проблема кроется в том, что далеко не во всех материалах, отражающих согласованные позиции авторитетных экспертов по применению диуретиков при ХСН, содержится попытка дать определение понятия РД. В свою очередь, дефиниции РД и критерии ее верификации в различных документах не всегда тождественны друг другу, что препятствует установлению границ применения этого термина (табл. 1).

Эксперты Американской коллегии кардиологов предлагают использовать термин «резистентность к диуретикам» для описания недостаточного натрийуреза, несмотря на адекватную диуретическую терапию [14]. Это лишенное количественной характеристики определение справедливо с научной точки зрения, но мало приемлемо для прикроватной диагностики, так как в подавляющем большинстве случаев в клинической практике врач оценивает не натрийурез (также как и не объем внеклеточной жидкости при чреслегочной термодилуции, значение гематокрита, внутригрудной импеданс, число гиперэхогенных артефактов при ультразвуковом исследовании легких или уровень давления наполнения желудочков при инвазивном мониторинге гемодинамики), а диурез и следующее за ним изменение веса тела [1, 19–21].

В свою очередь необходимо понимать, что скрывается за термином «адекватная диуретическая терапия», так как речь может идти о моно- или комбинированной терапии препаратами разных групп, ее различной продолжительности, а также широком диапазоне дозировок препаратов [22]. Так как петлевые диуретики составляют основу диуретической терапии при ХСН, термин «резистентность к диуретикам» в подавляющем большинстве случаев используется для обозначения устойчивости именно к препаратам, действующим на протяжении толстого восходящего сегмента петли Генле [9].

Помимо многообразных способов введения диуретика, выбор которых зависит от конкретной клинической ситуации, оптимальная терапия салуретиками предполагает применение дифференцированных подходов к ее эскалации с учетом отсутствия линейной зависимости между изменением дозы препарата и диуретическим эффектом. Например, увеличение дозы фуросемида на 20 мг у пациента, получающего до этого 20 мг препарата в сутки, даст существенно больший прирост диуреза, чем те же 20 мг, добавленные к терапии в дозе 220 мг/сут [14].

Понятно, что одна доза петлевого диуретика может вызвать в популяции пациентов с ХСН вариативный диуретический эффект, также как, наобо-

рот, одинаковый объем мочи у различных больных может быть получен при применении салуретика в широком диапазоне доз. Следовательно, при рассмотрении вопроса о резистентности к диуретикам

основное внимание следует уделять оценке эффективности препарата, с которой он способствует диурезу, а не абсолютной дозе мочегонного средства или уровню мочи [23].

Таблица 1

Примеры критериев диагностики резистентности к диуретикам

I. Базирующиеся на оценке натрийуреза

Неспособность увеличить экскрецию натрия по меньшей мере на 90 ммоль в течение 72 ч при приеме перорально 160 мг фуросемида, назначенного 2 раза/сут [24].

ФЭН менее 0,2% [25]. Рассчитывается по формуле [25]: $100 \times (\text{Scr} \times \text{Una}) / (\text{Sna} \times \text{Ucr})$, где Scr – сывороточный креатинин; Una – натрий мочи; Sna – натрий сыворотки; Ucr – креатинин мочи.

Кумулятивный 6-часовой натрийурез менее 50 ммоль после внутривенного введения 2–4 мг буметанида (медиана – 3 мг) [26].

Суточная экскреция натрия менее 100 ммоль после внутривенного введения буметанида в дозе 2–4 мг (медиана – 3 мг) [26].

Концентрация натрия менее 50 мэкв/л или значение отношения Na^+/K^+ менее 1,0 в порции мочи, полученной через 8 ч после введения диуретика [27].

Значение отношения концентрации натрия в моче к концентрации фуросемида в моче менее 2 ммоль/мг [28].

Ожидаемый через 6 ч после внутривенного введения петлевого диуретика кумулятивный натрийурез менее 100 ммоль [26]. Рассчитывается по формуле: $\text{СКФ} \times (\text{ППТ}/1,73) \times (\text{Scr}/\text{Ucr}) \times 150 \times (\text{Una}/1\,000)$, где СКФ – скорость клубочковой фильтрации; Scr – сывороточный креатинин; ППТ – площадь поверхности тела; Una – натрий мочи; Ucr – креатинин мочи

II. Базирующиеся на оценке диуреза

Диурез менее 1 400 мл в 1-е сут после назначения 40 мг фуросемида (или эквивалентной дозы другого диуретика) [28].

Диурез менее 2 000 мл/сут после внутривенного назначения 40 мг фуросемида [29]

III. Основанные на динамике веса тела

Отсутствие уменьшения веса тела в течение 48–96 ч после начала терапии фуросемидом 40 мг/сут (или эквивалентной дозы другого диуретика) [28, 30]

IV. Основанные на дозе и способе введения диуретиков

Необходимость внутривенного введения фуросемида в дозе более 80 мг/сут [31].

Стойкие явления застоя, несмотря на применение фуросемида в дозе равной и превышающей 80 мг/сут [32].

Необходимость в приеме фуросемида в дозе, превышающей 3 мг/кг/сут (или эквивалентной дозы другого петлевого диуретика) [33]

Примечание. ФЭН – фракционная экскреция натрия – часть электролита, экскретируемая с мочой от общего количества прошедшего через клубочковый фильтр

Поскольку нарушенная чувствительность к диуретикам ограничивает возможность достижения эуволемии, в качестве критерия РД в клинической практике можно использовать неспособность достигнуть при применении высоких доз диуретиков (в первую очередь петлевых) так называемого сухого веса (идеальный вес пациента без лишней жидкости в организме) [9, 34–36]. Сухой вес – термин, который чаще всего используют специалисты по заместительной почечной терапии для описания веса пациента в состоянии эуволемии. Это тот вес, выше которого имеются симптомы и признаки задержки жидкости, а ниже которого у больного появляется гипотензия (при нормальном сухом весе системное артериальное давление, как правило, не ниже 110/50 мм рт. ст.) и нередко отмечаются признаки дисфункции почек [37, 38].

Стремление врачей, приступающих к лечению пациента с ХСН, к эуволемии по образному выражению К. Watson и соавт. [38], ясно также как то, что «ночь темна, а день светел». Однако отсутствие надежного и в то же время простого прикроватного

способа определения эуволемии (сухого веса) приводит к тому, что на пути к заветной эуволемии интернисты вынуждены идти дорогой проб и ошибок, эмпирически пытаясь установить оптимальную точку прекращения/деэскалации противоотечной терапии или без опоздания определить время для ее интенсификации, а также своевременно распознать развитие РД [9, 35].

Ситуация усугубляется тем, что клиницисты вынуждены действовать в вакууме общепринятых качественных и количественных критериев верификации РД. К сожалению, приходится констатировать, что быстрых изменений к лучшему ожидать не стоит, так как определение решающего правила диагностики в данном случае может быть сравнимо с попыткой справиться с уравнением с множеством неизвестных, которое, как известно, имеет бесконечное число решений.

Наконец, нельзя забывать о весьма распространенной псевдорезистентности к диуретикам, которую врач должен исключить прежде, чем высказываться о РД. О ложной резистентности к диуретикам

следует говорить, когда пациент по какой-либо причине не получает оптимальную диуретическую терапию. Например, при выборе врачом неадекватной стратегии терапии салуретиками (назначение низкой дозы петлевого диуретика или его применение в интермиттирующем режиме, а также неудачная комбинация с препаратами, снижающими эффективность диуретика) или плохой приверженности пациента к лечению. Прежде чем обсуждать РД, следует исключить отечный синдром, вторичный по отношению к венозной недостаточности, нарушениям циркуляции лимфы (лимфедема), гипоальбуминемии и патологии желез внутренней секреции (например, гипотиреоз или синдром неадекватной секреции антидиуретического гормона), а также таковой, связанный с лекарственной терапией (например, с применением производных дигидропиридина) [20].

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ДИУРЕТИКАМ

Патогенез задержки жидкости при ХСН не может быть сведен к одному механизму, так как экспансия внеклеточной жидкости является сложным многоступенчатым процессом [39]. В свою очередь, фармакокинетика и фармакодинамика салуретиков включают ряд дискретных этапов, многообразные нарушения на каждом из которых дают ключ к пониманию неоднородности механизмов РД [9, 14, 40].

Идентификация механизма (механизмов) РД может способствовать выработке эффективной индивидуальной стратегии улучшения реакции на диуретики у пациента с ХСН. Важно учитывать, что многие механизмы РД были описаны в ходе исследований, выполненных в популяции здоровых лиц и пациентов с артериальной гипертензией или хронической болезнью почек. Интуитивный вывод о том, что эти результаты в полной мере применимы по отношению к пациентам с сердечной недостаточностью, может быть ошибочным [20]. Так, очевидно, что дисфункция почек (депрессия скорости клубочковой фильтрации) как причина РД у пациентов с ХСН менее значима, чем при хронических заболеваниях почек. Полагаем, что, принимая во внимание большое количество фенотипов сердечной недостаточности, которую не случайно называют многоликкой, осторожность необходима и при экстраполяции итогов исследований когорты пациентов с острой сердечной недостаточностью на популяцию больных ХСН.

Z.L. Cox и J.M. Testani в работе «Резистентность к петлевым диуретикам у пациента с острой сердечной недостаточностью» [36] выделили экстраренальную и ренальную формы РД и систематизировали ключевые механизмы развития последней на основе принципа выделения преимущественно задействованных сегментов нефрона. Адаптированные результаты этой систематизации, дополненные другими авторами, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Основные механизмы развития резистентности к диуретикам [14, 36, 41]			
Преренальные нарушения	Уровень ренальных сдвигов		
	до петли Генле	петля Генле	после петли Генле
Кардиоренальный синдром (1-й и 2-й типы). Патология почечного кровотока. Гипоальбуминемия. Высокое потребление натрия. Нарушение всасывания диуретика. Повышение внутрибрюшного давления	Редукция числа нефронов. Снижение скорости клубочковой фильтрации. Конкуренция за проникновение диуретиков в нефрон со стороны органических анионов. Альбуминурия	Низкая доза петлевого диуретика. Неоптимальная частота назначения петлевого диуретика. Слабый натрийуретический ответ на уровне петли Генле. Гипохлоремический алкалоз	Гипертрофия дистальных канальцев. Гиперфункция дистальных канальцев

Примечание. Перечень не является исчерпывающим.

Перечисление и детализацию механизмов первичной и вторичной РД можно было бы продолжить. Например, повышение экспрессии гена пендрина, полиморфизм других генов, кодирующих ионные транспортеры, котранспортеры (симпортеры) или обменники (антипортеры), а также обусловленная вазопрессинном активацией встраивания каналов аквапорина 2 в апикальную мембрану эпителиоцитов собирательной трубочки [14, 41, 42]. Их распростра-

ненность, клиническое и прогностическое значение остаются неясными и являются предметом для изучения в будущем.

Предполагают, что больше всего распространены формы РД, связанные с структурными и функциональными сдвигами, развивающимися на уровне дистальных канальцев [36], а наиболее важными причинами устойчивости к диуретикам являются компенсаторная реабсорбция натрия в дистальных

канальцах (независимо от того, что лишь 10% натрия в норме реабсорбируется в этом сегменте нефрона) и низкая доза петлевого диуретика [14]. Однако последняя, по большому счету, к РД никакого отношения не имеет, так как истинная резистентность, как уже отмечалось выше, предполагает наличие адекватной диуретической терапии, способной обеспечить достаточный уровень внутрисочечной концентрации диуретика [20].

Несмотря на совпадающее мнение большинства экспертов об ассоциации РД с неблагоприятным прогнозом у пациентов с сердечной недостаточностью (особенно с острой декомпенсацией) [41, 43], механизмы устойчивости к салуретикам нельзя рассматривать как исключительно патологические [20]. Физиологический смысл отработанных до совершенства эволюцией механизмов почечной ауторегуляции и нейрогормональных реакций заключается в устранении чрезмерных отклонений состояния водно-солевого баланса, развивающихся вслед за массивным натрийурезом уже на старте терапии высокими дозами диуретиков [44].

Первая доза диуретика нередко вызывает обнадеживающий диурез. Однако, когда после профузного диуреза объем внеклеточной жидкости уменьшается, активация симпатической и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем приводит к развитию так называемого феномена торможения [20, 44, 45]. Отсутствие возможности во всех случаях эффективно модулировать выраженность феномена торможения с помощью блокаторов нейрогуморальных систем, позволяет обсуждать альтернативные, объем независимые механизмы ранней РД. В частности, высказывается гипотеза об эффекте памяти эпителия почечных канальцев на воздействие диуретиков [46]. Вне зависимости от его механизма, торможение эффекта в определенных пределах полезно тем, что оно спасает от мочеизнурения, с одной стороны, и, как это не парадоксально, предупреждает развитие связанной с гиповолемией РД – с другой. Если бы первоначальный мочегонный эффект, связанный с увеличением экскретируемой фракции Na^+ на 20%, сохранялся при продолжении непрерывной инфузии петлевого диуретика, при скорости клубочковой фильтрации 120 мл/мин, пациент за сутки терял бы 280 г соли и 50 л осмотически связанной жидкости [20].

В отличие от связанной с феноменом торможения ранней РД, поздняя рефрактерность развивается спустя недели и месяцы постоянной диуретической терапии. Вызванная диуретиками хроническая внутрипросветная перегрузка дистальных извитых канальцев и собирательных трубочек ионами Na^+ и Cl^- запускает процесс структурной и функциональной

адаптации почек [40]. Ведущим механизмом поздней РД является гипертрофия и гиперфункция клеток однослойного кубического эпителия дистальных извитых канальцев, а также главных и вставочных клеток эпителия собирательных трубочек, которые иногда ошибочно называют канальцами [20].

Ремоделирование дистального сегмента нефрона и собирательных трубочек ассоциируется с активацией тиазид-чувствительного $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ -котранспортера, альдостерон-чувствительного эпителиального натриевого канала, хлоридно-бикарбонатного обменника (пендрин), что приводит к возрастанию канальцевой реабсорбции натрия [47]. Так, при хроническом внутривенном применении петлевого диуретика в высокой дозе (медиана фуросемида – 160 мг/сут) фракционная экскреция натрия у пациентов с острой сердечной недостаточностью возрастала лишь на 4,8% [48], указывая на то, что около 70% ионов натрия, покидающих петлю Генле, подвергается дистальной канальцевой реабсорбции [20].

Наряду с ремоделированием и гиперфункцией дистальных канальцев, в качестве важного механизма РД можно также отметить развитие гипохлоремического метаболического алкалоза, обычно вызванного одновременным применением петлевых и тиазидных мочегонных, которые способствуют ретенции бикарбонатов. Даже умеренно выраженный метаболический алкалоз, который является наиболее распространенным нарушением кислотно-основного состояния у пациентов с ХСН, приводит к снижению натрийуретического эффекта петлевого диуретика примерно на 20% [46].

ПРОФИЛАКТИКА И ПРЕОДОЛЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ДИУРЕТИКАМ

ХСН является синдромом, а не заболеванием, и при разработке индивидуальной тактики лечения следует учитывать ее этиологическую неоднородность [49]. Правильно подобранное лечение основного заболевания, лежащего в основе ХСН, во многих случаях может значительно уменьшить выраженность проявлений сердечной декомпенсации, а иногда позволяет полностью избавиться от них пациента (например, после успешной хирургической коррекции порока сердца) [50]. Следовательно, своевременно назначенное эффективное лечение основного заболевания является первым шагом на пути предупреждения развития ХСН, требующей применения диуретиков, с одной стороны, и снижает вероятность того, что врач столкнется с проблемой РД, – с другой.

Ключом ко второму шагу профилактики РД является понимание многогранности механизмов гипер-

волемии и застоя у пациентов с сердечной недостаточностью, следствием которого является вывод о том, что диуретики должны рассматриваться лишь как один из компонентов в комплексе мероприятий вторичной профилактики ХСН, включающих немедикаментозные воздействия, оптимальную комбинированную патогенетическую фармакотерапию, электрофизиологические методы лечения, хирургические вмешательства и применение аппаратов вспомогательного кровообращения [1, 15, 51].

Применению диуретиков должны предшествовать немедикаментозные мероприятия, которые следует начинать проводить уже на этапе скрытой ХСН и продолжать после появления признаков декомпенсации, тем активнее, чем выраженнее застойные явления. Из немедикаментозных мероприятий, возможно, наиболее эффективным и в то же время требующим наименьших затрат является тщательное соблюдение рекомендаций по питанию [1, 52].

Так как результаты обсервационных исследований свидетельствуют о связи между потреблением натрия с задержкой жидкости и риском госпитализации у пациентов с ХСН [53–55], а потребление натрия в общей популяции, как правило, высокое (более 4 г/сут), то ограничение ежедневного потребления Na^+ до рекомендованного экспертами Всемирной организацией здравоохранения уровня, равного 2,5–3 г (6–7 г поваренной соли), является разумной целью для пациентов с умеренно выраженной ХСН [15, 46]. Такой подход препятствует задержке Na^+ в постдиуретическом периоде и рассматривается в качестве способа преодоления феномена торможения [45]. Для пациентов с РД требуется еще более строгое ограничение потребления Na^+ до уровня 2 г/сут (в таком случае обычно необходима помощь диетолога) [45]. Соблюдение диеты с более значительным ограничением Na^+ в амбулаторных условиях является сложной задачей, а ее выполнение может даже существенно увеличивать риск общей смерти и повторных госпитализаций в связи с обострением ХСН [56–58].

Ограничение потребления жидкости в пределах 1,5–2 л/сут актуально только при тяжелой ХСН, требующей внутривенного введения диуретиков [15, 57]. Отметим, что тяжелая ХСН – термин, который в России традиционно применяется для обозначения сердечной недостаточности, соответствующей II Б стадии [57] и IV функциональному классу [59, 60]. При выраженной гипervолемиической гипонатриемии (концентрация Na^+ в плазме крови ниже 125 ммоль/л) может потребоваться более жесткое ограничение (до 800–1 000 мл/сут) потребления жидкости [51]. При гипонатриемии разведения показано применение селективного, конкурентного антаго-

ста V2-рецептора вазопрессина толваптана (в настоящее время изучается эффективность и безопасность других ваптанов, в частности неселективного антагониста V1a/V2-рецепторов вазопрессина пекаваптана [61]), без которого в такой ситуации эффективное и быстрое преодоление РД практически невозможно [62, 63].

Для профилактики развития феномена торможения диуретическую терапию следует начинать с наименьшей эффективной дозы препарата (предпочтение следует отдавать петлевому диуретику) [45]. С этой же целью диуретики следует назначать в комбинации с нейрогуморальными модуляторами (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента или комбинация валсартана с сакубитрилом, бета-адреноблокаторы, антагонисты минералокортикоидных/альдостероновых рецепторов) и ингибитором натрийзависимого котранспортера глюкозы 2-го типа (дапаглифлозин или эмпаглифлозин). Подобная комбинированная терапия является оптимальной и при развитии поздней РД, связанной с адаптивными изменениями в дистальных сегментах нефрона во время длительной диуретической терапии [45, 51].

В активной фазе терапии дозу диуретика необходимо постепенно подбирать таким образом, чтобы превышение диуреза над принятой жидкостью составляло 1–2 л/сут, при снижении веса тела ежедневно на 0,75–1 кг. Более стремительная дегидратация не может быть оправданной и лишь приводит к гиперактивации нейрогормонов и «рикошетной» задержке жидкости в организме [15, 45]. Однозначно ущербной также является тактика применения диуретика в интермиттирующем режиме с «ударным» диурезом один раз в несколько дней (по четным/нечетным числам, один раз в неделю и т.п.), неизбежно приводящей к псевдорезистентности. Хотя для поддержания эуволемического состояния у амбулаторных пациентов со стабильной гемодинамикой, получающих непрерывную пероральную терапию салуретиками, полезным может быть интермиттирующее болюсное внутривенное введение диуретиков [64]. Такая тактика приводит к снижению числа госпитализаций в связи с декомпенсацией сердечной деятельности за счет предупреждения развития устойчивости к пероральным формам петлевых диуретиков. В частности, у пациентов с умеренно выраженной декомпенсацией для достижения эуволемии может потребоваться всего одна или две дозы внутривенного диуретика [64–67].

В поддерживающей фазе терапии, к которой переходят после достижения эуволемического состояния, дозу диуретика можно уменьшить. Но в любом случае последняя должна быть выше натрийурети-

ческого порога (крутая часть кривой «доза–ответ») и способной обеспечить сбалансированный диурез и поддержание сухого веса [45]. Как и в активную фазу, с учетом снижающих вероятность развития РД особенностей фармакокинетического профиля (высокая и предсказуемая биодоступность, плавное и продолжительное действие с минимальной постдиуретической задержкой натрия даже при однократном применении в течение дня) и плеотропной антиальдостероновой активности, торасемид является препаратом выбора [68–70].

Пациенты должны быть обучены самостоятельной корректировке дозы мочегонных средств на основе мониторинга симптомов/признаков застоя и ежедневных измерений веса тела [51]. В случае значительного усиления одышки и отеков или неожиданной прибавки веса более чем на 2 кг за 3 сут пациент должен без промедления сообщить об этом своему лечащему врачу [51]. В такой ситуации первым шагом эскалации терапии является удвоение дозы петлевого диуретика (если он по какой-то причине до этого не применялся, то начинают с дозы эквивалентной 40–80 мг фуросемида) до тех пор, пока не будет достигнут эффект или максимальная безопасная доза [14, 45, 51]. При этом внутривенное введение петлевого диуретика предпочтительнее его перорального применения (рисунок) [64].

Необходимо иметь в виду, что для преодоления РД простого увеличения дозы вводимого внутривенно диуретика нередко недостаточно. При сохраненной функции почек максимальная суточная доза фуросемида, выше которой происходит лишь незначительное дальнейшее нарастание натрийуреза, составляет 80–160 мг. У пациентов с хронической болезнью почек 3–4-й стадий или нефротическим синдромом эта доза составляет 160–240 мг [46]. Очень высокие дозы (500 мг фуросемида и выше!) могут потребоваться у пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности [45]. Большинство экспертов едины во мнении о том, что сокращение интервалов между введением диуретика (или их непрерывная инфузия) позволяет преодолеть постдиуретическую задержку натрия и более эффективно, чем однократное введение препарата в высокой дозе [9, 14]. Так разделенная на два введения суточная доза диуретика дает больший эффект, чем та же доза, вводимая один раз в сутки, при условии, что обе дозы превышают мочегонный порог [45].

Комбинированная терапия диуретиками разных групп является следующим за увеличением дозировки шагом преодоления РД [14]. Эффект достигается как за счет секвенциальной блокады нефрона, так и взаимного потенцирования диуретической активно-

сти [21, 29]. Например, ацетазоламид обеспечивает повышение чувствительности к петлевым диуретикам за счет коррекции метаболического алкалоза [71, 72], а к тиазидным диуретикам – за счет снижения экспрессии пендрина [40].

Помимо оценки эффективности при проведении комбинированной терапии необходим тщательный клинический и лабораторный контроль ее безопасности. На старте агрессивной комбинированной терапии диуретиками, которая сочетается с применением современных нейрогуморальных модуляторов, ожидается некоторое снижение артериального давления, повышение уровня мочевины и креатинина (снижение расчетной скорости клубочковой фильтрации) крови, изменение концентрации калия в плазме крови. Бессимптомная артериальная гипотензия обычно не требует каких-либо изменений в терапии. Дурнота/легкое головокружение являются обычным явлением и часто исчезают со временем – пациентов следует успокоить, внимательно отслеживая динамику артериального давления. Увеличение креатинина на 20–30% выше исходного уровня является приемлемым [51]. Ключевым моментом терапии при РД является то, что, хотя агрессивное противоотечное лечение связано с ухудшением функции почек, выживаемость, как это ни парадоксально, улучшается [46, 73, 74].

Представленный на рисунке алгоритм в полной мере применим лишь по отношению к гемодинамически стабильным пациентам с гиперволемией, демонстрирующих РД [14]. Клиницистам хорошо известно, что одной из основных причин, препятствующих применению высоких доз диуретиков (как и титрованию дозировки болезнь-модифицирующих лекарственных препаратов до целевого уровня) у больных с декомпенсированной сердечной недостаточностью, является системная артериальная гипотензия [75, 76]. Имеют низкое систолическое артериальное давление с признаками и (или) симптомами гипоперфузии или без них 5–25% пациентов с клинически выраженной ХСН [75–78]. Симптомная или тяжелая бессимптомная гипотензия (систолическое артериальное давление менее 90 мм рт. ст.) может усугубляться вазодилатацией и гиповолемией, вызванной диуретиками [51].

Несмотря на то, что рутинное применение негликозидных инотропных стимуляторов и вазоконстрикторов в качестве инструмента решения проблемы РД не рекомендуется [14], в клинической ситуации с низким сердечным выбросом и нестабильностью гемодинамики без них не обойтись [51]. В таком случае их применение может иметь драматическую эффективность и обеспечить преодоление РД

[36]. В арсенал лекарственных хорошо изученных и изучающихся в настоящее время средств входят вазоконстрикторы (например, норэпинефрин, мидодрин и вазопрессин), инотропы с вазоконстрикторными свойствами (например, допамин, эпинефрин и доксидапа), кардиотоники (например, добутамин,

милринон и омекамтив мекарбил), а также инодилаторы, среди которых, по мнению ряда экспертов, наиболее перспективным является применение лево-симендана (допустимо применение при отсутствии выраженного снижения систолического артериального давления более 85 мм рт. ст.) [51, 79–84].

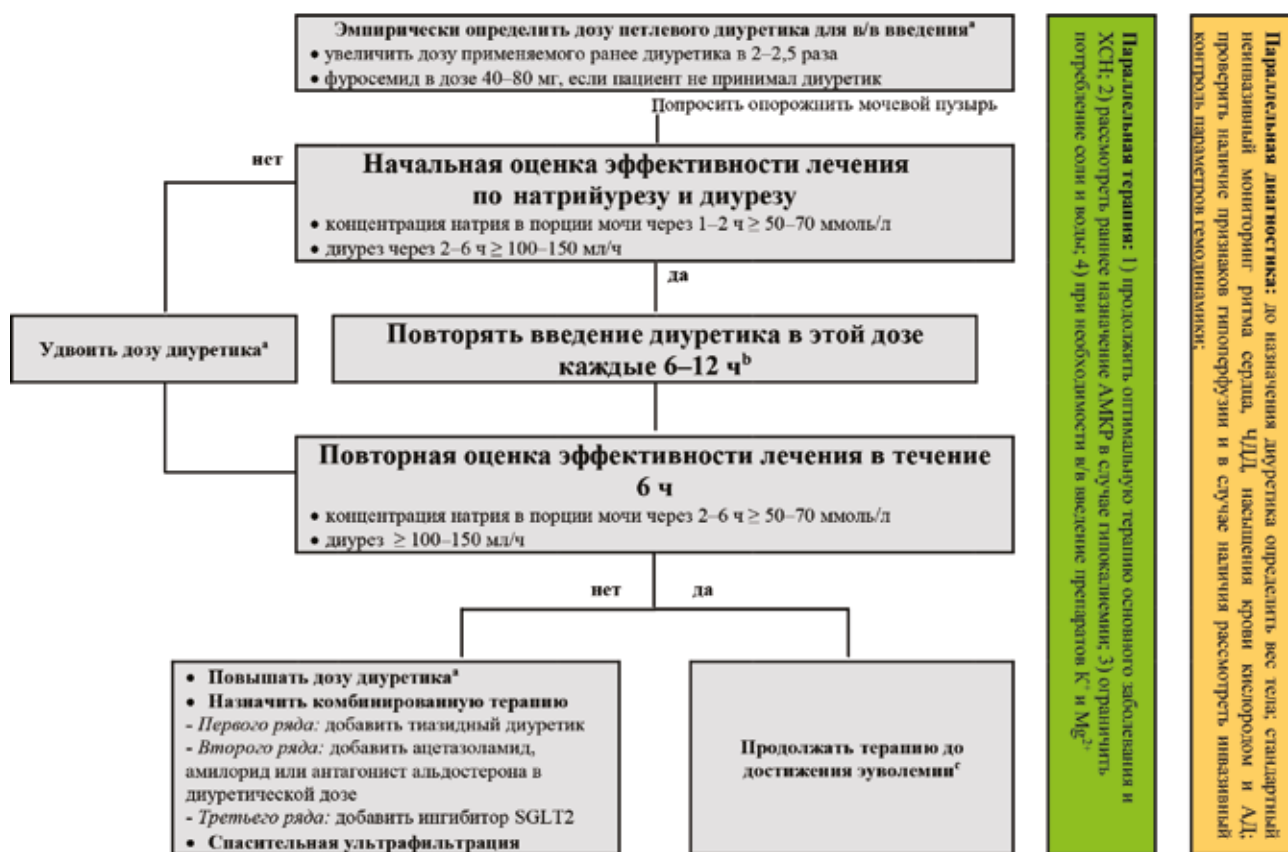


Рисунок. Блок-схема применения диуретиков при декомпенсированной сердечной недостаточности и РД [9, 14, 51]: *a* – максимальная суточная доза вводимого внутривенно (в/в) диуретика эквивалентна 400–600 мг фуросемида (например, буметанид 10–15 мг), однако у больных с тяжелой дисфункцией почек может потребоваться увеличение дозы до 1 000 мг; *b* – у пациентов с хорошим диурезом после однократного введения диуретика можно рассмотреть возможность дозирования один раз в сутки; *c* – рассмотреть уменьшение дозы диуретика, если суточный диурез превышает 5 л; *d* – более 50 мг/сут; в/в в виде непрерывной инфузии либо болюсно. ХСН – хроническая сердечная недостаточность; АМКР – антагонисты минералокортикоидных рецепторов; ЧДД – частота дыхательных движений; АД – артериальное давление; SGLT2 – натрий-глюкозный котранспортер 2-го типа

Если РД ассоциируется со стойкой клинически выраженной артериальной гипотензией, которую образно называют ахиллесовой пятой пациента с сердечной недостаточностью [85], может также потребоваться краткосрочное применение глюкокортикоидов, которые не только способствуют повышению артериального давления, но и благоприятно влияют на функциональное состояние почек, демонстрируя в эксперименте и клинике усиление реакции почек на диуретики [85–88].

У пациентов с нормальным или повышенным системным артериальным давлением эффективной может быть комбинация диуретиков с вазодилаторами, в частности серелаксином (рекомбинантный аналог человеческого релаксина-2), низкими дозами несиритида (рекомбинантный человеческий мозговой натрийуретический пептид), антагонистом вазопрессина толваптаном (особенно при гипонатриемии разведения, когда акваретик имеет существенное преимущество перед салуретиком) и

антагонистами рецепторов аденозина 1-го типа (например, аминофиллином) [7, 14, 45, 89–96].

Сдвинуть процесс с мертвой точки и достигнуть заветной эуволемии при рефрактерном отеком синдроме может помочь применение в составе комбинированной терапии препаратов из группы ингибиторов натрийзависимого котранспортера глюкозы 2-го типа (например, дапаглифлозина или эмпаглифлозина), не только улучшающих прогноз при ХСН, но и обладающих диуретической и нефропротективной активностью [14, 97–100].

При наличии гипоальбуминемии (менее 35 г/л) у пациента с ХСН (например, при сочетании с нефротическим синдромом или циррозом печени) эффективность диуретиков значительно снижается [15, 36]. В этом случае для усиления диуретического эффекта (особенно при уровне альбумина ниже 25 г/л) следует обсудить внутривенное введение альбумина непосредственно перед терапией диуретиками [40, 101, 102], хотя целесообразность такого подхода не всегда подтверждается результатами клинических исследований [45, 103]. Альбумин следует также вводить для восполнения его потери после лапароцентеза (20–50 г с каждой процедурой) с эвакуацией большого объема асцитической жидкости (иногда удаляют 4–6 л/сут), который выполняют у пациентов с ХСН, осложнившейся устойчивой РД в терминальной стадии заболевания [45].

Заместительная почечная терапия является для некоторых пациентов с РД терапией последней надежды [9, 104]. Не зря ее называют спасительной [105]. С учетом того, что на этапе принятия решения о проведении заместительной почечной терапии у многих пациентов нет «запаса» артериального давления (помните, ахиллесова пята), предпочтительным является выбор щадящих режимов с использованием минимального объема экстракорпоральной крови и скоростью ультрафильтрации не более 250 мл/ч либо перитонеального диализа [79, 106–108].

Следует четко понимать, что если дело дошло до ультрафильтрации, то ее применение далеко не всегда изменяет к лучшему судьбу пациента с прогрессирующей сердечной недостаточностью. Летальность у пациентов с РД, у которых возникает потребность в диализной поддержке выше, чем среди тех, у кого для достижения эуволемии было достаточно оптимизировать фармакотерапию (вероятность смерти от всех причин в 3 раза выше) [109]. Улучшить прогноз в этой когорте тяжелых больных нередко с нестабильной гемодинамикой может механическая поддержка кровообращения (моно- и бивентрикулярная) [79, 110–112].

Рассматривая перспективные подходы, направленные на преодоление РД, которые обсуждаются в настоящее время, можно отметить введение гипертонического солевого раствора в сочетании с высокой дозой петлевого диуретика [113, 114], подкожный способ инфузии фуросемида [115, 116], совершенствование секвенциальной блокады нефрона за счет хронотерапевтического подхода (например, назначение препарата тиазидного ряда за 30 мин до петлевого диуретика) [43, 117], применение не нейтрализующих моноклональных антител к адреномедуллину, увеличивающих период его полувыведения и способствующих перемещению этого вазоактивного пептида из интерстиция в кровоток (адрецизумаб) [117, 118], воздействие на апелинергическую систему [119, 120], а также блокаду симпатических грудных ганглиев (на уровне от Т6 до Т11) лидокаином [121, 122].

Результаты назначения антикоагулянтов в нефрологической клинике [19, 123] позволяют надеяться на то, что их применение при РД будет способствовать восстановлению чувствительности к петлевым диуретикам и пациентов с ХСН [19, 124]. С учетом известной роли медиаторов воспаления в механизмах дисфункции почек у пациентов с кардиоренальным синдромом 1-го и 2-го типов, возможно полезной будет и иммунная разгрузка сердца и почек [125–128].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Термин «резистентность к диуретикам» остается недостаточно определенным, но обычно считают, что это неспособность поддерживать натрийурез и диурез на уровне, достаточном для обеспечения эуволемии, несмотря на адекватную дозу и режим приема петлевого диуретика. Резистентность к диуретикам может развиваться как на старте терапии диуретиками, так и при их длительном применении и определяться различными механизмами. Как правило, РД отражает прогрессирующее течение ХСН и часто ассоциируется с неблагоприятным прогнозом. Профилактика, раннее выявление развития и комплекс мероприятий, направленный на преодоление РД, способствуют если не улучшению прогноза, то, по крайней мере, существенному повышению качества жизни.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Калюжин О.В. Сердечная недостаточность. М.: Медицинское информационное агентство, 2018:376.
2. Ponikowski P., Voors A.A., Anker S.D., Bueno H., Cleland J.G., Coats A.J. et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart fail-

- ure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. J. Heart Fail.* 2016;18(8):891–975. DOI: 10.1002/ehf.592.
3. Moradi M., Daneshi F., Behzadmehr R., Rafiemanesh H., Bouya S., Raeisi M. Quality of life of chronic heart failure patients: a systematic review and meta-analysis. *Heart Fail. Rev.* 2020;25:993–1006. DOI: 10.1007/s10741-019-09890-2.
4. Comín-Colet J., Martín Lorenzo T., González-Domínguez A., Oliva J., Jiménez Merino S. Impact of non-cardiovascular comorbidities on the quality of life of patients with chronic heart failure: a scoping review. *Health Qual Life Outcomes.* 2020;18:329. DOI: 10.1186/s12955-020-01566-y.
5. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Рязанцева Н.В., Беспалова И.Д., Камаев Д.Ю., Калюжина Е.В. Качество жизни больных ишемической болезнью сердца, ассоциированной с метаболическим синдромом: результаты факторного анализа. *Терапевтический архив.* 2012;84(12):18–22.
6. Goudot F.X., Thomas S., Foureur N. Patient âgé insuffisant cardiaque, qualité ou quantité de vie? *Soins Gerontol.* 2020;25(144):38–42. DOI: 10.1016/j.sger.2020.06.009.
7. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Терентьева Н.Н., Сибирева О.Ф. и др. Прогрессирующая (advanced) сердечная недостаточность. *Бюллетень сибирской медицины.* 2021;20(1):129–146. DOI: 10.20538/1682-0363-2021-1-129-146.
8. Koshy A.O., Gallivan E.R., McGinlay M., Straw S., Drozd M., Toms A.G. et al. Prioritizing symptom management in the treatment of chronic heart failure. *ESC Heart Fail.* 2020;7(5) 2193–2207. DOI: 10.1002/ehf2.12875.
9. Mullens W., Damman K., Harjola V.P., Mebazaa A., Brunner-La Rocca H.P., Martens P. et al. The use of diuretics in heart failure with congestion - a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur. J. Heart Fail.* 2019;21(2):137–155. DOI: 10.1002/ehf.1369.
10. Boorsma E.M., Ter Maaten J.M., Damman K., Dinh W., Gustafsson F., Goldsmith S. et al. Congestion in heart failure: a contemporary look at physiology, diagnosis and treatment. *Nat. Rev. Cardiol.* 2020;17(10):641–655. DOI: 10.1038/s41569-020-0379-7.
11. Simonavičius J., Knackstedt C., Brunner-La Rocca H.P. Loop diuretics in chronic heart failure: how to manage congestion? *Heart Fail Rev.* 2019;24(1):17–30. DOI: 10.1007/s10741-018-9735-7.
12. Jardim S.I., Ramos Dos Santos L., Araújo I., Marques F., Branco P., Gaspar A., Fonseca C. A 2018 overview of diuretic resistance in heart failure. *Rev. Port. Cardiol.* 2018;37(11):935–945. DOI: 10.1016/j.repc.2018.03.014.
13. Бердибеков Б.Ш. Диуретическая терапия при сердечной недостаточности: фокус на резистентность к диуретикам. *Креативная кардиология.* 2018;12(4):366–382. DOI: 10.24022/1997-3187-2018-12-4-366-382.
14. Felker G.M., Ellison D.H., Mullens W., Cox Z.L., Testani J.M. Diuretic therapy for patients with heart failure: JACC state-of-the-art review. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020;75(10):1178–1195. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.12.059.
15. Мареев В.Ю., Гарганеева А.А., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Беграмбекова Ю.Л., Беленков Ю.Н. и др. Экспертное мнение по применению диуретиков при хронической сердечной недостаточности. Общество специалистов по сердечной недостаточности. *Кардиология.* 2020;60(12):13–47. DOI: 10.18087/cardio.2020.12.n1427.
16. Reed B.N., Devabhakthuni S. Diuretic resistance in acute decompensated heart failure: a challenging clinical conundrum. *Crit. Care Nurs. Q.* 2017;40(4):363–373. DOI: 10.1097/CNQ.0000000000000173.
17. Palazzuoli A., Ruocco G., Paolillo S., Perrone Filardi P. The use of diuretics in heart failure with congestion: we can't judge a book by its cover. *ESC Heart Fail.* 2019;6(6):1222–1225. DOI: 10.1002/ehf2.12515.
18. Kazory A., Costanzo M.R. The never-ending quest for the appropriate role of ultrafiltration. *Eur. J. Heart Fail.* 2019;21(7):949. DOI: 10.1002/ehf.1490.
19. Фомин В.В., Хамхоева М.С. Резистентность к диуретикам: причины, механизмы, возможности преодоления. *Фарматека.* 2010;12:19–23.
20. Cox Z.L., Testani J.M. Loop diuretic resistance complicating acute heart failure. *Heart Fail. Rev.* 2020;25(1):133–145. DOI: 10.1007/s10741-019-09851-9.
21. Suri S.S., Pamboukian S.V. Optimal diuretic strategies in heart failure. *Ann. Transl. Med.* 2021;9(6):517. DOI: 10.21037/atm-20-4600.
22. Дядык А.И., Куглер Т.Е., Щукина Е.В., Ракитская И.В., Зборовский С.Р., Сулиман Ю.В. Диуретическая резистентность: механизмы, лечебная тактика и профилактика. *Фарматека.* 2017;18:50–56.
23. Testani J.M., Brisco M.A., Turner J.M., Spatz E.S., Bellumkonda L., Parikh C.R. et al. Loop diuretic efficiency: a metric of diuretic responsiveness with prognostic importance in acute decompensated heart failure. *Circ. Heart Fail.* 2014;7(2):261–270. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000895.
24. Epstein M., Lepp B.A., Hoffman D.S., Levinson R. Potentiation of furosemide by metolazone in refractory edema. *Curr. Ther. Res.* 1977;21:656–667.
25. Kumar D., Bagarhatta R. Fractional excretion of sodium and its association with prognosis of decompensated heart failure patients. *J. Clin. Diagn. Res.* 2015;9(4):OC01–OC03. DOI: 10.7860/JCDR/2015/11532.5736.
26. Testani J.M., Hanberg J.S., Cheng S., Rao V., Onyebeke C., Laur O. et al. Rapid and highly accurate prediction of poor loop diuretic natriuretic response in patients with heart failure. *Circ. Heart Fail.* 2016;9(1):e002370. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002370.
27. Doering A., Jenkins C.A., Storrow A.B., Lindenfeld J., Fermann G.J., Miller K.F. et al. Markers of diuretic resistance in emergency department patients with acute heart failure. *Int. J. Emerg. Med.* 2017;10(1):17. DOI: 10.1186/s12245-017-0143-x.
28. Ter Maaten J.M., Dunning A.M., Valente M.A., Damman K., Ezekowitz J.A., Califf R.M. et al. Diuretic response in acute heart failure-an analysis from ASCEND-HF. *Am. Heart J.* 2015;170(2):313–321. DOI: 10.1016/j.ahj.2015.05.003.
29. Cox Z.L., Sarrell B.A., Cella M.K., Tucker B., Arroyo J.P., Umanath K. et al. Multinephron segment diuretic therapy to overcome diuretic resistance in acute heart failure: a single-cen-

- ter experience. *J. Card. Fail.* 2021;S1071-9164(21)00333-X. DOI: 10.1016/j.cardfail.2021.07.016.
30. Ter Maaten J.M., Valente M.A., Damman K., Cleland J.G., Givertz M.M., Metra M. et al. Combining diuretic response and hemoconcentration to predict rehospitalization after admission for acute heart failure. *Circ. Heart Fail.* 2016;9(6):e002845. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002845.
 31. Neuberg G.W., Miller A.B., O'Connor C.M., Belkin R.N., Carson P.E., Cropp A.B. et al. PRAISE Investigators. Prospective randomized amlodipine survival evaluation. Diuretic resistance predicts mortality in patients with advanced heart failure. *Am. Heart J.* 2002;44(1):31–38. DOI: 10.1067/mhj.2002.123144.
 32. Trullàs J.C., Casado J., Morales-Rull J.L., Formiga F., Conde-Martel A., Quirós R. et al. Prevalence and outcome of diuretic resistance in heart failure. *Intern. Emerg. Med.* 2019;14(4):529–537. DOI: 10.1007/s11739-018-02019-7.
 33. Côté J.M., Bouchard J., Murray P.T., Beaubien-Souligny W. Diuretic strategies in patients with resistance to loop-diuretics in the intensive care unit: A retrospective study from the MIMIC-III database. *J. Crit. Care.* 2021;65:282–291. DOI: 10.1016/j.jcrc.2021.06.009.
 34. Bellomo R., Prowle J.R., Echeverri J.E. Diuretic therapy in fluid-overloaded and heart failure patients. *Contrib. Nephrol.* 2010;164:153–163. DOI: 10.1159/000313728.
 35. Katz S.D. In search of euvolemia in heart failure. *JACC Heart Fail.* 2014;2(3):306–307. DOI: 10.1016/j.jchf.2014.02.006.
 36. Cox Z.L., Testani J.M. Loop diuretic resistance in a patient with acute heart failure. In: Tamg W.H.W., Verbrugge F.H., Mullens W., eds. *Cardiorenal syndrome in heart failure*. London, UK: Springer Nature, 2019:153–173.
 37. Elhassan M.G., Chao P.W., Curiel A. The conundrum of volume status assessment: revisiting current and future tools available for physicians at the bedside. *Cureus.* 2021;13(5):e15253. DOI: 10.7759/cureus.15253.
 38. Watson K., Gottlieb S.S. Walking the line of euvolemia. *J. Card. Fail.* 2014;20(8):623–624. DOI: 10.1016/j.cardfail.2014.06.356.
 39. Sokolska J.M., Sokolski M., Zymliński R., Biegus J., Siwołowski P., Nawrocka-Millward S. et al. Distinct clinical phenotypes of congestion in acute heart failure: characteristics, treatment response, and outcomes. *ESC Heart Fail.* 2020;7(6):3830–3840. DOI: 10.1002/ehf2.12973.
 40. Verbrugge F.H. Editor's choice-diuretic resistance in acute heart failure. *Eur. Heart J. Acute Cardiovasc. Care.* 2018;7(4):379–389. DOI: 10.1177/2048872618768488.
 41. Gupta R., Testani J., Collins S. Diuretic resistance in heart failure. *Curr. Heart Fail. Rep.* 2019;16(2):57–66. DOI: 10.1007/s11897-019-0424-1.
 42. Yang Y.J., Kim J., Kwock C.K. Association of genetic variation in the epithelial sodium channel gene with urinary sodium excretion and blood pressure. *Nutrients.* 2018;10(5):612. DOI: 10.3390/nu10050612.
 43. Kenig A., Kolben Y., Asleh R., Amir O., Ilan Y. Improving diuretic response in heart failure by implementing a patient-tailored variability and chronotherapy-guided algorithm. *Front Cardiovasc. Med.* 2021;8:695547. DOI: 10.3389/fcvm.2021.695547.
 44. Ellison D.H., Felker G.M. Diuretic treatment in heart failure. *N. Engl. J. Med.* 2017;377(20):1964–1975. DOI: 10.1056/NEJMra1703100.
 45. Hoorn E.J., Wilcox C.S., Ellison D.H. Chapter 50. Diuretics. Brenner and Rector's the kidney eleventh edition. Elsevier, Philadelphia, PA; 2020:1708–1740.
 46. Wilcox C.S., Testani J.M., Pitt B. Pathophysiology of diuretic resistance and its implications for the management of chronic heart failure. *Hypertension.* 2020;76(4):1045–1054. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15205.
 47. Ravera A., Ter Maaten J.M., Metra M. Diuretic resistance and chronic heart failure. In: Tamg W.H.W., Verbrugge F.H., Mullens W., eds. *Cardiorenal syndrome in heart failure*. London, UK: Springer Nature, 2019:121–135. DOI: 10.1007/978-3-030-21033-5_9.
 48. Rao V.S., Planavsky N., Hanberg J.S., Ahmad T., Brisco-Bacik M.A., Wilson F.P. et al. Compensatory distal reabsorption drives diuretic resistance in human heart failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2017;28(11):3414–3424. DOI: 10.1681/ASN.2016111178.
 49. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Черногорюк Г.Э., Калюжина Е.В., Беспалова И.Д., Терентьева Н.Н. и др. Хроническая сердечная недостаточность: синдром или заболевание? *Бюллетень сибирской медицины.* 2020;19(1):134–139. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-1-134-139.
 50. Ройтберг Г.Е., Струтынский А.В. Внутренние болезни. Сердечно-сосудистая система: учеб. пособие. М.: МЕД-пресс-информ, 2019:904.
 51. McDonagh T.A., Metra M., Adamo M., Gardner R.S., Baumbach A., Böhm M. et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. Heart J.* 2021;42(36):3599–3726. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab670.
 52. Yancy C.W., Jessup M., Bozkurt B., Butler J., Casey D.E. Jr., Drazner M.H. et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013;62(16):e147–239. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.05.019.
 53. Lennie T.A., Song E.K., Wu J.R., Chung M.L., Dunbar S.B., Pressler S.J., Moser D.K. Three-gram sodium intake is associated with longer event-free survival only in patients with advanced heart failure. *J. Card. Fail.* 2011;17(4):325–330. DOI: 10.1016/j.cardfail.2010.11.008.
 54. Billingsley H.E., Hummel S.L., Carbone S. The role of diet and nutrition in heart failure: A state-of-the-art narrative review. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2020;63(5):538–551. DOI: 10.1016/j.pcad.2020.08.004.
 55. Burgermaster M., Rudel R., Seres D. Dietary sodium restriction for heart failure: a systematic review of intervention outcomes and behavioral determinants. *Am. J. Med.* 2020;133(12):1391–1402. DOI: 10.1016/j.amjmed.2020.06.018.
 56. Doukky R., Avery E., Mangla A., Collado F.M., Ibrahim Z., Poulin M.F. et al. Impact of dietary sodium restriction on heart

- failure outcomes. *JACC Heart Fail.* 2016;4(1):24–35. DOI: 10.1016/j.jchf.2015.08.007.
57. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Беграббекова Ю.Л., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А. и др. Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение. *Кардиология.* 2018;58(56):8–161. DOI: 10.18087/cardio.2475.
58. Patel Y., Joseph J. Sodium Intake and Heart Failure. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(24):9474. DOI: 10.3390/ijms21249474.
59. Международное руководство по сердечной недостаточности; ред. С.Дж. Болл, Р.В.Ф. Кемпбелл, Г.С. Френсис; пер. с англ. М.: Медиа Сфера, 1995:89.
60. Metra M., Ponikowski P., Dickstein K., McMurray J.J., Gavazzi A., Bergh C.H. et al. Advanced chronic heart failure: A position statement from the Study Group on Advanced Heart Failure of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur. J. Heart Fail.* 2007;9(6–7):684–694. DOI: 10.1016/j.ejheart.2007.04.003.
61. Bhatt A.S., Yanamandala M., Konstam M.A. For vaptans, as for life, balance is better. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(5):751–753. DOI: 10.1002/ejhf.2042.
62. Rodriguez M., Hernandez M., Cheungpasitporn W., Kashani K.B., Riaz I., Rangaswami J. et al. Hyponatremia in heart failure: pathogenesis and management. *Curr. Cardiol. Rev.* 2019;15(4):252–261. DOI: 10.2174/1573403X15666190306111812.
63. Gunderson E.G., Lillyblad M.P., Fine M., Vardeny O., Berei T.J. Tolvaptan for volume management in heart failure. *Pharmacotherapy.* 2019;39(4):473–485. DOI: 10.1002/phar.2239.
64. Yetkin E., Cuglan B., Turhan H., Ozturk S. A novel strategy to reduce the readmission rates in congestive heart failure: intermittent empirical intravenous diuretics. *Cardiovasc. Endocrinol. Metab.* 2020;9(2):60–63. DOI: 10.1097/XCE.0000000000000200.
65. Buckley L.F., Carter D.M., Matta L., Cheng J.W., Stevens C., Belenkiy R.M. et al. Intravenous diuretic therapy for the management of heart failure and volume overload in a multidisciplinary outpatient unit. *JACC Heart Fail.* 2016;4(1):1–8. DOI: 10.1016/j.jchf.2015.06.017.
66. Halatchev I.G., Wu W.C., Heidenreich P.A., Djukic E., Balasubramanian S., Ohlms K.B. et al. Inpatient versus outpatient intravenous diuresis for the acute exacerbation of chronic heart failure. *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.* 2021;36:100860. DOI: 10.1016/j.ijcha.2021.100860.
67. Verma V., Zhang M., Bell M., Tarolli K., Donalson E., Vaughn J. et al. Outpatient intravenous diuretic clinic: an effective strategy for management of volume overload and reducing immediate hospital admissions. *J. Clin. Med. Res.* 2021;13(4):245–251. DOI: 10.14740/jocmr4499.
68. Buggey J., Mentz R.J., Pitt B., Eisenstein E.L., Anstrom K.J., Velazquez E.J. et al. A reappraisal of loop diuretic choice in heart failure patients. *Am. Heart J.* 2015;169(3):323–333. DOI: 10.1016/j.ahj.2014.12.009.
69. Balsam P., Ozierański K., Marchel M., Gawalko M., Niedziela Ł., Tyminska A. et al. Comparative effectiveness of torasemide versus furosemide in symptomatic therapy in heart failure patients: Preliminary results from the randomized TORNADO trial. *Cardiol. J.* 2019;26(6):661–668. DOI: 10.5603/CJ.a2019.0114.
70. Ozierański K., Balsam P., Kaplon-Cieślicka A., Tyminska A., Kowalik R., Grabowski M. et al. Comparative analysis of long-term outcomes of torasemide and furosemide in heart failure patients in heart failure registries of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2019;33(1):77–86. DOI: 10.1007/s10557-018-6843-5.
71. Verbrugge F.H., Martens P., Ameloot K., Haemels V., Penders J., Dupont M. et al. Acetazolamide to increase natriuresis in congestive heart failure at high risk for diuretic resistance. *Eur. J. Heart Fail.* 2019;21(11):1415–1422. DOI: 10.1002/ejhf.1478.
72. Gill D., Gadela N.V., Azmeen A., Jaiswal A. Usefulness of acetazolamide in the management of diuretic resistance. *Proc. (Bayl. Univ. Med. Cent.).* 2020;34(1):169–171. DOI: 10.1080/08998280.2020.1830332.
73. Testani J.M., Chen J., McCauley B.D., Kimmel S.E., Shannon R.P. Potential effects of aggressive decongestion during the treatment of decompensated heart failure on renal function and survival. *Circulation.* 2010;122(3):265–272. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.933275.
74. Brisco M.A., Zile M.R., Hanberg J.S., Wilson F.P., Parikh C.R., Coca S.G. et al. Relevance of changes in serum creatinine during a heart failure trial of decongestive strategies: insights from the DOSE trial. *J. Card. Fail.* 2016;22:753–760. DOI: 10.1016/j.cardfail.2016.06.423.
75. Gheorghiade M., Vaduganathan M., Ambrosy A., Böhm M., Campia U., Cleland J.G. et al. Current management and future directions for the treatment of patients hospitalized for heart failure with low blood pressure. *Heart Fail. Rev.* 2013;18(2):107–122. DOI: 10.1007/s10741-012-9315-1.
76. Peri-Okonny P.A., Mi X., Khariton Y., Patel K.K., Thomas L., Fonarow G.C. et al. Target doses of heart failure medical therapy and blood pressure: insights from the CHAMP-HF registry. *JACC Heart Fail.* 2019;7(4):350–358. DOI: 10.1016/j.jchf.2018.11.011.
77. Martín-Pérez M., Michel A., Ma M., García Rodríguez L.A. Development of hypotension in patients newly diagnosed with heart failure in UK general practice: retrospective cohort and nested case-control analyses. *BMJ Open.* 2019;9(7):e028750. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-028750.
78. Cautela J., Tartiere J.M., Cohen-Solal A., Bellemain-Appaix A., Theron A., Tibi T. et al. Management of low blood pressure in ambulatory heart failure with reduced ejection fraction patients. *Eur. J. Heart Fail.* 2020;22(8):1357–1365. DOI: 10.1002/ejhf.1835.
79. Crespo-Leiro M.G., Metra M., Lund L.H., Milicic D., Costanzo M.R., Filippatos G. et al. Advanced heart failure: a position statement of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur. J. Heart Fail.* 2018;20(11):1505–1535. DOI: 10.1002/ejhf.1236.
80. Tariq S., Aronow W.S. Use of inotropic agents in treatment of systolic heart failure. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16(12):29060–29068. DOI: 10.3390/ijms161226147.
81. Patel P.H., Nguyen M., Rodriguez R., Surani S., Udeani G. Omecamtiv mecarbil: a novel mechanistic and therapeutic approach to chronic heart failure management. *Cureus.* 2021;13(1):e12419. DOI: 10.7759/cureus.12419.

82. Xiangli S., Lan L., Libiya Z., Jun M., Shubin J. Effect of levosimendan combined with recombinant human brain natriuretic peptide on diuretic resistance. *Libyan J. Med.* 2021;16(1):1973762. DOI: 10.1080/19932820.2021.1973762.
83. Heringlake M., Alvarez J., Bettex D., Bouchez S., Fruhwald S., Girardis M. et al. An update on levosimendan in acute cardiac care: applications and recommendations for optimal efficacy and safety. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 2021;19(4):325–335. DOI: 10.1080/14779072.2021.1905520.
84. Asai Y., Sato T., Kito D., Yamamoto T., Hioki I., Urata Y. et al. Combination therapy of midodrine and droxidopa for refractory hypotension in heart failure with preserved ejection fraction per a pharmacist's proposal: a case report. *J. Pharm. Health Care Sci.* 2021;7(1):10. DOI: 10.1186/s40780-021-00193-z.
85. Li S., Zhao Q., Zhen Y., Li L., Mi Y., Li T. et al. The Impact of Glucocorticoid Therapy on Guideline-Directed Medical Treatment Titration in Patients Hospitalized for Heart Failure with Low Blood Pressure: A Retrospective Study. *Int. J. Gen. Med.* 2021;14:6693–6701. DOI: 10.2147/IJGM.S334132.
86. Liu C., Liu K. Effects of glucocorticoids in potentiating diuresis in heart failure patients with diuretic resistance. *J. Card. Fail.* 2014;20(9):625–629. DOI: 10.1016/j.cardfail.2014.06.353.
87. Liu C., Ge N., Zhai J.L., Zhang J.X. Dexamethasone-induced diuresis is associated with inhibition of the renin-angiotensin-aldosterone system in rats. *Kaohsiung J. Med. Sci.* 2016;32(12):614–619. DOI: 10.1016/j.kjms.2016.09.007.
88. Smets P.M., Lefebvre H.P., Aresu L., Croubels S., Haers H., Piron K. et al. Renal function and morphology in aged Beagle dogs before and after hydrocortisone administration. *PLoS One.* 2012;7(2):e31702. DOI: 10.1371/journal.pone.0031702.
89. Batool A., Salehi N., Chaudhry S., Cross M., Malkawi A., Siraj A. Role of vasodilator therapy in acute heart failure. *Cureus.* 2021;13(8):e17126. DOI: 10.7759/cureus.17126.
90. Cox Z.L., Hung R., Lenihan D.J., Testani J.M. Diuretic strategies for loop diuretic resistance in acute heart failure: the 3T trial. *JACC Heart Fail.* 2020;8(3):157–168. DOI: 10.1016/j.jchf.2019.09.012.
91. Ng T.M., Golland S., Elkayam U. Relaxin for the treatment of acute decompensated heart failure: pharmacology, mechanisms of action, and clinical evidence. *Cardiol. Rev.* 2016;24(4):194–204. DOI: 10.1097/CRD.000000000000089.
92. Bani D. Recombinant human H2 relaxin (serelaxin) as a cardiovascular drug: aiming at the right target. *Drug Discov. Today.* 2020;25(7):1239–1244. DOI: 10.1016/j.drudis.2020.04.014.
93. Caprnda M., Zulli A., Shiwani H.A., Kubatka P., Filipova S., Valentova V. et al. The therapeutic effect of B-type natriuretic peptides in acute decompensated heart failure. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2020;47(7):1120–1133. DOI: 10.1111/1440-1681.13290.
94. Wang L., Zhang Q., Liu M., Chen S., Han S., Li J. et al. Tolvaptan in reversing worsening acute heart failure: A systematic review and meta-analysis. *J. Int. Med. Res.* 2019;47(11):5414–5425. DOI: 10.1177/0300060519882221.
95. Urbach J., Goldsmith S.R. Vasopressin antagonism in heart failure: a review of the hemodynamic studies and major clinical trials. *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* 2021;15:1753944720977741. DOI: 10.1177/1753944720977741.
96. Welch W.J. Adenosine type 1 receptor antagonists in fluid retaining disorders. *Expert. Opin. Investig. Drugs.* 2002;11(11):1553–1562. DOI: 10.1517/13543784.11.11.1553.
97. Jhund P.S., Solomon S.D., Docherty K.F., Heerspink H.J.L., Anand I.S., Böhm M. et al. Efficacy of dapagliflozin on renal function and outcomes in patients with heart failure with reduced ejection fraction: results of DAPA-HF. *Circulation.* 2021;143(4):298–309. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.050391.
98. Griffin M., Rao V.S., Ivey-Miranda J., Fleming J., Mahoney D., Maulion C. et al. Empagliflozin in heart failure: diuretic and cardiorenal effects. *Circulation.* 2020;142(11):1028–1039. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.045691.
99. Sarzani R., Giulietti F., Di Pentima C., Spannella F. Sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors: peculiar «hybrid» diuretics that protect from target organ damage and cardiovascular events. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2020;30(10):1622–1632. DOI: 10.1016/j.numecd.2020.05.030.
100. Delanaye P., Scheen A.J. The diuretic effects of SGLT2 inhibitors: a comprehensive review of their specificities and their role in renal protection. *Diabetes Metab.* 2021;47(6):101285. DOI: 10.1016/j.diabet.2021.101285.
101. Lee T.H., Kuo G., Chang C.H., Huang Y.T., Yen C.L., Lee C.C. et al. Diuretic effect of co-administration of furosemide and albumin in comparison to furosemide therapy alone: an updated systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2021;16(12):e0260312. DOI: 10.1371/journal.pone.0260312.
102. Kitsios G.D., Mascari P., Ettunsi R., Gray A.W. Co-administration of furosemide with albumin for overcoming diuretic resistance in patients with hypoalbuminemia: a meta-analysis. *J. Crit. Care.* 2014;29(2):253–259. DOI: 10.1016/j.jcrc.2013.10.004.
103. Mahmoodpoor A., Zahedi S., Pourakbar A., Hamishehkar H., Shadvar K., Asgharian P. et al. Efficacy of furosemide-albumin compared with furosemide in critically ill hypoalbuminemia patients admitted to intensive care unit: a prospective randomized clinical trial. *Daru.* 2020;28(1):263–269. DOI: 10.1007/s40199-020-00339-8.
104. Urban S., Błaziak M., Biegus J., Zymlński R. Ultrafiltration in acute heart failure: current knowledge and fields for further research. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2021;30(7):737–746. DOI: 10.17219/acem/135347.
105. Prins K.W., Wille K.M., Tallaj J.A., Tolwani A.J. Assessing continuous renal replacement therapy as a rescue strategy in cardiorenal syndrome 1. *Clin. Kidney J.* 2015;8(1):87–92. DOI: 10.1093/ckj/sfu123.
106. Shi X., Bao J., Zhang H., Wang H., Li L., Zhang Y. Patients with high-dose diuretics should get ultrafiltration in the management of decompensated heart failure: a meta-analysis. *Heart Fail. Rev.* 2019;24(6):927–940. DOI: 10.1007/s10741-019-09812-2.
107. Morales R.O., Barbosa F., Farre N. Peritoneal dialysis in heart failure: focus on kidney and ventricular dysfunction. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2021;22(3):649–657. DOI: 10.31083/j.rcm2203075.
108. Chionh C.Y., Clementi A., Poh C.B., Finkelstein F.O., Cruz D.N. The use of peritoneal dialysis in heart failure:

- A systematic review. *Perit. Dial. Int.* 2020;40(6):527–539. DOI: 10.1177/0896860819895198.
109. Yazdanyar A., Sanon J., Lo K.B., Joshi A.M., Kurtz E., Saqib M.N. et al. Outcomes with ultrafiltration among hospitalized patients with acute heart failure (from the national inpatient sample). *Am. J. Cardiol.* 2021;142:97–102. DOI: 10.1016/j.amjcard.2020.11.041.
110. Rajapreyar I., Kumar S., Rao R.A. Ambulatory advanced heart failure patients: timing of mechanical circulatory support - delaying the inevitable? *Curr. Opin. Cardiol.* 2021;36(2):186–197. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000831.
111. Lombardi C.M., Cimino G., Pellicori P., Bonelli A., Inciardi R.M., Pagnesi M. et al. Congestion in patients with advanced heart failure: assessment and treatment. *Heart Fail. Clin.* 2021;17(4):575–586. DOI: 10.1016/j.hfc.2021.05.003.
112. Antonides C.F.J., Schoenrath F., de By T.M.M.H., Muslem R., Veen K., Yalcin Y.C. et al. EUROMACS investigators. Outcomes of patients after successful left ventricular assist device explantation: a EUROMACS study. *ESC Heart Fail.* 2020;7(3):1085–1094. DOI: 10.1002/ehf2.12629.
113. Griffin M., Soufer A., Goljo E., Colna M., Rao V.S., Jeon S. et al. Real world use of hypertonic saline in refractory acute decompensated heart failure: a U.S. center's experience. *JACC Heart Fail.* 2020;8(3):199–208. DOI: 10.1016/j.jchf.2019.10.012.
114. Covic A., Copur S., Tapoi L., Afsar B., Ureche C., Siritopol D. et al. Efficiency of hypertonic saline in the management of decompensated heart failure: a systematic review and meta-analysis of clinical studies. *Am. J. Cardiovasc. Drugs.* 2021;21(3):331–347. DOI: 10.1007/s40256-020-00453-7.
115. Birch F., Boam E., Parsons S., Ghosh J., Johnson M.J. 'Subcutaneous furosemide in advanced heart failure: service improvement project'. *BMJ Support Palliat. Care.* 2021;bmj-sp-care-2020-002803. DOI: 10.1136/bmj-sp-care-2020-002803.
116. López-Vilella R., Sánchez-Lázaro I., Husillos Tamarit I., Monte Boquet E., Núñez Villota J., Donoso Trenado V. et al. Administration of subcutaneous furosemide in elastomeric pump vs. oral solution for the treatment of diuretic refractory congestion. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.* 2021;28(6):589–596. DOI: 10.1007/s40292-021-00476-4.
117. Acar S., Sanli S., Oztosun C., Afsar B., Sag A.A., Kuwbara M. et al. Pharmacologic and interventional paradigms of diuretic resistance in congestive heart failure: a narrative review. *Int. Urol. Nephrol.* 2021;53(9):1839–1849. DOI: 10.1007/s11255-020-02704-7.
118. Voors A.A., Kremer D., Geven C., Ter Maaten J.M., Struck J., Bergmann A. et al. Adrenomedullin in heart failure: pathophysiology and therapeutic application. *Eur. J. Heart Fail.* 2019;21(2):163–171. DOI: 10.1002/ejhf.1366.
119. Liu W., Yan J., Pan W., Tang M. Apelin/Elabela-APJ: a novel therapeutic target in the cardiovascular system. *Ann. Transl. Med.* 2020;8(5):243. DOI: 10.21037/atm.2020.02.07.
120. Ma Z., Song J.J., Martin S., Yang X.C., Zhong J.C. The Elabela-APJ axis: a promising therapeutic target for heart failure. *Heart Fail Rev.* 2021;26(5):1249–1258. DOI: 10.1007/s10741-020-09957-5.
121. Fudim M., Ganesh A., Green C., Jones W.S., Blazing M.A., DeVore A.D. et al. Splanchnic nerve block for decompensated chronic heart failure: splanchnic-HF. *Eur. Heart J.* 2018;39(48):4255–4256. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy682.
122. Fudim M., Ponikowski P.P., Burkhoff D., Dunlap M.E., Sobotka P.A., Molinger J. et al. Splanchnic nerve modulation in heart failure: mechanistic overview, initial clinical experience, and safety considerations. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(7):1076–1084. DOI: 10.1002/ejhf.2196.
123. Козловская Н.Л. Низкомолекулярные гепарины в практике нефролога. *Клиническая нефрология.* 2011;1:15–22.
124. Targonski R., Sadowski J., Cyganski P.A. Impact of anticoagulation on the effectiveness of loop diuretics in heart failure with cardiorenal syndrome and venous thromboembolism. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2014;25(2):180–182. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000012.
125. Pugliese N.R., Fabiani I., Conte L., Nesti L., Masi S., Natali A. et al. Persistent congestion, renal dysfunction and inflammatory cytokines in acute heart failure: a prognosis study. *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown).* 2020;21(7):494–502. DOI: 10.2459/JCM.0000000000000974.
126. Fu K., Hu Y., Zhang H., Wang C., Lin Z., Lu H. et al. Insights of worsening renal function in type 1 cardiorenal syndrome: from the pathogenesis, biomarkers to treatment. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021;8:760152. DOI: 10.3389/fcvm.2021.760152.
127. Тепляков А.Т., Болотская Л.А., Степачева Т.А., Карман Н.В., Рыбальченко Е.В., Шилов С.Н. и др. Супрессивное влияние рекомбинантного иммуномодулятора ронколейкина на уровень провоспалительных цитокинов, аутоантител к кардиолипину в крови и сердечную недостаточность. *Кардиология.* 2008;48(8):34–40.
128. Reina-Couto M., Pereira-Terra P., Quelhas-Santos J., Silva-Pereira C., Albino-Teixeira A., Sousa T. Inflammation in human heart failure: major mediators and therapeutic targets. *Front. Physiol.* 2021;12:746494. DOI: 10.3389/fphys.2021.746494.

Информация об авторах

Калюжин Вадим Витальевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhinvv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9640-2028>

Тепляков Александр Трофимович – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, Vgelen1970@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0721-0038>

Беспалова Инна Давидовна – д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, innadave@mail2000.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4513-6329>

Калюжина Елена Викторовна – д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhina.e@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7978-5327>

Терентьева Надежда Николаевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней СурГУ, г. Сургут, nadiater@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0462-3526>

Лившиц Инна Климентьевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, lik78.78@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2357-6910>

Останко Валентина Леонидовна – канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, valentina209@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9950-721X>

Гракова Елена Викторовна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, gev@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4019-3735>

Копьева Кристина Васильевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение патологии миокарда, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, Kristin-kop@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2285-6438>

Усов Владимир Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения рентгеновских и томографических методов диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, usov1962@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7978-5514>

Гарганеева Наталья Петровна – д-р мед. наук, профессор, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, garganeeva@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7353-7154>

Горелова Юнона Валериевна – канд. мед. наук, ассистент, кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, junonag@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8119-9482>

(✉) **Калюжин Вадим Витальевич**, kalyuzhinvv@mail.ru

Поступила в редакцию 17.01.2022;
одобрена после рецензирования 03.03.2022;
принята к публикации 10.03.2022

УДК 616.211-002.193-085.37
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-168-174>

Аллерген-специфическая иммунотерапия при аллергическом рините

Климов В.В., Кошкарлова Н.С., Свиридова В.С., Климов А.В.

*Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

РЕЗЮМЕ

Настоящий обзор фокусирован на аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ), методе лечения атопических болезней, включающих аллергический ринит. Рассматриваются теоретические и практические основы, перспективы развития, показания и противопоказания к АСИТ, особенности выполнения процедур АСИТ при аллергическом рините и толерогенные эффекты иммунотерапии. Отмечены преимущества и недостатки каждого из двух предпочтительных методов введения аллергенов, подкожного и подязычного. Главной целью дальнейшего усовершенствования АСИТ является укорочение продолжительности протоколов лечения без существенной потери эффективности, создание более надежного профиля безопасности и распространение АСИТ в развивающихся странах.

Ключевые слова: аллерген-специфическая иммунотерапия, пути введения аллергенов, аллергический ринит, толерантность к аллергенам

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Климов В.В., Кошкарлова Н.С., Свиридова В.С., Климов А.В. Аллерген-специфическая иммунотерапия при аллергическом рините. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):168–174. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-168-174>.

Allergen-specific immunotherapy in allergic rhinitis

Klimov V.V., Koshkarova N.S., Sviridova V.S., Klimov A.V.

*Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

The review focuses on allergen-specific immunotherapy (AIT), a treatment method for atopic diseases, including allergic rhinitis. The theoretical and practical basics, development prospects, indications and contraindications to AIT, peculiarities of AIT execution in allergic rhinitis, and tolerogenic effects of immunotherapy are considered. Advantages and disadvantages of each of the two preferable routes of allergen administration in AIT, subcutaneous and sublingual, are described. The main goals of further AIT advancement include shortening of treatment protocols with no significant loss of efficacy, creation of a safer adverse effect profile, and distribution of AIT in developing countries.

Keywords: allergen-specific immunotherapy, allergen administration routes, allergic rhinitis, allergen tolerance

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

For citation: Klimov V.V., Koshkarova N.S., Sviridova V.S., Klimov A.V. Allergen-specific immunotherapy in allergic rhinitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):168–174. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-168-174>.

ВВЕДЕНИЕ

Аллерген-специфическую иммунотерапию (АСИТ) изобрел выдающийся британский исследователь Леонард Нун (Leonard Noon) (рис. 1), который опубликовал свою революционную статью «Профилактическая иммунизация против сенной лихорадки» в журнале *Lancet* в 1911 г. [1]. Всю свою короткую жизнь Л. Нун чувствовал сладость исследовательской работы, не покидая лабораторию до глубокой ночи, часто работая по 3–4 ч ранним утром и иногда до рассвета. Умирая от туберкулеза, он продолжал думать о своем замечательном изобретении задолго до появления противоаллергической фармакотерапии [2].

АСИТ используется в здравоохранении более 100 лет, помогая миллионам людей с atopическими болезнями, детям, женщинам и мужчинам и создавая новые неожиданные тенденции в медицине. В наши дни эффективность и безопасность АСИТ продемонстрирована в двойных слепых, многоцентровых, плацебо-контролируемых исследованиях, а протоколы проведения АСИТ и клинические комментарии к ним были утверждены в международных согласительных документах [3]. АСИТ, единственный модифицирующий болезнь метод лечения atopических болезней, классифицирован как метод с самым высоким уровнем доказательной медицины с преимуществами, превышающими фармакотерапию. В частности, АСИТ может остановить аллергический марш у больных с аллергическим ринитом [4–6].

ОСНОВЫ И БУДУЩИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

Существует по крайней мере пять способов введения аллергенов при АСИТ: подкожный [7–9], подъязычный [10–12], оральный [13–15], эпикутанный [16, 17] и внутрилимфатический [18, 19]. В настоящее время документировано и апробировано два пути введения аллергенов для применения в практике: подкожный [7] и подъязычный [10]. Третий путь, оральный, находится в разработке.

Главными показаниями для АСИТ являются atopические болезни: аллергический ринит, аллергическая астма, atopический дерматит. Дополнительные уточняющие показания [20]: невозможность эффективного контроля за симптомами болезни с помощью фармакотерапии; серьезные побочные эффекты при фармакотерапии; неготовность пациентов к продолжительной фармакотерапии.

АСИТ противопоказана при рецидивах atopических болезней, неконтролируемой тяжелой астме, тяжелых кардиоваскулярных расстройствах, психозах, злокачественных опухолях, тяжелых системных аутоиммунных болезнях, беременности в начале иммунотерапии и острых инфекциях [21]. Побочные реакции в ходе АСИТ разделяются на две группы: системные и локальные. Системные реакции встречаются исключительно редко и мониторируются Всемирной аллергологической организацией [22, 23].

Рекомендуемый возраст начала АСИТ варьирует в разных странах от 3 до 5 лет [7, 20]. Эффективность АСИТ и польза для пациентов доказаны [24].



Рис. 1. Leonard Noon (1877–1913)

К сожалению, среди некоторых детей и их родителей наблюдается низкий уровень сотрудничества, что приводит к нарушению проводимого протокола АСИТ и достижению низкой эффективности лечения.

Подкожная иммунотерапия [7–9] является классическим методом лечения атопических болезней, используемым в течение многих лет. Но имеется большой потенциал дальнейшего усовершенствования этого пути введения аллергенов, комбинаций аллергенов и аллергоидов с биологическими молекулами типа омализумаб и множеством адъювантов (рекомбинантных аллергенов, гипоаллергенных и конформационных субстанций, мутантов, фрагментов и олигомеров аллергенов, а также гибридных и мозаичных антигенов) [25]. Хотя клинические разработки были ранее главным образом сфокусированы на подъязычной АСИТ, внимание к развитию подкожного метода вновь повысилось в последние 10 лет. Однако необходимость повторных инъекций и риск серьезных побочных эффектов, ассоциированных с подкожной АСИТ, лимитируют перспективу ее широкого распространения в практике. По мнению некоторых исследователей, будущее АСИТ может принадлежать подъязычному пути введения аллергенов [26].

Подъязычная АСИТ распространена в настоящее время очень широко. Форма вводимых аллергенов существует в таблетках и каплях. Таблетки и капли вводятся под язык и держатся до проглатывания или выплевываются. Потенциал подъязычной АСИТ обусловлен безопасностью и низким риском системных побочных реакций, достижением долгосрочного клинического эффекта и отсутствием необходимости частого посещения медицинского учреждения и консультирования у аллерголога [10, 11]. Поэтому лечение может быстро претерпевать изменения в составе аллергенов, если это потребуются.

Оральная АСИТ для терапии пищевой аллергии в настоящее время находится на пике актуальности, однако пока не доказано, действительно ли она приводит к десенсибилизации к пищевым аллергенам. Метод заключается в регулярном приеме небольших, постоянно нарастающих доз пищевых аллергенов. Мягкие побочные реакции встречаются часто, например зуд во рту и глотке и боль в животе. В настоящее время проведена стандартизация только для арахиса [13–15], но предварительные клинические испытания показали значительную пользу также при лечении пищевой аллергии на коровье молоко и куриное яйцо.

Эпикутанная иммунотерапия основана на высокой плотности профессиональных антиген-представляющих клеток Лангерганса в эпидермисе, которые вводятся вместе с аллергеном, чтобы воздействовать на иммунную систему. Одновременно представляет

ся возможность применять толерогенные адъюванты [16]. Другая модификация метода заключается в аппликации кожных сменных патчей для ежедневной поддерживающей дозы аллергенов [17]. Поскольку эпидермис не васкуляризован, риск системных побочных реакций существенно ниже, чем при других путях введения аллергенов. Эпикутанная АСИТ продемонстрировала более продолжительный клинический эффект при пищевой аллергии.

Внутрилимфатическая иммунотерапия включает три инъекции бытовых, эпидермальных и пыльцевых аллергенов под контролем ультразвука в паховые лимфатические узлы с интервалом 4 нед, что позволяет получать один курс лечения за 2 мес. Но в целом для полного курса АСИТ требуется 3 года [19]. Постоянно увеличивается число публикаций, посвященных внутрилимфатической АСИТ, что является многообещающим знаком, но пока недостаточным для получения доказательств, необходимых для рутинного использования этого метода в практике [27].

Перед началом курса АСИТ аллерголог определяет состав аллергенов, путь введения и график. Опытная медсестра выполняет подкожные инъекции в процедурном кабинете [28]. После инъекции пациент должен находиться под наблюдением по крайней мере 30 мин. Ежемесячные посещения медицинского учреждения пациентом для очередной инъекции являются обязательными. При подъязычной АСИТ прием аллергенов осуществляется пациентом дома самостоятельно и ежедневно. В случае побочных эффектов необходимо информировать о них аллерголога.

Будущие перспективы АСИТ включают разработку альтернативных способов введения аллергенов, иммуномодулирующих адъювантов, аллергоидов [29, 30], рекомбинантных вакцин [18, 31–33], контейнеров для аллергенов типа вирусоподобных частиц и липосом. Главная цель усовершенствования АСИТ заключается в укорочении существующих протоколов без потери эффективности иммунотерапии, создании лучшего профиля побочных реакций и распространение АСИТ в развивающихся странах [3].

АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ В РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ БОЛЬНЫХ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ РИНИТОМ

При аллергическом рините АСИТ используется более 100 лет, показав высокую эффективность. Подъязычная иммунотерапия рекомендована для лечения сезонного и круглогодичного ринита у взрослых и детей, с некоторым ограничением при кругло-

годовой форме болезни из-за аллергенов домашнего клеща (HDM) [34]. Но в связи с гетерогенностью аллергенов, разными подходами к публикации отчетов и отсутствием установленной дозы стандартизация подъязычной АСИТ у сенсibilизированных HDM пациентов пока на утверждении. Исследование [35] продемонстрировало долговременные эффекты до 7 лет после двухлетнего курса подъязычной АСИТ у моно- и полисенсibilизированных детей. При моновалентной сенсibilизации отмечен более устойчивый эффект.

В другом исследовании [36] эффективность и безопасность HDM-таблеток с индексом реактивности 300 у детей в возрасте 5–16 лет с аллергическим ринитом были оценены в двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании. HDM-таблетки значительно нивелировали симптомы круглогодичного ринита, вызывали необходимый иммунный ответ; профиль безопасности у детей был высоким, сопоставимым со взрослыми, без каких-либо эксцессов.

Проведено изучение эффективности подъязычной АСИТ у взрослых, сенсibilизированных HDM, которые страдали от круглогодичного ринита и других сопутствующих атопий (астмы, конъюнктивита, атопического дерматита) [37]. Продemonстрировано благоприятное влияние иммунотерапии не только на исходы аллергического ринита, но и на преморбидную патологию. Пролонгированный позитивный эффект после трехлетней подъязычной АСИТ наблюдался у пожилых пациентов с аллергическим ринитом при сенсibilизации HDM [38]. В другом исследовании [39] 41,9% пожилых пациентов, сенсibilизированных HDM и страдающих аллергическим ринитом, прерывали лечение в ходе двухлетней подъязычной АСИТ, при этом наиболее частыми причинами были недоступность лекарств и сохраняющиеся симптомы болезни.

В исследовании [40] большинство больных с аллергическим ринитом в среднем возрасте 27,3 лет были удовлетворены результатами трехлетней подъязычной АСИТ, которая редуцировала тяжесть симптомов и улучшала качество жизни. Не отмечено достоверной разницы в эффективности между подкожной и подъязычной АСИТ в недавно проведенных метаанализах, но подъязычная иммунотерапия имела больше локальных и меньше системных побочных реакций [41]. Анализ минимизации стоимости показал, что HDM-таблетки были снижающей стоимостью альтернативой по отношению к подкожной АСИТ с экстрактами HDM при рассмотрении в социальной перспективе [42]. При лечении персистирующего среднетяжелого к тяжелому аллерги-

ческого ринита HDM-таблетки, в дополнении к фармакотерапии, имели стоимостную эффективность 2 276 евро в 9-летнем временном горизонте по сравнению со стоимостью фармакотерапии и плацебо, которая составляла 7 519 евро. Кроме того, персистирующий среднетяжелый к тяжелому аллергический ринит плохо контролировался противоаллергической фармакотерапией [43].

Клиническая и иммунологическая эффективность АСИТ при локальном аллергическом рините еще не документирована, и международные рекомендации по этому вопросу пока не утверждены. Было проведено двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование (фаза II) пациентов с локальным аллергическим ринитом, сенсibilизированных *D. pteronyssinus*, которым осуществлялась подкожная АСИТ [44]. Первоначальные маркеры включали симптомы, расчет фармакотерапии, число дней, свободных от фармакотерапии, а вторичные маркеры учитывали кожные аллерготесты, уровень специфических сывороточных иммуноглобулинов (Ig) E и IgG₄, назальный аллерген-провокационный тест и побочные реакции. АСИТ вызвала достоверное улучшение в обеих группах маркеров по сравнению с плацебо. После 12 мес иммунотерапии отмечено становление аллерген-толерантности с негативным назальным аллерген-провокационным тестом у половины пациентов и достоверное повышение специфических сывороточных IgG₄. Иммунотерапия была толерогенной без системных побочных реакций. Исследование продемонстрировало безопасность и клиническую эффективность подкожной АСИТ при локальном аллергическом рините, подтвердив, что эта форма патологии является новым показанием для АСИТ [44].

ТОЛЕРОГЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

АСИТ выполняется путем введения постепенно нарастающих доз причинного аллергена до поддерживающей дозы с тем, чтобы достигнуть долгосрочной аллергенной толерантности к этому аллергену [45]. АСИТ включает толерогенный ответ иммунной системы к виновному аллергену, приводя к толерантности хелперных Т-клеток 2-го типа (Th2) и поляризации хелперных Т-клеток 1-го типа (Th1). Соответственно, аллергические антитела IgE переключаются на блокирующие антитела IgG₄ и IgA₂ [46, 47] и формируются аллерген-специфические клетки памяти: *memTreg*, *memT*-клетки и *memB*-клетки [48]. Полный спектр протолерогенных клеток и молекул постепенно начинает включаться к середине года [49–52], вызывая стимуляцию Th1 в части контроля

за переключением изотипа антител. У отвечающих на АСИТ пациентов уровень IgE сначала повышается, но затем к концу первого года иммунотерапии и позже снижается. Содержание IgG₄ увеличивается, но это повышение стабилизируется после двух лет иммунотерапии [51] (рис. 2).

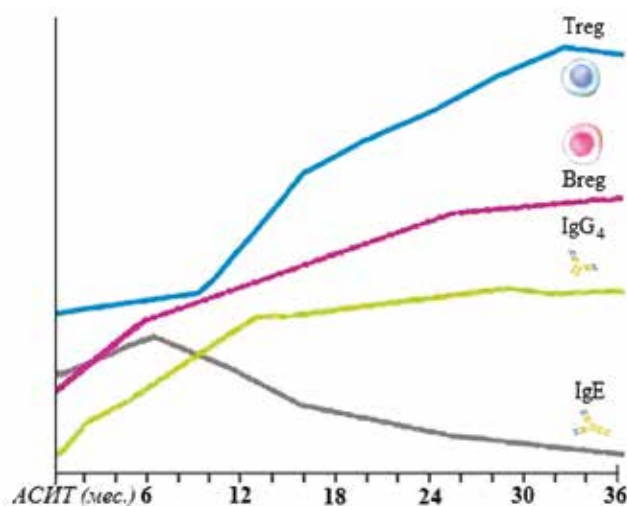


Рис. 2. Последовательность изменения иммунологических показателей при АСИТ: блокирующие антитела IgG₄ увеличивались к 12 мес и стабилизировались после 2-го года, в то время как антитела IgE первоначально повышались и уменьшались после 1-го года. Регуляторные В-клетки (Bregs) достигали высокого уровня к концу 2-го года, но регуляторные Т-клетки (pTregs) увеличивались после 30 нед терапии, затем нарастали, слегка отклоняясь к концу 3-го года. В соответствии с [51]

К концу первого года и позже увеличиваются иммуносупрессивные цитокины интерлейкин (IL) 10, трансформирующий фактор роста бета, IL-27, IL-35, IL-10-секретирующие регуляторные В-клетки (Bregs), которые ингибируют Th2, Tfh, Th17, Th22 и ILC2. Примечательно, что Bregs повышаются раньше, чем Tregs [53], достигая максимума после второго года [51]. Однако средний уровень Tregs регистрируется после 30 нед иммунотерапии, затем они продолжают увеличиваться, слегка отклоняясь к концу третьего года АСИТ [51].

Регуляторные клетки (Tregs и Bregs) играют важную роль в формировании клеток памяти: memTregs, memB-клетки и memT-клетки, которые необходимы для обеспечения долгосрочной эффективности АСИТ [48, 50, 52, 54].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аллерген-специфическая иммунотерапия является модифицирующим болезнь методом лечения атопических болезней, который имеет самый высокий

уровень доказательной медицины с преимуществами перед фармакотерапией. Существенным является то, что этот вид иммунотерапии может останавливать атопический марш у больных аллергическим ринитом [4–6]. АСИТ имеет более чем 100-летнюю историю, начиная с того, как Leonard Noon изобрел этот метод. В наши дни проходит процесс улучшения качества аллергенов, становление их новых комбинаций и протоколов введения, расширяются масштабы научных исследований аллергенной толерантности вследствие АСИТ и накапливается клинический опыт.

АСИТ показала высокую эффективность при аллергическом рините и продемонстрировала возможность использования при новой форме патологии – локальном аллергическом рините [44]. Среди путей введения аллергенов сублингвальный метод признается предпочтительным благодаря лучшему профилю безопасности и сравнимой с подкожным способом эффективностью. АСИТ может сочетаться с противоаллергической фармакотерапией, включая биолоджики, что придает методу еще более высокую перспективу для аллергологии [3].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Noon L., Cantab B.C. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet*. 1911;177(1): 4580:1572–1573. DOI: 10.1016/s0140-6736(00)78276-6.
2. Freeman J. Leonard Noon. *Int. Arch. Allergy*. 1953;4:282–284.
3. Breiteneder H., Diamant Z., Eiwegger T., Fokkens W.J., Traidl-Hoffmann C., Nadeau K. et al. Future research trends in understanding the mechanisms underlying allergic diseases for improved patient care. *Allergy*. 2019;74:2293–2311. DOI: 10.1111/all.13851.
4. Tang R.B. House dust mite-specific immunotherapy alters the natural course of atopic march. *J. Chin. Med. Assoc.* 2020;83(2):109–112. DOI:10.1097/JCMA.0000000000000231.
5. Ciprandi G., Tosca M.A. House dust mites-driven allergic rhinitis: could its natural history be modified? *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2021;17(2):109–114. DOI: 10.1080/1744666X.2021.1879642.
6. Zielen S., Devillier P., Heinrich J., Richter H., Wahn U. Sublingual immunotherapy provides long-term relief in allergic rhinitis and reduces the risk of asthma: A retrospective, real-world database analysis. *Allergy*. 2018;73(1):165–177. DOI: 10.1111/all.13213.
7. Klimek L., Brehler R., Hamelmann E., Kopp M., Ring J., Treudler R. et al. Development of subcutaneous allergen immunotherapy (part 2): preventive aspects and innovations. *Allergo. J. Int.* 2019;28:107–119. DOI: 10.1007/s40629-019-0097-z.
8. Vogelberg C., Brueggemann B., Richter H., Jutel M. Impact of subcutaneous allergoid AIT on patients with allergic rhinitis and/or asthma: A retrospective real-life, long-term cohort analysis. *Eur. Resp. J.* 2020;56:243. DOI: 10.1183/13993003.congress-2020.243.

9. Castro-Almarales R.L., Ronquillo-Díaz M., Álvarez-Castelló M., Rodríguez-Canosa J., González-León M., Enríquez-Domínguez I. et al. A Subcutaneous allergen immunotherapy for asthma: A randomized, double-blind, placebo-controlled study with a standardized *Blomia tropicalis* vaccine. *WAO J.* 2020;13:10098. DOI: 10.1016/j.waojou.2020.100098.
10. Ohashi-Doi K., Lund K., Mitobe Y., Okamiya K. State of the art: development of a sublingual allergy immunotherapy tablet for allergic rhinitis in Japan. *Biol. Pharm. Bull.* 2020;43(1):41–48.
11. Caffarelli C., Mastroianni C., Procaccianti M., Santoro A. Use of sublingual immunotherapy for aeroallergens in children with asthma. *J. Clin. Med.* 2020;9:3381. DOI: 10.3390/jcm9103381.
12. Lin S.Y., Ereksom N., Kim J.M., Ramanathan M., Suarez-Cuervo Y., Yohalakshmi C. et al. Sublingual immunotherapy for the treatment of allergic rhinoconjunctivitis and asthma: A systematic review. *JAMA.* 2013;309(12):1278–1288. DOI: 10.1001/jama.2013.2049.
13. Głobińska A., Boonpiyathad T., Satitsuksanoa P., Kleuskens M., van der Veen W., Sokolowska M. et al. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. Diverse mechanisms of immune tolerance to allergens. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2018;121:306–312. DOI: 10.1016/j.anai.2018.06.026.
14. Mäntylä J., Thomander T., Hakulinen A., Kukkonen K., Palo-suo K., Voutilainen H. et al. The effect of oral immunotherapy treatment in severe IgE mediated milk, peanut, and egg allergy in adults. *Immun Inflamm Dis.* 2018;6(2):307–311. DOI: 10.1002/iid3.218.
15. Nagakura K.-I., Sato S., Yanagida N., Nishino M., Asaumi T., Ogura K. et al. Oral immunotherapy in Japanese children with anaphylactic peanut allergy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2018;175(3):181–188. DOI: 10.1159/000486310.
16. Wang Y., Kong Y., Wu M.X. Innovative systems to deliver allergen powder for epicutaneous immunotherapy. *Front Immunol.* 2021;12:647954. DOI: 10.3389/fimmu.2021.647954.
17. Liu G., Liu M., Wang J., Mou Y., Che H. The role of regulatory T cells in epicutaneous immunotherapy for food allergy. *Front Immunol.* 2021;12:660974. DOI: 10.3389/fimmu.2021.660974.
18. Pfaar O., Lou H., Zhang Y., Klimek L., Zhang L. Recent developments and highlights in allergen immunotherapy. *Allergy.* 2018;73:2274–2289. DOI: 10.1111/all/13652.
19. Senti G., Freiburghaus A., Larenas-Linnemann D., Hoffmann H.J., Patterson A.M., Klimek L. et al. Intralymphatic immunotherapy: update and unmet needs. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2019;178:141–149. DOI: 10.1159/000493647.
20. Bao Y., Chen J., Cheng L., Guo Y., Hong S., Kong W. et al. Chinese guideline on allergen immunotherapy for allergic rhinitis. *J. Thorac. Dis.* 2017;9(11):4607–4650. DOI: 10.21037/jtd.2017.10.112.
21. Klimov V.V. Allergen-specific immunotherapy. In: From basic to clinical immunology. Cham: Springer, 2019:347–358. DOI: 10.1007/978-3-030-03323-1_11.
22. Epstein T.G., Calabria C., Cox L.S., Dreborg S. Current evidence on safety and practical considerations for administration of sublingual allergen immunotherapy (SLIT) in the United States. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2017;5(1):34–40.e2. DOI: 10.1016/j.jaip.2016.09.017.
23. Huang Y., Wang C., Wang X., Zhang L., Lou H. Efficacy and safety of subcutaneous immunotherapy with house dust mite for allergic rhinitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Allergy.* 2019;74(1):189–192. DOI: 10.1111/all.13583.
24. Blome C., Hadler M., Karagiannis E., Kirsch J., Neht C., Kressel N. et al. Relevant patient benefit of sublingual immunotherapy with birch pollen allergen extract in allergic rhinitis: An Open, prospective, non-interventional study. *Adv. Ther.* 2020;37:2932–2945. DOI: 10.6084/m9.figshare.12091017.
25. Tonti E., Larché M. Concepts and perspectives on peptide-based immunotherapy in allergy. *Allergo J. Int.* 2016;25:144–153. DOI: 10.1007/s40629-016-0121-5.
26. Karthikeyan P., Pulimootil D.T., Sankar R. Long-term effects of allergen-specific subcutaneous immunotherapy for house dust mite induced allergic rhinitis. *J. Laryngol. Otol.* 2018;132(7):665. DOI: 10.1017/S0022215118000683.
27. Lee S.P., Choi S.J., Joe E., Lee S.M., Lee M.W., Shim J.W. et al. A pilot study of intralymphatic immunotherapy for house dust mite, cat, and dog allergies. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2017;9:272–277. DOI: 10.4168/aaair.2017.9.3.272.
28. Wise S.K., Lin S.Y., Toskala E., Orlandi R.R., Akdis C.A., Alt J.A. et al. International consensus statement on allergy and rhinology: Allergic rhinitis. *Int. Forum Allergy Rhinol.* 2018;8(2):108–352. DOI: 10.1002/alar.22073.
29. Oliver C.E. The use of allergoids and adjuvants in allergen immunotherapy. *Arch. Asthma Allergy Immunol.* 2017;1:40–60. DOI: 10.29328/journal.haard.1001006.
30. Klimek L., Fox G.C., Thum-Oltmer S. SCIT with a high-dose house dust mite allergoid is well tolerated: safety data from pooled clinical trials and more than 10 years of daily practice analyzed in different subgroups. *Allergo J. Int.* 2018;27(5):131–139. DOI: 10.1007/s40629-018-0059-x.
31. Gunawardana N.C., Durham S.R. New approaches to allergen immunotherapy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2018;121:293–305. DOI: 10.1016/j.anai.2018.07.014.
32. Machado O.L.T., Campos-Mesquita D.M., Pacheco-Soares T. Chapter 4. Antihistaminic treatment, allergen-specific immunotherapy, and blockade of IgE as alternative allergy treatments. In: Athari S.S., ed. Allergen. London: IntechOpen;2017:67–75. DOI: 10.5772/intechopen.69912.
33. Jensen-Jarolim E., Roth-Walter F., Jordakieva G., Pali-Schöll I. Allergens and adjuvants in allergen immunotherapy for immune activation, tolerance, and resilience. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2021;9(5):1780–1789. DOI: 10.1016/j.jaip.2020.12.008.
34. Cho S.-W., Han D.H., Kim J.-W., Kim D.-Y., Rhee C.-S. House dust mite sublingual immunotherapy in allergic rhinitis. *Immunotherapy.* 2018;10(7):567–578. DOI: 10.2217/imt-2018-0013.
35. Cui L., Li J., Li Y., Xia Z. Long-term efficacy of sublingual mite immunotherapy in monosensitized and polysensitized children with allergic rhinitis: A 7-Year prospective study. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2019;180(2):144–149. DOI: 10.1159/000500524.
36. Okamoto Y., Fujieda S., Okano M., Hida H., Kakudo S., Masuyama K. Efficacy of house dust mite sublingual tablet in the treatment of allergic rhinoconjunctivitis: A randomized trial in a pediatric population. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2019;30(1):66–73. DOI: 10.1111/pai.12984.

37. Chan A.W., Luk W.P., Fung L.H., Lee T.H. The effectiveness of sublingual immunotherapy for house dust mite-induced allergic rhinitis and its co-morbid conditions. *Immunotherapy*. 2019;11(16):1387–1397. DOI: 10.2217/imt-2019-0093.
38. Bozek A., Starczewska-Dymek L., Jarzab J. Prolonged effect of allergen sublingual immunotherapy for house dust mites in elderly patients. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2017;119(1):77–82. DOI: 10.1016/j.anai.2017.05.012.
39. Chen H., Chen Y., Lin B., Huang S., Liu Q., Zheng H. et al. Efficacy and adherence of sublingual immunotherapy in patients aged 60 to 75 years old with house dust mite-induced allergic rhinitis. *Am. J. Otolaryngol.* 2020;41(4):102538. DOI: 10.1016/j.amjoto.2020.102538.
40. Novakova S. Determinants and factors of satisfaction with sublingual immunotherapy in patients with allergic rhinitis. *Folia Med. (Plovdiv)*. 2020;62(2):385–390. DOI: 10.3897/folmed.62.e47000.
41. Field K., Blaiss M.S. Sublingual versus subcutaneous immunotherapy for allergic rhinitis: What are the important therapeutic and real-world considerations? *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2020;20(9):45. DOI: 10.1007/s11882-020-00934-4.
42. Ellis A.K., Gagnon R., Hammerby E., Lau A. Sublingual immunotherapy tablet for the treatment of house dust mite allergic rhinitis in Canada: an alternative to minimize treatment costs? *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2019;15:27. DOI: 10.1186/s13223-019-0344-3.
43. Green W., Kleine-Tebbe J., Klimek L., Hahn-Pedersen J., Norgaard Andreasen J., Taylor M. Cost-effectiveness of SQ HDM SLIT-tablet in addition to pharmacotherapy for the treatment of house dust mite allergic rhinitis in Germany. *ClinicoEcon. Outcomes Res.* 2017;9:77–84. DOI: 10.2147/CEOR.S115931.
44. Rondón C., Campo P., Salas M., Aranda A., Molina A., González M. et al. Efficacy and safety of *D. pteronyssinus* immunotherapy in local allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *Allergy*. 2016;71(7):1057–1061. DOI: 10.1111/all.12889.
45. Matsuoka T., Shaji M.H., Durham S.R. Allergen immunotherapy and tolerance. *Allergol. Int.* 2013;62:403–413. DOI: 10.2332/allergolint.13-RAI-0650.
46. Huber S., Lang R., Steiner M., Aglas L., Ferreira F., Wallner M. et al. Does clinical outcome of birch pollen immunotherapy relate to induction of blocking antibodies preventing IgE from allergen binding? A pilot study monitoring responses during first year of AIT. *Clin. Transl. Allergy*. 2018;8:39. DOI: 10.1186/s13601-018-0226-7.
47. Hoh R.A., Joshi S.A., Liu Y., Wang C., Roskin K.M., Lee J.-Y. et al. Single B-cell deconvolution of peanut-specific antibody responses in allergic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016;137(1):157–167. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.05.029.
48. Gratz I.K., Campbell D.J. Organ-specific and memory Treg cells: specificity, development, function, and maintenance. *Front Immunol.* 2014;5:333. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00333.
49. Steveling-Klein E.H. Allergen-specific immunotherapy. *Eur. Med. J.* 2016;1(4):78–87.
50. Kucuksezer U.C., Ozdemir C., Cevhertas L., Ogulur I., Akdis M., Akdis C.A. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy and allergen tolerance. *Allergol. Int.* 2020;69(4):549–560. DOI: 10.1016/j.alit.2020.08.002.
51. Drazdauskaitė G., Layhadi J.A., Shamji M.H. Mechanisms of allergen immunotherapy in allergic rhinitis. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2021;21:2. DOI: 10.1007/s11882-020-00977-7.
52. Van de Veen W., Akdis M. Tolerance mechanisms of allergen immunotherapy. *Allergy*. 2019;75(5):1017–1018. DOI: 10.1111/all.14126.
53. Zissler U.M., Schmidt-Weber C.B. Predicting success of allergen-specific immunotherapy. *Front Immunol.* 2020;11:1826. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01826.
54. Calzada D., Baos S., Cremades-Jimeno L., Cardaba B. Immunological mechanisms in allergic diseases and allergen tolerance: The role of Treg cells. *J. Immunol. Res.* 2018;6012053:1–10. DOI: 10.1155/2018/6012053.

Информация об авторах

Климов Владимир Васильевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, klimov@mail.tomsknet.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6673-7556>

Кошкарлова Наталья Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, kasy@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6032-2402>

Свиридова Валентина Сергеевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, VSSviridova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7594-6800>

Климов Андрей Владимирович – канд. мед. наук, ассистент, кафедра оториноларингологии; доцент, кафедра иммунологии и аллергологии, СибГМУ, г. Томск, klimov.lor@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2776-5834>

(✉) **Климов Владимир Васильевич**, klimov@mail.tomsknet.ru

Поступила в редакцию 28.07.2021;
одобрена после рецензирования 27.08.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.89-008.454

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-175-185>

Эволюция парадигм в изучении депрессии: от унитарной концепции к биопсихосоциальной модели и междисциплинарным подходам

Корнетов А.Н.

*Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

РЕЗЮМЕ

Настоящий обзор литературы посвящен рассмотрению истории парадигм в изучении депрессивных расстройств в аспекте современного понимания депрессии в психиатрии, клинической и медицинской психологии, ее соотнесения с биопсихосоциальной моделью в медицине. В обзоре также содержатся работы, предметом которых было изучение распространенности и коморбидности депрессивных расстройств, связь с суицидальным поведением. Отдельно рассмотрены существующие ограничения в изучении депрессивных расстройств, имеющиеся в психиатрии и клинической психологии, вопросы междисциплинарной интеграции и междисциплинарных барьеров.

В обзор включены публикации, индексируемые в Web of Science, Scopus и Russian Science Citation Index, а также в базе PubMed. Депрессия является важнейшей медицинской и психологической проблемой в связи с ее широким распространением в общей популяции, в первичной медицинской сети, среди пациентов, страдающих различными хроническими соматическими заболеваниями, которые получают лечение в больницах и клиниках общего и специализированного профиля, клиентов психологических центров и социальных служб. В 1996 г. Гарвардская школа здравоохранения, основываясь на материалах Всемирной организации здравоохранения и Всемирного банка, опубликовала расчеты и прогноз распространенности депрессивных расстройств в мире. Согласно приведенным данным, депрессия в 1990 г. по тяжести ведущих причин бремени болезни занимала 4-е место, а по базовому сценарию развития к 2020 г. должна была выйти на 2-е место после ишемической болезни сердца.

Обзор ориентирован на необходимость ревизии базового сценария развития и открытия новой дискуссии по проблемам изучения депрессивных расстройств в новых условиях – психологическое состояние общества в период пандемии COVID-19 и карантинных мер, а также накануне перехода здравоохранения на 11-й пересмотр международной классификации болезней.

Ключевые слова: депрессия, депрессивные расстройства, биопсихосоциальная модель, коморбидность депрессии, концепции депрессии, диагностика депрессии, классификация депрессии

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-113-50299.

Для цитирования: Корнетов А.Н. Эволюция парадигм в изучении депрессии: от унитарной концепции к биопсихосоциальной модели и междисциплинарным подходам. *Бюллетень сибирской медицины.* 2022;21(2):175–185. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-175-185>.

Evolution of paradigms in the study of depression: from a unitary concept to a biopsychosocial model and interdisciplinary approaches

Kornetov A.N.

*Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

ABSTRACT

The review is devoted to the consideration of the history of paradigms in the study of depressive disorders in terms of modern understanding of depression in psychiatry and clinical and medical psychology and its correlation with the biopsychosocial model in medicine. The review also contains works devoted to the study of the prevalence and comorbidity of depressive disorders and their relationship with suicidal behavior. The existing limitations in the study of depressive disorders in psychiatry and clinical psychology and the issues of interdisciplinary integration and interdisciplinary barriers are considered in detail.

The review includes publications indexed in the Web of Science, Scopus, Russian Science Citation Index, and PubMed databases. Depression is a major medical and psychological problem due to its widespread prevalence in the general population, in primary care, among patients with various chronic somatic symptom disorders who receive treatment in community and specialized hospitals and clinics, and among clients of psychological centers and social services. In 1996, the Harvard T.H. Chan School of Public Health, based on the materials of the World Health Organization (WHO) and the World Bank, published estimates and prognosis for the prevalence of depressive disorders around the world. According to their data, depression in 1990 was ranked 4th in terms of the severity of the leading causes of the burden of the disease, and according to the baseline scenario of development, by 2020 it should have been ranked 2nd after coronary artery disease.

The review is focused on the need to revise the baseline scenario of development and start a new discussion on the study of depressive disorders under new conditions, such as the psychological state of society during the COVID-19 pandemic and lockdown, as well as on the eve of healthcare transition to the 11th Revision of the International Classification of Diseases.

Keywords: depression, depressive disorders, biopsychosocial model, comorbidity of depression, depression concepts, depression diagnosis, depression classification

Conflict of interest. The author declares the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was funded by RFBR project No. 20-113-50299.

For citation: Kornetov A.N. Evolution of paradigms in the study of depression: from a unitary concept to a biopsychosocial model and interdisciplinary approaches. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(1):175–185. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-175-185>.

ВВЕДЕНИЕ

Впервые в нозологических представлениях депрессия была систематизирована и описана Е. Краепелин [1]. Он, в частности, отмечал, что маниакально-депрессивное помешательство, с одной стороны, охватывает всю область так называемых периодических и циркулярных психозов, с другой – включает в себя простую манию, большую часть клинических картин, обозначаемых как меланхолия, а также значительное количество случаев аменции. Сюда же следует причислить определенно и легкий, но длительный, болезненный оттенок настроения,

который следует рассматривать либо как предшествующую ступень тяжелых нарушений, либо без четких границ переходящий в область личностной предрасположенности. Он также отмечал, что в течение ряда лет все больше убеждался в том, что эти клинически разнообразные картины являются формами проявления единого процесса. Кроме того, Е. Краепелин предполагал, что позже, на основе новых исследований, образуется ряд клинических подформ циркулярного психоза или сформируются отдельные группы нозологий, так или иначе связанных с депрессией [1]. Он считал, что если такое произойдет, совершенно определенной мерой могут стать те

признаки, которые до сего времени выставлялись на передний план.

Вся дальнейшая история изучения депрессии показала, что приведенные высказывания поразительно точно предвосхитили выделение различных подтипов депрессии на основе клинических картин, образующих ее симптомокомплексы.

ИЗМЕНЕНИЯ КЛАССИФИКАЦИЙ ПСИХИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ

Эта унитарная концепция доминировала более 50 лет и стала подвергаться пересмотрам лишь во второй половине XX в. Наиболее значимые новации сделали К. Leonhard [2] и, несколько позже, J. Angst, С. Perris [3] на основании изучения наследственных и конституциональных факторов пациентов с депрессией. Их суть заключалась в соотношении наследственности и преморбидных свойств личности с клинической картиной, течением и исходом депрессии. Эти работы и дальнейшие изменения в систематиках расстройств настроения дифференцировали маниакально-депрессивный психоз на собственно биполярный вариант и рекуррентную депрессию, хотя в более позднем пересмотре международной классификации болезней ICD-9 [4] они еще сохранялись как различные типы течения маниакально-депрессивного психоза, т. е. были по-прежнему отнесены к одной нозологии.

Масштабные изменения классификаций психических и поведенческих расстройств конца XX в. наиболее глубоко затронули кластер расстройств настроения. Уход от нозологического принципа построения систематики при сохранении категориального подхода стали компромиссом между прогрессом клинической психиатрии и затруднениями в поиске этиологии и патогенеза аффективных расстройств. Таким образом, на смену эре маниакально-депрессивного психоза пришло время «депрессивного эпизода» [5] или «большой депрессии» [6–10]. После кардинальных перемен в психиатрических классификациях их авторы стали разрабатывать адаптированные версии для других специальностей, включая сестринское дело, что способствовало более тесной интеграции с соматической медициной и положило начало новой вехе психиатрии, которую можно обозначить как «общемедицинскую».

Параллельно с этим процессом произошел прорыв в психофармакологии антидепрессантов, который, прежде всего, связан с появлением препаратов селективного влияния на отдельные нейротрансмиттеры, что дало ощутимые сдвиги не только в качестве терапии депрессии, но и повысило эффективность

лечения сопутствующих хронических соматических заболеваний [11]. Являясь психическим расстройством, депрессия манифестирует целым рядом симптомов, в числе которых присутствует соматический компонент, что приводит к образованию симптомов, похожих на те, которые встречаются при различных поражениях органов и систем, что делает диагностику достаточно сложной. Развитие информационных систем поддержки принятия врачебных решений на основе машинного обучения и знаний в области диагностики и лечения депрессивных расстройств к текущему моменту поднялись до уровня, способного алгоритмизировать весь лечебно-диагностический процесс [12, 13]. Это делает его доступным не только психиатрам, но и представителям всех медицинских и немедицинских специальностей и специализаций, вовлеченных в распознавание и терапию депрессии. Исключения здесь составляют случаи с тяжелым течением и резистентные состояния, которые требуют психиатрической квалификации и соответствующего опыта. Как правило, такие пациенты нуждаются в стационарном лечении в специальных условиях.

Вместе с тем информационные технологии остаются зависимыми от существующих клинических понятий, подходов к классификации, стандартов терапии и протоколов ведения пациентов. И в этой связи остается актуальным замечание И.В. Давыдовского [14], сделанное им в середине XX в., о том, что у медицинской мысли есть риск утонуть в частности, потеряться в деталях, и пора на основе накопленных фактов искать новые понятия, новые обобщающие теории и идеи. Применительно к депрессивным расстройствам как одним из наиболее распространенных медицинских состояний это означает, что непрерывный поиск их биологических маркеров как альтернативы клинической диагностике может привести к тому, что неспецифические и нестойкие биологические показатели могут быть введены в диагностические критерии, что затруднит совершенствование клинической классификации. Однако и ограничивать такой поиск категорически неприемлемо, поскольку именно внедрение лабораторных и инструментальных показателей в критерии для диагностики – одна из лучших возможностей преодоления существующего до сих пор психосоматического дуализма и идущей за ним психиатрической стигмой, существующей в обществе и внутри медицинского сообщества. Эти два фактора продолжают препятствовать обращениям пациентов в психиатрическую сеть, что приводит к неполучению необходимой помощи. Напротив, своевременная диагностика и лечение депрессии являются залогом успеха в оказании помощи людям, страдающим этим расстройством.

Службы психического здоровья в разных странах имеют порой принципиально отличающуюся организацию. Это касается вопросов деинституализации психиатрической помощи, количества дней госпитализации пациентов, степени интеграции с соматической медициной, наличия или отсутствия секторального обслуживания, наличия или отсутствия врачей общей практики или семейных врачей. При этом, если не принимать во внимание популяционных эпидемиологических исследований, которых крайне мало, мы имеем представления о психических расстройствах, включая депрессию, только по данным обращений за помощью. То есть общепопуляционный масштаб проблемы психического здоровья либо не известен, либо известен для основных психических расстройств. Данные о факторах и группах риска вообще являются противоречивыми [15]. Данный факт привел к четырем негативным тенденциям.

1. Отсутствие полной информации о количестве новых случаев и количестве лиц, нуждающихся в терапии.

2. Неопределенность в исходе тех случаев, где пациенты выпадали из полей зрения служб психического здоровья во время лечения.

3. Невозможность оценки психосоциальных воздействий и адаптации пациентов.

4. Самолечение.

Похожие обобщения несколько ранее представили G. Thornicroft и соавт. [16], сделав акцент на возможных перспективах изменения сложившейся ситуации. В частности, была подчеркнута необходимость дальнейшего движения психиатрии в общемедицинском направлении, что в том числе способствовало бы повышению доступности помощи людям, страдающим депрессивными расстройствами, тем более что они имеют высокий уровень коморбидности с соматическими заболеваниями. Масштаб распространенности самой депрессии, а также выраженность симптоматики у людей, ей болеющих, W. Rutz и соавт. [17] сравнили с эпидемией, требующей немедленного вмешательства.

Помимо перечисленных факторов на эволюцию парадигм в изучении депрессии повлияли увеличение ее распространенности [18], появление антидепрессантов, их совершенствование с последующими психофармакологическими исследованиями [19], реформы служб охраны психического здоровья [20], интеграция психиатрии с соматической медициной [21], прорывы в биологической психиатрии [22], клинической психологии [23], суицидологии [24].

Итак, мы являемся участниками событий, в которых депрессивные расстройства изучаются с самых разных сторон. Оказалось, что ее клиническая кар-

тина у пациентов психиатрических больниц в большинстве своем проявляется витальной депрессией [25], которая, в свою очередь, представляет собой депрессивный синдром в классическом понимании [1]. На протяжении многих десятилетий прошлого века он считался проявлением эндогенной депрессии, но после кардинальных изменений в психиатрических систематиках, прежде всего в США [6–10], депрессивный синдром верифицируется как большая депрессия и рассматривается самостоятельно. У пациентов, не обращающихся за помощью в психиатрическую сеть, клиническая картина депрессивных расстройств носит более вариабельный характер.

Поэтому постепенный уход от унитарной парадигмы в понимании клиники депрессии освободил место для других концепций. В частности, еще в 1970–1980-е гг. ряд исследователей [26–29] стали выделять расстройства депрессивного спектра, к которым помимо депрессии и ее клинических вариантов были отнесены смешанное тревожное и депрессивное расстройство, кратковременная и пролонгированные депрессивные реакции и др. Симптоматика и клинический полиморфизм депрессии отражены в следующих концепциях: соотношения элементов в структуре синдрома – «простые – сложные депрессии» [30], модальности аффекта [31], бинарной (двухуровневой) типологической модели депрессии [32], или ее клинической динамики: концепция эволюции депрессивного аффекта по стадиям [33]. Помимо клинических концепций на протяжении XX в. рождались психологические концепции, часть из которых имеет экспериментальное подтверждение. Среди них наиболее известны психодинамическая [34], бихевиоральная [35] и когнитивная [36], которые внесли важный вклад как в понимание психологических механизмов развития депрессии, так и в ее немедикаментозную терапию. Лекарственное лечение депрессивных расстройств также дало импульс для появления новых парадигм. Здесь следует выделить прежде всего моноаминовую [37], цитокиновую [38] и нейротрофиновую [39] гипотезы, давшие импульс изучению патогенеза депрессии. Концепция ответа на психофармакотерапию депрессии [40] стала основой для повышения качества оценки эффективности ее лечения. Изучение эпидемиологии депрессии также дает возможности для расширения ее концепций. В этой связи интерес представляет теория более низких показателей депрессии в крупных городских районах США [41], которая актуализирует ранние исследования ее распространенности в разных популяциях.

С учетом сказанного становится очевидным, что эпидемиологические показатели депрессии, получа-

емые в исследованиях, могут иметь различия в зависимости от концепции, которой придерживаются исследователи, и применяемой методологии. Поэтому данные показатели имеют заметный разброс. Вместе с тем накопление данных о распространенности депрессивных расстройств в дифференцированных популяциях дает возможности для рождения более полных парадигм.

В США 50% лиц с большой депрессией наблюдаются у врачей общей практики и всего лишь 20% — у психиатров [42]. В Объединенном королевстве только 10% пациентов оказываются у психиатра [43]. В Греции это показатель составляет менее 5% [44]. Приведенные данные свидетельствуют о том, что депрессия является проблемой общемедицинской, а не сугубо психиатрической. Сказанное не умаляет роли психиатрии в изучении этого феномена [45], лечении тяжелых [46] и резистентных [47] случаев, образовательной деятельности [48]. Это является одним из приоритетов в мировом здравоохранении, поскольку врачи первичной медицинской сети заинтересованы, чтобы скрининг депрессии и ее диагностика занимали меньше времени, насколько это возможно.

По данным С.В. Montano [49], из 20–30 пациентов, которых может принимать врач в рабочий день, примерно у трети присутствуют симптомы депрессии, и у 2–3 будет клинически оформленная большая депрессия. При этом в практику семейного врача входит измерение артериального давления, но не входит скрининг на депрессию, даже несмотря на то, что она встречается не менее часто, чем гипертония. Скрининговый метод подразумевает заполнение вопросника пациентом самостоятельно, что можно сделать в ожидании приема врача. Поэтому все пациенты должны быть подвергнуты скринингу, даже если очевидно, что на первом плане имеется соматическая патология.

Как известно, страдания, которые причиняют депрессивные расстройства и соматические заболевания, являются достаточно выраженными и часто вызывают психологическую боль. Это длительное неприятное и неустойчивое чувство, характеризующееся ощущением неспособности или неполноценности себя, а также неудовлетворенными психологическими потребностями и социальной разобщенностью. Психологическая боль является важным аспектом депрессивного расстройства и связана с более высоким риском суицидальных мыслей и суицидального поведения. При депрессии повышается чувствительность к психологической и физической боли. И наоборот, более высокая толерантность к физической боли связана с суицидальным поведением [50]. Следовательно, как можно более ранняя

диагностика депрессии является залогом превенции суицидального поведения за счет своевременного начала лечения депрессии. Как известно, депрессия и суицидальное поведение наряду с генетической связью имеют целый ряд общих психосоциальных факторов: низкий образовательный уровень, низкооплачиваемая работа или безработица, нестабильное социально-психологическое положение, фрустрация базовых потребностей, потери и др. [51]. Следует также подчеркнуть, что более 90% лиц, совершающих суициды, переносят, по крайней мере, одно психическое расстройство, относящееся к большой психиатрии, причем наиболее распространенным является большое депрессивное расстройство — 56–87% [52]. Оно служит одной из основных причин хронической инвалидности [53] и затрагивает 350 млн человек во всем мире [54].

Прежде чем более подробно перейти к вопросу о распространенности депрессии в общемедицинской сети, сделаем акцент на распространенности депрессивных расстройств в общей популяции, показав исходный уровень проблемы.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ В МИРЕ

Наиболее известное масштабное многоцентровое международное исследование, которое было реализовано в разных странах на всех континентах, показало среднюю распространенность депрессии в течение 1 мес. Она составила 5,8% [55]. В это же время было опубликовано другое крупнейшее эпидемиологическое проспективное исследование (Epidemiologic Catchment Area) Национального института психического здоровья США. Согласно его данным, 9,5% населения страны старше 18 лет в течение 1 года перенесли расстройство настроения [56]. В еще одном эпидемиологическом исследовании («Исследование коморбидности населения») выявлено, что в течение 1 года частота встречаемости аффективных расстройств у жителей США находится на уровне 11,3% [57]. На европейском континенте уровень большой депрессии примерно 7% [58]. В 1996 г. Гарвардская школа здравоохранения, основываясь на материалах Всемирной организации здравоохранения и Всемирного банка, опубликовала расчеты и прогноз распространенности депрессивных расстройств в мире. Согласно этим данным, депрессия в 1990 г. по тяжести ведущих причин бремени болезни занимала 4-е место, а по базовому сценарию развития к 2020 г. должна была выйти на 2-е место после ишемической болезни сердца [59]. В настоящее время необходимы ревизия базового сценария развития и открытие новой дискуссии по проблемам изучения депрессив-

ных расстройств в изменившихся условиях – психологическое состояние общества в период пандемии COVID-19 и карантинных мер, а также накануне перехода здравоохранения на 11-й пересмотр международной классификации болезней.

Эпидемиологические исследования в психиатрии считаются одними из ее научных основ [60] и традиционно имеют крайнюю актуальность в силу высокой распространенности психических и поведенческих расстройств, появления новых оценочных инструментов, смены подходов, например постепенный переход в диагностике от категориального к дименсиональному. Данные, получаемые в эпидемиологических исследованиях, очерчивают приоритетные задачи психиатрии, что определяет ведущие направления в исследованиях, направленные на совершенствование диагностики, качества помощи и ее организации. Эпидемиология в психиатрии вносит свой вклад в прогрессивный рост доказательной базы, необходимой для определения экономической эффективности таких инициатив и действий [61]. Упомянутые выше крупные эпидемиологические исследования и многие другие, не вошедшие в данный обзор литературы, обозначили постоянный рост распространенности депрессивных расстройств, установили важность междисциплинарных исследований расстройств настроения и создали платформу для развития и интеграции методов оказания помощи пациентам с депрессией на основе биологических, психологических и социальных подходов. Также именно эпидемиологическими исследованиями подчеркнуто, что в службах психического здоровья наблюдается меньшее число пациентов с депрессивными расстройствами. Это привело к необходимости внедрения стандартов их диагностики и лечения в соматические медицинские службы, включая первичное звено здравоохранения [62].

За последние три десятилетия во многих странах было сделано достаточно изменений, чтобы пациенты первичной медицинской сети имели возможность доступных диагностики и лечения депрессии, включая ее скрининг и оценку эффективности и безопасности проводимой терапии. Также благодаря прорывам в психофармакологии, психотерапии и инженерных технологиях, существенно расширилось меню эффективных психотропных и нефармакологических вариантов лечения. Проведены десятки испытаний, показывающих преимущества, а также рентабельность лечения депрессии в первичной медицинской сети и некоторые попытки дестигматизации психического расстройства. Депрессия вошла в базу медицинских приоритетов наряду с такими соматическими болезнями, как гипертония и сахарный диабет [63].

Среди пациентов соматических стационаров распространенность депрессивных расстройств варьирует от 9 до 66%, этот разброс обусловлен, с одной стороны, разной частотой депрессии для определенных заболеваний, с другой – отличающимися методологиями исследований [64]. Иллюстрируем это данными, полученными в разные годы в ходе исследований коморбидности депрессии и соматических заболеваний (табл.).

Таблица

Распространенность депрессии у пациентов в соматических стационарах		
Заболевания	Распространенность депрессии, %	Исследование
Постинсультный период	47–50	A. Carota, J. Bogousslavsky [65]
Травматические повреждения мозга	≈20	G.P. Prigatano [66]
Эпилепсия	23	A.C. Viguera и соавт. [67]
Болезнь Гентингтона	38	A.M. Codori и соавт. [68]
Рассеянный склероз	18–27	R.M. Sobel и соавт. [69]
Постинфарктный период	≈9–≈66	L. Feng и соавт. [70]
Ишемическая болезнь сердца, требующая аортокоронарного шунтирования	40–50	E. Hayes и соавт. [71]
Ишемическая болезнь сердца на начальной стадии	17	W. Jiang, J.R. Davidson [72]
Сахарный диабет	9–27	N. Hermanns и соавт. [73]
Болезнь Аддисона	50	M. Fornaro и соавт. [74]
Гипертиреоз	30	A. Suwalska и соавт. [75]
Хроническая боль, связанная с онкологическими заболеваниями	>15	M.E. Geisser и соавт. [76]
Рак поджелудочной железы	50	C.P. Carney и соавт. [77]
Рак ротовой полости и глотки	22–40	S. Reisine и соавт. [78]
Рак ободочной кишки	13–25	M. Stommel и соавт. [79]

На примере данных метаанализа [70], с наибольшим разбросом можно констатировать, что объединенная распространенность депрессии в постинфарктный период значительно различается по регионам, инструментам, используемым для определения депрессии, качеству исследования, полу, расе, общирности поражения миокарда и диабетическому статусу. Таким образом, данное исследование показало, что на распространенность депрессии при какой-либо патологии может влиять третье заболевание или наличие ряда сопутствующих болезней. Это же исследование показывает общую распространенность депрессии у пациентов с инфарктом миокарда,

которая составляет 28,7%. Всего подсчитано, что у 50% пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями диагностируются расстройства настроения [80]. Причем имеются данные о том, что депрессия может способствовать развитию и прогрессированию болезней сердца [81].

Данные о распространенности депрессии среди пациентов соматических стационаров отчетливо показывают, что при соматических заболеваниях она встречается довольно часто. Принимая во внимание приведенные выше тренды по бремени болезни [59], имеются полные основания для разработки и принятия неотложных мер специфической психопрофилактики как в отношении соматических заболеваний, так и в отношении депрессивных расстройств. Это также относится и к лечению подобных случаев коморбидности. Существующие сегодня вызовы для здравоохранения затрагивают не только сугубо клинические проблемы, но и ставят вопросы экономического и гуманитарного значения. Это прежде всего связано с пандемией COVID-19, которая оказала серьезное влияние на психическое здоровье населения планеты, усугубила течение соматических заболеваний, привела к принятию карантинных мер, которые способствовали ухудшению мобильности, сужению круга общения, накоплению стрессовых переживаний, в том числе связанных с потерей близких людей, ухудшила доступность медицинской помощи [82].

Коморбидность депрессии и соматических заболеваний не является однородным феноменом. Существуют зависимые и независимые случаи. Но современные классификации [5, 10] их разводят в разные клинические категории, например, депрессия не рассматривается как реакция на соматическое заболевание, а типичные для депрессии симптомы, такие как снижение настроения, анергия и ангедония, а также инсомнии, тоска и тревога, не относятся к симптомам соматических болезней [49]. Наличие соматических заболеваний у пациентов с депрессивными расстройствами может быть объяснено опосредующими механизмами, такими как нездоровый образ жизни и неблагоприятные патофизиологические нарушения [83]. Есть альтернативные объяснения соматической коморбидности у людей с депрессией: генетическая плейотропия, ятрогенные эффекты и феномен «соматической депрессии». В последнем случае симптомы депрессии являются следствием клинических или субклинических соматических состояний [84].

Клиническая эпидемиология внесла существенный вклад в понимание коморбидности, но до сих пор не привела к общей методологии исследований. С одной стороны, это связано с постоянной сменой парадигм, с другой – традициями диагностики, при-

нятыми в разных странах. Это касается не только дублирующих систематик [5, 10], но и психометрии, которая в одних случаях применяется в форме вопросников, в других – в виде шкальных оценок.

Разобщенность в диагностических подходах касается и медицинских специальностей, а также клинической и медицинской психологии, которые в должной мере не востребованы в общественном здравоохранении, хотя именно психология дала толчок развитию и прогрессу психологического консультирования и психотерапии, в том числе в отношении депрессивных расстройств [85]. Медицина со своей стороны имеет ограничения во взаимодействии в системе «врач – пациент». Это происходит в силу интенсивного проникновения в медицину высоких технологий, включая искусственный интеллект, что обезличивает как медицинскую помощь, так и самих пациентов [86].

Основываясь на представленных данных, можно констатировать, что депрессия является крайне распространенным и тяжелым заболеванием, часто приводящим к инвалидизации пациентов. Кроме того, депрессивные расстройства имеют склонность к хронизации и рецидивирующему течению [87] и встречаются во всех возрастных группах [88]. При этом уровень депрессии более высокий у людей с различными вариантами физического [89], психологического [90] и социального [91] неблагополучия. К этому следует добавить, что высокая распространенность депрессивных расстройств и понимание ограничений для служб психического здоровья охвата всех людей, ими страдающих, способствовали трансляции психиатрических подходов в соматическую медицину [92]. Терапия депрессий вне традиционных психиатрических служб также является возможной благодаря появлению новых поколений антидепрессивных препаратов, которые имеют меньший набор нежелательных явлений в процессе терапии, что позволяет лечить нетяжелые случаи депрессии амбулаторно [40].

ТЕРАПИЯ ДЕПРЕССИИ

Также необходимо упомянуть возможности для нелекарственной терапии депрессии в первичной медицинской сети, здесь речь идет, прежде всего, о психотерапии [93] и социальной поддержке [94]. В этой связи актуализируется вопрос совершенствования организации моделей помощи, использующихся в общей медицине для лечения депрессии [95]. Обобщая сказанное, можно говорить об устойчивой тенденции в заинтересованности медицинских и клинических психологов в изучении условий формирования депрессивных расстройств, их психодиагностике, разработке и совершенствовании стандартов

психологического консультирования и терапии. В свою очередь, социальные работники обеспечивают необходимую помощь по восстановлению утраченных навыков, трудоспособности и адаптации. Таким образом, депрессия является своеобразной моделью движения в междисциплинарное пространство.

Наиболее полно это движение нашло отражение в биопсихосоциальной модели, которая оказалась релевантной и для депрессии [96]. Система помощи в рамках данной модели гораздо шире конвенциональных подходов, принятых в институциональной психиатрии, где доминирует лекарственное лечение. Поэтому подходы к организации помощи при депрессии не могут быть только сферой деятельности психиатрии биомедицинского типа. Настоящий процесс междисциплинарной интеграции играет положительную роль, которая заключается в повышении доступности психиатрической помощи для населения. Развитие качественного междисциплинарного подхода и построение интегративной медицины могут сыграть серьезную роль в создании единого понимания человека в его соматопсихической целостности на разных уровнях иерархической организации многозначными коррелятами.

Таким образом, для современного развития общественного здравоохранения проблема изучения депрессии, условий ее формирования, клиники и коморбидности имеет первостепенное значение. Переход от унитарной концепции депрессии к биопсихосоциальной модели и междисциплинарным подходам дает, с одной стороны, большие возможности для ее понимания, а с другой – расширяет арсенал средств помощи пациентам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном обзоре рассмотрены предпосылки и эволюция взглядов на понимание депрессии, ее биологическая природа, психологические детерминанты, социальные причины, изменения в классификационных подходах и основные концепции. Несмотря на явное понимание клиницистами наличия существенных психологических переживаний и проблем у своих пациентов, которые соответствуют диагностическим критериям клинической депрессии, она еще недостаточно хорошо распознается в соматической медицине. По этой причине пациенты с депрессивными расстройствами часто переносят продолжительные страдания, лежащие тяжелым грузом на них самих, их близких, родственников, социальную сеть, системы здравоохранения и общество в целом. В настоящее время имеются существенные достижения в распознавании, фармако- и психотерапии депрессивных расстройств, изучении их этиоло-

гии, патогенеза, клинической картины, течения и прогноза. Поэтому важнейшей задачей для специалистов является трансляция знаний и опыта, накопленных по данному вопросу исследователями в сфере охраны психического здоровья, в общесоматическую сеть, центры психосоциальной реабилитации для повышения эффективности помощи клиентам этих служб, страдающих депрессивными расстройствами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kraepelin E. Psychiatrie. Ein Lehrbuch für Studierende und Ärzte. 8 Auflage. Leipzig, 1913;3/2. (In Germ.).
2. Leonhard K. The classification of endogenous psychoses. N.Y.: Irvington Publ., 1960:452.
3. Angst J., Perris C. Zur nosologie endogener depression. Vergleich der Ergebnisse zweier Untersuchungen. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*. 1968;210(4):373–386. (In Germ.). DOI: 10.1007/BF00342013.
4. World Health Organization: Mental disorders: Glossary and guide to their classification in accordance with the Ninth Revision of the International Classification of Diseases. Geneva: WHO, 1978.
5. World Health Organization ICD-10: Classification of Mental and Behavioural Disorders – Clinical Descriptions and Diagnostic Guidelines. Geneva: WHO, 1992.
6. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (3rd ed.) (DSM-III). Washington, DC: APA, 1980.
7. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (3rd ed., rev.) (DSM-III-R). Washington, DC: American psychiatric Association, 1987.
8. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (4th ed.) (DSM-IV). Washington, DC: American psychiatric Association, 1994.
9. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR. Washington DC: American Psychiatric Publishing Incorporated, 2000.
10. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5. Washington DC: American Psychiatric Publishing Incorporated, 2013. DOI: 10.1176/appi.books.9780890425596.
11. Dhir A., Kulkarni S.K. New therapeutic promises in the treatment of depression and schizophrenia. *Drug News & Perspectives*. 2008;21(10):581–592.
12. Shi Y., Zhang L., Wang Z., Lu X., Wang T., Zhou D. et al. Multivariate machine learning analyses in identification of major depressive disorder using resting-state functional connectivity: A multicentral study. *ACS Chemical Neuroscience*. 2021;12(15):2878–2886. DOI: 10.1021/acscchemneuro.1c00256.
13. Yankovskaya A.E., Kornetov A.N., Il'inskikh N.N., Obukhovskaya V.B. An expansion of intelligent systems complex for express-diagnostics and prevention of organizational stress, depression, and deviant behavior on the basis of the biopsychosocial approach. *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. 2017;27(4):783–788. DOI: 10.1134/S1054661817040204.
14. Давыдовский И.В. Общая патология человека. М.: Медицина, 1969:611.

15. Harris M.G., Kazdin A.E., Chiu W.T., Sampson N.A., Aguilar-Gaxiola S., Al-Hamzawi A. et al. Findings from world mental health surveys of the perceived helpfulness of treatment for patients with major depressive disorder. *JAMA Psychiatry*. 2020;77(8):830–841. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2020.1107.
16. Thornicroft G., Tansella M., Goldberg D. The mental health matrix: A manual to improve services. Cambridge: Cambridge University Press, 1999:291. DOI: 10.1017/CBO9780511549557
17. Rutz W., von Knorring L., Pihlgren H. et al. Prevention of male suicides: lessons from Gotland study. *Lancet*. 1995; 345(8948):524. DOI: 10.1016/S0140-6736(95)90622-3
18. Slone L.B., Norris F.H., Murphy A.D. et al. Epidemiology of major depression in four cities in Mexico. *Depression and anxiety*. 2006; 23(3):158–167. DOI: 10.1002/da.20137
19. Montgomery S.A. Why do we need new and better antidepressants? *International Clinical Psychopharmacology*. 2006;21 (Suppl.1):S1–S10. DOI: 10.1097/01.yic.0000199455.39552.1c.
20. Айбасова Г.Х. Тенденции развития и нормативное регулирование деятельности служб психического здоровья в мире (литературный обзор). *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2004;(4):93–101.
21. Менделевич В.Д., Соловьева С.Л. Неврология и психосоматическая медицина. М.: МЕДпресс-информ, 2002:608.
22. Положий Б.С., Вернекина Н.С., Хруленко-Варницкий И.О. Низкоинтенсивные лазерные технологии в комплексном лечении депрессивных расстройств. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2003;(1):134–137.
23. Тхостов А.Ш. Психологические концепции депрессии. *Современная психиатрия*. 1998;(6):12–15.
24. McDowell A.K., Lineberry T.W., Bostwick J.M. Practical suicide-risk management for the busy primary care physician. *Mayo Clinic Proceedings*. 2011.86(8):792–800. DOI: 10.4065/mcp.2011.0076.
25. Schneider K. Klinische psychopathology. Stuttgart: G.Th. Verlag, 1962:257. (In Germ.).
26. Winokur G., Cadoret R., Baker M., Dorzab J. Depression spectrum disease versus pure depressive disease: Some further data. *The British Journal of Psychiatry : the Journal of Mental Science*. 1975;127:75–77. DOI: 10.1192/bjp.127.1.75.
27. Van Valkenburg C. Depression spectrum disease or character spectrum disorder? A clinical study of major depressives with familial alcoholism or sociopathy. *Comprehensive Psychiatry*. 1983;24(6):589–595. DOI: 10.1016/0010-440x(83)90027-5
28. Akiskal H.S., Webb W.L. Jr. Affective disorders: I. Recent advances in clinical conceptualization. *Hospital & Community Psychiatry*. 1983;34(8):695–702. DOI: 10.1176/ps.34.8.695.
29. Cassano G.B., Musetti L., Perugi G., Soriani A., Mignani V., McNair D.M., Akiskal H.S. A proposed new approach to the clinical subclassification of depressive illness. *Pharmacopsychiatry*. 1988;21(1):19–23. DOI: 10.1055/s-2007-1014640.
30. Тиганов А.С. Аффективные расстройства и их синдромообразование. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1999;99(1):8–10.
31. Вертоградова О.П. Возможные подходы к типологии депрессий. *Депрессия (психопатология, патогенез)*. М., 1980:9–16.
32. Смулевич А.Б., Дубницкая Э.Б. Депрессия – актуальные проблемы систематики. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012;112(11-2):11–20.
33. Kreins S.H. Mental depression and their treatment. N.Y., 1957.
34. Blatt S.J. Contributions of psychoanalysis to the understanding and treatment of depression. *Journal of the American Psychoanalytic Association*. 1998;46(3):722–752.
35. Depue R.A., Iacono W.G. Neurobehavioral aspects of affective disorders. *Annual Review of Psychology*. 1989;40:457–492. DOI: 10.1146/annurev.ps.40.020189.002325.
36. Beck A.T. Cognition, affect, and psychopathology. *Archives of General Psychiatry*. 1971;24(6):495–500. DOI: 10.1001/archpsyc.1971.01750120011002.
37. Aberg-Wistedt A. The antidepressant effects of 5-HT uptake inhibitors. *The British Journal of Psychiatry. Supplement*. 1989;(8):32–40.
38. Capuron L., Dantzer R. Cytokines and depression: the need for a new paradigm. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2003;17(Suppl.1):S119–S124. DOI: 10.1016/s0889-1591(02)00078-8.
39. Haase J., Brown E. Integrating the monoamine, neurotrophin and cytokine hypotheses of depression—a central role for the serotonin transporter? *Pharmacology & Therapeutics*. 2015;147:1–11. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.10.002.
40. Мосолов С.Н. Клиническое применение современных антидепрессантов. СПб.: Медицинское информационное агентство, 1995:568.
41. Stier A.J., Schertz K.E., Rim N.W., Cardenas-Iniguez C., Lahey B.B., Bettencourt L.M.A. et al. Evidence and theory for lower rates of depression in larger US urban areas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2021;118(31):e2022472118. DOI: 10.1073/pnas.2022472118.
42. Pérez-Stable E.J., Miranda J., Muñoz R.F., Ying Y.W. Depression in medical outpatients. Underrecognition and misdiagnosis. *Archives of Internal Medicine*. 1990;150(5):1083–1088. DOI: 10.1001/archinte.1990.00390170113024.
43. Goldberg D. The treatment of mental disorders in general medicine settings. *General Hospital Psychiatry*. 1992;14(2):83–85. DOI: 10.1016/0163-8343(92)90032-6.
44. Madianos M.G., Stefanis C.N. Changes in the prevalence of symptoms of depression and depression across Greece. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*. 1992;27(5):211–219. DOI: 10.1007/BF00788931.
45. Goodman D.R., Daouk S., Sullivan M., Cabrera J., Liu N.H., Barakat S. et al. Factor analysis of depression symptoms across five broad cultural groups. *Journal of Affective Disorders*. 2021;282:227–235. DOI: 10.1016/j.jad.2020.12.159.
46. Rivero-Santana A., Perestelo-Perez L., Alvarez-Perez Y., Ramos-Garcia V., Duarte-Diaz A., Linertova R. et al. Stepped care for the treatment of depression: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*. 2021;294:391–409. DOI: 10.1016/j.jad.2021.07.008.
47. Davies P., Ijaz S., Williams C.J., Kessler D., Lewis G., Wiles N. Pharmacological interventions for treatment-resistant depression in adults. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2019;12(12):CD010557. DOI: 10.1002/14651858.CD010557.pub2.

48. Kornetov A. Old age psychiatry: training in Siberia. *Mental Health Reforms*. 2002;7(2):7-8.
49. Montano C.B. Recognition and treatment of depression in a primary care setting. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 1994;55(Suppl.):18-34; discussion 35-37.
50. Conejero I., Olié E., Calati R., Ducasse D., Courtet P. Psychological pain, depression, and suicide: recent evidences and future directions. *Current Psychiatry Reports*. 2018;20(5):33. DOI: 10.1007/s11920-018-0893-z.
51. Ando S., Kasai K., Matamura M., Hasegawa Y., Hirakawa H., Asukai N. Psychosocial factors associated with suicidal ideation in clinical patients with depression. *Journal of Affective Disorders*. 2013;151(2):561-565. DOI: 10.1016/j.jad.2013.06.047.
52. Oquendo M.A., Galfalvy H., Russo S., Ellis S.P., Grunebaum M.F., Burke A. et al. Prospective study of clinical predictors of suicidal acts after a major depressive episode in patients with major depressive disorder or bipolar disorder. *The American Journal of Psychiatry*. 2004;161(8):1433-1441. DOI: 10.1176/appi.ajp.161.8.1433.
53. Ferrari A.J., Charlson F.J., Norman R.E., Patten S.B., Freedman G., Murray C.J. et al. Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010. *PLoS Medicine*. 2013;10(11):e1001547. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001547.
54. Mathers C., Fat D.M., Boerma J.T. The Global burden of disease: 2004 Update. Geneva: World Health Organization, 2008.
55. Ustün T.B., Sartorius N. Public health aspects of anxiety and depressive disorders. *International Clinical Psychopharmacology*. 1993;8(1):15-20. DOI: 10.1097/00004850-199309001-00002.
56. Regier D.A., Narrow W.E., Rae D.S., Manderscheid R.W., Locke B.Z., Goodwin F.K. The de facto US mental and addictive disorders service system. Epidemiologic catchment area prospective 1-year prevalence rates of disorders and services. *Archives of General Psychiatry*. 1993;50(2):85-94. DOI: 10.1001/archpsyc.1993.01820140007001.
57. Kessler R.C., McGonagle K.A., Zhao S., Nelson C.B., Hughes M., Eshleman S. et al. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Archives of General Psychiatry*. 1994;51(1):8-19. DOI: 10.1001/archpsyc.1994.03950010008002.
58. Veerman J.L., Dowrick C., Ayuso-Mateos J.L., Dunn G., Bartendregt J.J. Population prevalence of depression and mean Beck Depression Inventory score. *The British Journal of Psychiatry: the Journal of Mental Science*. 2009;195(6):516-519. DOI: 10.1192/bjp.bp.109.066191. Erratum in: *The British Journal of Psychiatry: the Journal of Mental Science*. 2016;209(5):436.
59. Murray J.L., Lopez A.D. (eds.). The Global Burden of Disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from disease. Injuries and risk factors in 1990 and projected to 2020 (Summary). WHO, World Bank, Harvard School of Public Health, 1996.
60. Tohen M., Bromet E., Murphy J.M., Tsuang M.T. Psychiatric epidemiology. *Harvard Review of Psychiatry*. 2000(3):111-125.
61. Barbu C., Gureje O., Patten S.B., Puschner B., Thornicroft G. On the need for epidemiology in psychiatric sciences. *Epidemiology and Psychiatric Sciences*. 2019;29:e1. DOI: 10.1017/S2045796019000507.
62. Alson A.R., Robinson D.M., Ivanova D., Azer J., Moreno M., Turk M.L. et al. Depression in primary care: Strategies for a psychiatry-scarce environment. *International Journal of Psychiatry in Medicine*. 2016;51(2):182-200. DOI: 10.1177/0091217416636580.
63. Kroenke K. Depression screening and management in primary care. *Family Practice*. 2018;35(1):1-3. DOI: 10.1093/fampra/cmz129.
64. Read J.R., Sharpe L., Modini M., Dear B.F. Multimorbidity and depression: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*. 2017;221:36-46. DOI: 10.1016/j.jad.2017.06.009.
65. Carota A., Bogousslavsky J. Poststroke depression. *Advances in Neurology*. 2003;92:435-445.
66. Prigatano G.P. Disturbances of self-awareness and rehabilitation of patients with traumatic brain injury: a 20-year perspective. *The Journal of Head Trauma Rehabilitation*. 2005;20(1):19-29. DOI: 10.1097/00001199-200501000-00004.
67. Viguera A.C., Fan Y., Thompson N.R., Lapin B., Chaitoff A., Griffith S.D. et al. Prevalence and predictors of depression among patients with epilepsy, stroke, and multiple sclerosis using the Cleveland clinic knowledge program within the neurological institute. *Psychosomatics*. 2018;59(4):369-378. DOI: 10.1016/j.psych.2017.12.003.
68. Codori A.M., Slavney P.R., Rosenblatt A., Brandt J. Prevalence of major depression one year after predictive testing for Huntington's disease. *Genetic Testing*. 2004;8(2):114-119. DOI: 10.1089/gte.2004.8.114.
69. Sobel R.M., Lotkowski S., Mandel S. Update on depression in neurologic illness: stroke, epilepsy, and multiple sclerosis. *Current Psychiatry Reports*. 2005;7(5):396-403. DOI: 10.1007/s11920-005-0043-2.
70. Feng L., Li L., Liu W., Yang J., Wang Q., Shi L. et al. Prevalence of depression in myocardial infarction: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(8):e14596. DOI: 10.1097/MD.00000000000014596.
71. Hayes E., Mehta P., Mehta J.L. Depression in heart disease—a plea for help! *Indian Heart Journal*. 2005;57(4):360-363.
72. Jiang W., Davidson J.R. Antidepressant therapy in patients with ischemic heart disease. *American Heart Journal*. 2005;150(5):871-881. DOI: 10.1016/j.ahj.2005.01.041.
73. Hermanns N., Kulzer B., Krichbaum M., Kubiak T., Haak T. How to screen for depression and emotional problems in patients with diabetes: comparison of screening characteristics of depression questionnaires, measurement of diabetes-specific emotional problems and standard clinical assessment. *Diabetologia*. 2006;49(3):469-477. DOI: 10.1007/s00125-005-0094-2.
74. Fornaro M., Iovieno N., Clementi N., Boscaro M., Paggi F., Balercia G. et al. Diagnosis of co-morbid axis-I psychiatric disorders among women with newly diagnosed, untreated endocrine disorders. *The World Journal of Biological Psychiatry: the Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*. 2010;11(8):991-996. DOI: 10.3109/15622975.2010.491126.
75. Suwalska A., Lacka K., Lojko D., Rybakowski J.K. Quality

- of life, depressive symptoms and anxiety in hyperthyroid patients. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku* (1995). 2005;50(1):61–63.
76. Geisser M.E., Cano A., Foran H. Psychometric properties of the mood and anxiety symptom questionnaire in patients with chronic pain. *The Clinical Journal of Pain*. 2006;22(1):1–9. DOI: 10.1097/01.aip.0000146180.55778.4d.
 77. Carney C.P., Jones L., Woolson R.F., Noyes R. Jr., Doebbeling B.N. Relationship between depression and pancreatic cancer in the general population. *Psychosomatic Medicine*. 2003;65(5):884–888. DOI: 10.1097/01.psy.0000088588.23348.d5.
 78. Reisine S., Morse D.E., Psoter W.J., Eisenberg E., Cohen D., Cleveland D. et al. Sociodemographic risk indicators for depressive symptoms among persons with oral cancer or oral epithelial dysplasia. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. 2005;63(4):513–520. DOI: 10.1016/j.joms.2004.12.006.
 79. Stommel M., Kurtz M.E., Kurtz J.C., Given C.W., Given B.A. A longitudinal analysis of the course of depressive symptomatology in geriatric patients with cancer of the breast, colon, lung, or prostate. *Health Psychology: Official Journal of the Division of Health Psychology, American Psychological Association*. 2004;23(6):564–573. DOI: 10.1037/0278-6133.23.6.564.
 80. Akhtar M.S., Malik S.B., Ahmed M.M. Symptoms of depression and anxiety in post-myocardial infarction patients. *Journal of the College of Physicians and Surgeons – Pakistan: JCPSP*. 2004;14(10):615–618. DOI: 10.2004/JCPSP.615618.
 81. Sher Y., Lolak S., Maldonado J.R. The impact of depression in heart disease. *Current Psychiatry Reports*. 2010;12(3):255–264. DOI: 10.1007/s11920-010-0116-8.
 82. Vindegaard N., Benros M.E. COVID-19 pandemic and mental health consequences: Systematic review of the current evidence. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2020;89:531–542. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.05.048.
 83. Haug T.T., Mykletun A., Dahl A.A. The association between anxiety, depression, and somatic symptoms in a large population: the HUNT-II study. *Psychosomatic Medicine*. 2004;66(6):845–851. DOI: 10.1097/01.psy.0000145823.85658.0c.
 84. Penninx B.W., van Dyck R. Depressie en somatische comorbiditeit. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*. 2010;154:A1784. (In Dutch.).
 85. Cuijpers P., Karyotaki E., Eckshtain D., Ng M.Y., Corteselli K.A., Noma H. et al. Psychotherapy for depression across different age groups: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Psychiatry*. 2020;77(7):694–702. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2020.0164.
 86. Blease C., Locher C., Leon-Carlyle M., Doraiswamy M. Artificial intelligence and the future of psychiatry: Qualitative findings from a global physician survey. *Digital Health*. 2020;6:2055207620968355. DOI: 10.1177/2055207620968355.
 87. Schramm E., Klein D.N., Elsaesser M., Furukawa T.A., Domschke K. Review of dysthymia and persistent depressive disorder: history, correlates, and clinical implications. *Lancet Psychiatry*. 2020;7(9):801–812. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30099-7.
 88. Корнетов А.Н. Онтогенетические аспекты депрессивных расстройств. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2003;103(8):80–81.
 89. Hegeman J.M., van Fenema E.M., Comijs H.C., Kok R.M., van der Mast R.C., de Waal M.W.M. Effect of chronic somatic diseases on the course of late-life depression. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2017;32(7):779–787. DOI: 10.1002/gps.4523.
 90. Hammen C. Risk factors for depression: An autobiographical review. *Annual Review of Clinical Psychology*. 2018;14:1–28. DOI: 10.1146/annurev-clinpsy-050817-084811.
 91. Solé E., Racine M., Tomé-Pires C., Galán S., Jensen M.P., Miró J. Social factors, disability, and depressive symptoms in adults with chronic pain. *The Clinical Journal of Pain*. 2020;36(5):371–378. DOI: 10.1097/AJP.0000000000000815.
 92. Klinkman M.S. The role of algorithms in the detection and treatment of depression in primary care. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2003;64(2):19–23.
 93. Cuijpers P., Quero S., Dowrick C., Arroll B. Psychological treatment of depression in primary care: Recent developments. *Current Psychiatry Reports*. 2019;21(12):129. DOI: 10.1007/s11920-019-1117-x.
 94. Gariépy G., Honkaniemi H., Quesnel-Vallée A. Social support and protection from depression: systematic review of current findings in Western countries. *The British Journal of Psychiatry: the Journal of Mental Science*. 2016;209(4):284–293. DOI: 10.1192/bjp.bp.115.169094.
 95. Cameron C., Habert J., Anand L., Furtado M. Optimizing the management of depression: primary care experience. *Psychiatry Research*. 2014;220(1):S45–S57. DOI: 10.1016/S0165-1781(14)70005-8.
 96. Adler R.H. Engel's biopsychosocial model is still relevant today. *Journal of Psychosomatic Research*. 2009;67(6):607–611. DOI: 10.1016/j.jpsychores.2009.08.008.

Информация об авторе

Корнетов Александр Николаевич – д-р мед. наук, зав. кафедрой фундаментальной психологии и поведенческой медицины, СИГМУ, г. Томск, alcornetov@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2342-7504>

(✉) **Корнетов Александр Николаевич**, alcornetov@gmail.com

Поступила в редакцию 14.07.2021;
одобрена после рецензирования 10.08.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616.1:57.017.6

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-186-194>

Механизмы сосудистого старения

Стахнёва Е.М., Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Шрамко В.С., Рагино Ю.И.

*Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (НИИТупМ – ИЦиГ СО РАН)
Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1*

РЕЗЮМЕ

Старение сосудистой системы играет ключевую роль в заболеваемости и смертности среди пожилых людей. С возрастом сосудистая сеть претерпевает изменения, характеризующиеся дисфункцией эндотелия, утолщением стенок, снижением растяжимости и артериальной жесткостью. В данном обзоре уделяется внимание основным клеточным и молекулярным механизмам старения, включая окислительный стресс, эндотелиальную дисфункцию, воспаление, повышенную артериальную жесткость; молекулярно-генетическим аспектам. Рассматривается их роль в патогенезе заболеваний, связанных со старением. Некоторые молекулярные механизмы, лежащие в основе этих процессов, включают повышенную экспрессию и активацию матричных металлопротеиназ, активацию передачи сигналов трансформирующего фактора роста $\beta 1$, повышение концентрации С-реактивного протеина, интерлейкина-1, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли α и натрийуретического пептида N-концевого про-В-типа, активацию провоспалительных сигнальных путей. Эти события могут быть вызваны вазоактивными агентами, такими как ангиотензин II, эндотелин-1, концентрация которых увеличивается при старении. Для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний важно понимание механизмов, лежащих в основе возрастных патофизиологических изменений сосудов.

Ключевые слова: сосудистое старение, сердечно-сосудистые заболевания, окислительный стресс, эндотелиальная дисфункция

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках бюджетной темы по государственному заданию «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» (рег. № 122031700094-5) и гранта РНФ (21-15-00022).

Для цитирования: Стахнёва Е.М., Каштанова Е.В., Полонская Я.В., Шрамко В.С., Рагино Ю.И. Механизмы сосудистого старения. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):186–194. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-186-194>.

Mechanisms of vascular aging

Stakhneva E.M., Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V., Shramko V.S., Ragino Yu.I.

Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
175/1, Bogatkova Str., Novosibirsk, 630089, Russian Federation

ABSTRACT

Vascular aging plays a key role in morbidity and mortality in the elderly. With age, the vasculature undergoes changes characterized by endothelial dysfunction, wall thickening, decreased elongation, and arterial stiffness. The review focuses on the main cellular and molecular mechanisms of aging, including oxidative stress, endothelial dysfunction, inflammation, increased arterial stiffness, and molecular genetic aspects. Their role in the pathogenesis of diseases associated with aging is considered. Some of the molecular mechanisms underlying these processes include increased expression and activation of matrix metalloproteinases, activation of transforming growth factor β 1 signaling, increased levels of C-reactive protein, interleukin (IL)-1, IL-6, tumor necrosis factor (TNF) α , and N-terminal pro B-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP), and activation of proinflammatory signaling pathways. These events can be caused by vasoactive agents, such as angiotensin II and endothelin-1, the levels of which increase with aging. For prevention of cardiovascular diseases, it is important to understand the mechanisms underlying age-related pathophysiological changes in the blood vessels.

Keywords: vascular aging, cardiovascular disease, oxidative stress, endothelial dysfunction

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was conducted within the budgetary theme under the state assignment No. 122031700094-5 and within the Russian Science Foundation project No. 21-15-00022.

For citation: Stakhneva E.M., Kashtanova E.V., Polonskaya Ya.V., Shramko V.S., Ragino Yu.I. Mechanisms of vascular aging. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):186–194. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-186-194>.

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) – это наиболее распространенная причина смертности во всем мире. При этом старение сосудистой системы является основным и необратимым фактором риска развития заболевания [1–4]. Очевидно, что старение приводит к определенным изменениям, которые делают сердечно-сосудистую систему предрасположенной к заболеваниям даже при отсутствии традиционных факторов риска, таких как гипертония, сахарный диабет, курение и т.д. [5]. Хотя старение является неизбежным процессом, расширение знаний о механизмах, лежащих в основе процесса старения в сердечно-сосудистой системе, привело к изменению взглядов на старение сосудов как на модифицируемый фактор риска [6]. На молекулярном и клеточном уровнях старение связано со структурными, механическими и функциональными изменениями сосудов, характеризующимися повышенной жесткостью артерий, снижением продукции оксида азота, повышением образования активных форм кислорода (окислительный стресс), эндотелиальной дисфункцией.

Сердечно-сосудистое старение снижает сократительную и механическую эффективность сосудов. Специфические изменения включают повышение тонуса гладких мышц, повышение коллагенолитической и эластолитической активности и утолщение артериальной стенки. Эти изменения способствуют повышению систолического артериального давления, увеличению сердечной нагрузки и системного сосудистого сопротивления [7]. Прогрессирующая гипертрофия кардиомиоцитов, воспаление и постепенное развитие сердечного фиброза являются признаками сердечного старения [8]. Возрастное ремоделирование артериальной стенки закладывает основу для патогенеза сосудистых заболеваний, ведущих к увеличению заболеваемости и смертности.

Таким образом, артериальное старение является основным фактором, способствующим увеличению заболеваемости и распространенности сердечно-сосудистых заболеваний, в основном за счет наличия хронического воспаления артерий. Воспалительная передача сигналов, управляемая каскадом ангиотензина II, вызывает неблагоприятное возрастное структурное и функциональное ремоделирование артерий [9].

Понимание механизмов, лежащих в основе возрастных патофизиологических изменений сосудов, включая окислительный стресс, митохондриальную дисфункцию, хроническое воспаление, необходимо для профилактики роста смертности от сердечно-сосудистых заболеваний у стареющего населения.

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ СТАРЕНИИ

Артериальный эндотелий – динамичная структура, которая выполняет множество жизненно важных функций. Эндотелий сосудов должен постоянно поддерживать баланс между оксидантами и антиоксидантами, вазодилататорами и вазоконстрикторами, про- и противовоспалительными молекулами, а также про- и антитромботическими сигналами. Функция эндотелия у молодых людей регулируется традиционными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, но пожилой возраст независимо связан с развитием дисфункции эндотелия сосудов [10]. Увеличение распространенности сердечно-сосудистых заболеваний при старении является следствием старения сосудистых эндотелиальных клеток и связанной с ними сосудистой дисфункции. Старение эндотелиальных клеток представляет собой патофизиологический процесс функциональных и структурных изменений, включающий нарушение регуляции тонуса сосудов, повышение проницаемости эндотелия, жесткость артерий, нарушение ангиогенеза и восстановления сосудов, а также снижение биогенеза митохондрий эндотелиальных клеток [11].

Среди различных механизмов, приводящих к дисфункции сосудов, повреждение эндотелия – одно из самых ранних и важных событий. Нарушение эндотелиальной вазодилатации – ранний признак старения артерий, предшествующий клиническим проявлениям сосудистой дисфункции, первый шаг к сердечно-сосудистым заболеваниям. [6]. В сосудистую дисфункцию, связанную со старением, вносят вклад многие патофизиологические изменения эндотелия, такие как снижение продукции оксида азота (NO) и активация передачи сигналов кальция (Ca^{2+}), повышенная проницаемость эндотелия, нарушение ангиогенеза и восстановления сосудов, а также снижение биогенеза митохондрий эндотелиальных клеток. Таким образом, в патофизиологический процесс вовлечена регуляция клеточного цикла, окислительный стресс, измененная передача сигналов Ca^{2+} и сосудистое воспаление [11]. Кроме того, накопление генетических повреждений изменяет нормальную экспрессию и активность генов, что приводит к клеточному старению и сосудистой дисфункции [11]. И макрососудистая, и микрососудистая эндотелиаль-

ная дисфункция являются ключевыми показателями здоровья эндотелия и независимыми предикторами риска сердечно-сосудистых заболеваний у пожилых людей [12].

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ СТАРЕНИИ

Окислительный стресс вовлечен в патологию многих заболеваний человека. Окислительный стресс признан основным фактором патофизиологии и патогенеза возрастных заболеваний, таких как метаболический синдром, атеросклероз, остеопороз, ожирение, деменция, диабет, рак и артрит [7, 13, 14]. Постоянное образование свободных радикалов, в основном активных форм кислорода, является основной характеристикой всех живых систем, которые используют кислород для своего основного метаболизма. Наиболее распространенными АФК являются супероксидный радикал ($\text{O}_2^{\cdot-}$) и перекись водорода (H_2O_2), которые могут стимулировать последовательные реакции, приводящие к дальнейшему производству свободных радикалов, и связанное с ним окислительное повреждение клеточных компонентов.

Окислительный стресс и воспаление индуцируют эндотелиальную дисфункцию, возникающую в результате снижения биодоступности оксида азота [10]. Окислительный стресс играет роль в патогенезе жесткости артерий, поскольку окислительное повреждение может привести к усилению воспаления сосудов и увеличению клеточной пролиферации, что впоследствии может способствовать нарушению эластичности артерий [15]. Усиление эндотелиального окислительного стресса с возрастом является результатом увеличения производства внутриклеточных ферментов НАДФН-оксидазы и несвязанной эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), а также митохондриального дыхания в отсутствие соответствующего повышения антиоксидантной защиты, регулируемого соответствующими факторами транскрипции [10].

ВОСПАЛЕНИЕ СОСУДОВ И МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ СТАРЕНИИ

Старение связано с хроническим воспалением низкого уровня (стерильное воспаление), т. е. видом воспаления, вызванного механической травмой, ишемией, стрессом. Хроническое воспаление связано со многими патологическими состояниями, связанными со старением, такими как атеросклероз, болезнь Альцгеймера и т.д. [16]. Воспаление характеризуется повышенной экспрессией воспалительных цитокинов, молекул адгезии и хемоки-

нов эндотелиальных клеток. Старение обусловлено увеличенным уровнем циркулирующих цитокинов и провоспалительных маркеров. Связанные с возрастом изменения иммунной системы, известные как иммуностарение, и повышенная секреция цитокинов жировой тканью являются основными причинами хронического воспаления [17]. Считается, что хроническое воспаление ассоциировано с нарушением функций иммунных клеток, таких как миграция клеток и передача сигналов рецепторов распознавания образов (PRR), которые необходимы для ответа на патогены. Эта иммунная дисрегуляция может влиять на состояния, связанные с хроническим воспалением (атеросклероз и болезнь Альцгеймера). Механизмы, лежащие в основе этого воспаления, по-видимому, включают изменения в количестве и функциях клеток врожденного иммунитета, активацию PRR эндогенными лигандами, которые приводят к секреции цитокинов [18].

Кроме того, провоспалительный ответ связан с активацией передачи сигналов ядерного фактора-каппа В (NF- κ B), который является важным фактором ядерной транскрипции, способствующим экспрессии воспалительных цитокинов при эндотелиальной дисфункции и сердечно-сосудистых заболеваниях [10]. Вклад в старение вносят алармины, являющиеся медиаторами стерильного воспаления. При этом привлекает внимание активация металлопротеиназы-2 (MMP-2), ответственной за деградацию алармина S100A9, что влечет ограничение сигналов, вызывающих воспаление [16].

Среди наиболее изученных маркеров старения – возрастное увеличение воспалительных пептидных биомаркеров: интерлейкина-6 (IL-6), интерлейкина-1 (IL-1), фактора некроза опухоли α (TNF α) и С-реактивного протеина [19]. Более высокие концентрации в плазме воспалительных факторов, таких как IL-6 и TNF α , были связаны с более низкой мышечной массой и более низкой мышечной силой (меньшую мышечную площадь, меньшую мышечную массу аппендикуляра с более низкой силой хвата), демонстрируя взаимосвязь между иммунным и функциональным статусом в организме пожилого человека [20]. С-реактивный протеин был связан со всеми причинами и смертностью, а IL-6 оказался предиктором смертности [21, 22]. Тем не менее при изучении маркеров воспаления выяснилось, что у долгожителей меньше признаков воспаления [23, 24]. Воспалительные пептиды либо отсутствуют, либо их количество ниже, чем в более молодых когортах, при одновременном увеличении уровня противовоспалительных цитокинов, таких как IL-10 и трансформирующий фактор роста β у долгожителей [25].

Адипокины, такие как адипонектин, лептин и висфатин, являются регуляторами воспаления [26]. Интересно, что концентрация адипонектина изменяется с возрастом и связана с возрастными последствиями для здоровья [27]. В исследовании здоровых пожилых людей (69–79 лет) более высокие уровни адипонектина были связаны с повышенным риском общей и сердечно-сосудистой смертности [28].

Традиционно натрийуретический пептид N-концевого про-В-типа (NT-proBNP) и тропонин связывают с повреждением миокарда и сердечной недостаточностью. Измерение NT-proBNP предоставляет прогностическую информацию о смертности и серьезных сердечно-сосудистых событиях, помимо традиционных факторов риска. NT-proBNP был более сильным биомаркером риска сердечно-сосудистых заболеваний и смерти, чем С-реактивный протеин, у негоспитализированных лиц в возрасте 50–89 лет [29]. В исследовании 4 979 респондентов (2 567 мужчин и 2 412 женщин), разделенных на шесть возрастных групп, было отмечено, что возраст старше 70 лет и мужской пол были связаны с повышенным уровнем NT-pro-BNP (> 400 пг/мл) (отношение шансов 1,41; 95%-й доверительный интервал 1,20–1,65 для мужского пола) [30]. Несмотря на достоверность в качестве предикторов сердечного повреждения и сердечно-сосудистых заболеваний, уровень NT-proBNP и тропонина увеличивается с возрастом, что успешно характеризует их как биомаркеры старения человека [31].

ПОВЫШЕННАЯ АРТЕРИАЛЬНАЯ ЖЕСТКОСТЬ ПРИ СТАРЕНИИ

Повышенная жесткость артерий является независимым предиктором сердечно-сосудистых заболеваний, не зависящим от артериального давления. С возрастом сосуды претерпевают структурные и функциональные изменения, характеризующиеся ремоделированием (утолщением) артерий, фиброзом сосудов и жесткостью, которые проявляются при старении и гипертонии. Жесткость артерий – обычное явление, встречается у более 60% людей старше 70 лет и является основным независимым предиктором серьезных сердечно-сосудистых событий [32].

Жесткость артерий оценивают путем измерения скорости пульсовой волны, анализа пульсовой волны, анализа жесткости артерий с использованием 24-часового амбулаторного мониторинга артериального давления и оценки функции эндотелия. Жесткость стенки аорты вызывает увеличение скорости пульсовой волны и преждевременные отраженные волны с повышенной центральной гемодинамической нагрузкой, что приводит к повреждению

периферических мелких артерий [33]. Пациенты с синдромом раннего сосудистого старения имеют повышенный риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, а основным его компонентом является жесткость артерий, измеряемая по повышенной скорости сонно-бедренной пульсовой волны [34].

Профибротические процессы играют значительную роль в развитии жесткости сосудов. Фиброз возникает как в крупных, так и в мелких артериях. В крупных сосудах жесткость сосудов приводит к гемодинамическому повреждению периферических тканей, что влечет нарушение функции эндотелия, повышение вазомоторного тонуса [32].

На молекулярном и клеточном уровнях старение артерий и сосудистые изменения связаны с повышенной экспрессией и активацией матричных металлопротеиназ (ММР), активацией передачи сигналов трансформирующего фактора роста- β 1, активацией галектина-3 и активацией провоспалительных и профибротических сигнальных путей. Эти события могут быть вызваны вазоактивными агентами, такими как ангиотензин II, эндотелин-1 (ЕТ-1) и альдостерон, количество которых увеличивается с повышением возраста [32].

РОЛЬ МАТРИЧНЫХ МЕТАЛЛОПРТЕИ- НАЗ В РЕМОДЕЛИРОВАНИИ СОСУДОВ

В здоровых сосудах отложение и обмен белков внеклеточного матрикса регулируются, и соотношение коллагена и эластина остается относительно постоянным. Дисбаланс этих процессов приводит к чрезмерному отложению белков внеклеточного матрикса, особенно коллагена и фибронектина, что способствует фиброзу сосудов и их жесткости при старении [32]. Регуляция белков внеклеточного матрикса происходит с помощью металлопротеиназ, которые активируются, в свою очередь, многими факторами, связанными со старением, такими как интерлейкины, факторы роста, вазоактивные агенты.

Активированные ММР способны разрушать коллаген, эластин и другие белки внеклеточного матрикса, что вызывает старение и атеросклеротические эффекты в стенке артерии, такие как фиброз, кальцификация, эндотелиальная дисфункция, и увеличение толщины комплекса «интима – медиа», что дополнительно влияет на ремоделирование сосудов и жесткость артерий [35–37]. Ремоделирование артерий, опосредованное активацией ММР, является гистопатологическим признаком старения артерий, гипертонии и атеросклероза [35]. Дисбаланс между активностью ММР и их эндогенными тканевыми ингибиторами (TIMP), которые продуцируются раз-

личными типами клеток, включая фибробласты и макрофаги, важен для ремоделирования внеклеточного матрикса и артериальной жесткости [15]. ММР-1 усиливает старение эндотелиальных клеток через активацию p53 [38].

При ишемической кардиомиопатии с нарастанием сердечной недостаточности преобладают процессы разрушения коллагена во внеклеточном матриксе, сопровождаемые повышенным содержанием ММР-1 [39]. ММР-2 играет главную роль в деградации внеклеточного матрикса, поддерживая как ангиогенез, так и апоптоз эндотелиальных клеток. Промежуточная форма ММР-2 способствует выживанию и миграции, а полностью активная форма ММР-2 приводит к гибели эндотелиальных клеток. Апоптолитический путь p38 усиливает синтез и активацию промежуточной формы ММР-2, в то время как каспазы увеличивают синтез и полную активацию ММР-2, но снижают промежуточную форму ММР-2 [40]. Кроме того, ММР-2 способствует агрегации тромбоцитов и образованию тромбов в ответ на повреждение артерии, а инактивация гена ММР-2 предотвращает тромбоз, вызванный слабыми раздражителями у мышей [41]. При изучении возрастных изменений активности ММР на моделях животных обнаружено снижение активности ММР-2 и повышение активности ММР-9 с увеличением возраста [42].

При изучении патофизиологии старения у людей на примере разновозрастной выборки здорового населения, включающей долгожителей (≥ 95 лет), обнаружено, что сывороточная активность ММР-2 повышена у долгожителей по сравнению с более молодыми субъектами. Авторы предположили, что наблюдаемое увеличение ММР-2 в пожилом возрасте может играть положительную роль в достижении долголетия [43].

ММР-9 является основным медиатором повышенной жесткости стареющего левого желудочка. Старение ассоциируется с повышенной экспрессией ММР-9 в левом желудочке и снижением сердечной функции [44]. Повышенные уровни ММР-9 и МСР-1 в крови положительно коррелируют с увеличением конечного диастолического размера, указывая на то, что МСР-1 и ММР-9 являются потенциальными циркулирующими биомаркерами сердечного старения. А повышенная плотность макрофагов в левом желудочке и устойчивая совместная локализация ММР-9 в макрофагах указывают на то, что макрофаги являются основным источником ММР-9 в левом желудочке и, возможно, обеспечивают основной воспалительный механизм сердечного старения [45].

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ СТАРЕНИЯ

Старение можно описать как многофакторный процесс, включающий сложные взаимодействия между биологическими и молекулярными механизмами [2]. Способность различать нормальное биологическое старение и нарушение здоровья – важная область, по которой существует мало экспериментальных данных. Важной целью остается обеспечение точных показателей или предикторов возникновения плохого состояния здоровья, а также способность охарактеризовать состояние оптимального здоровья, соответствующего возрасту [2].

Старение является главным фактором риска почти всех неинфекционных заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания, рак, диабет и др. Предлагаемые механизмы, которые способствуют процессу старения и развитию этих хронических, связанных с возрастом заболеваний, включают повреждение ДНК, митохондриальную дисфункцию, изменения в экспрессии генов и некодирующих РНК, генотоксичность, окислительный стресс и укорочение теломер [46–48]. Известно, что производство АФК митохондриями накапливается в течение жизни, что приводит к состоянию хронического окислительного стресса в пожилом возрасте. Поскольку механизмы антиоксидантной защиты и способность к репарации ДНК у пожилых людей, по-видимому, нарушены, повреждение ДНК считается следствием старения [49].

Нарушение стабильности ДНК тесно связаны с возрастными заболеваниями. В возрасте 60 лет хромосомные повреждения перестают накапливаться, но у людей старше 85 лет частота повреждений уменьшается [50]. Теломеры укорачиваются из-за деления клеток и окислительного стресса и удлиняются за счет фермента теломеразы и обмена ДНК во время митоза. Более длинные теломеры и более высокая активность теломеразы способствуют стабильности генома, целостности ДНК. Короткие теломеры являются индикатором окислительного стресса и биомаркером старения [51].

В старении задействовано несколько генетических путей. Большое количество микроРНК (miRs) по-разному экспрессируются во время старения [52]. Отмечено, что miRs представляют собой стабильные молекулы даже в сыворотке крови, поэтому они рассматриваются как многообещающие маркеры в клинических условиях. При этом возраст и пол могут влиять на паттерн циркулирующих miRs [53]. Также микроРНК являются важными посттранскрипционными регуляторами экспрессии генов в скелетных

мышцах и связаны со старением. МикроРНК играют важную роль в возрастных изменениях массы, состава и функции скелетных мышц [54, 55].

Концентрация miR-126-3p в крови достоверно повышается с возрастом, и была значительно выше у самых старых по сравнению с самыми молодыми здоровыми субъектами (<45 против >75 лет; относительная экспрессия: $0,27 \pm 0,29$ против $0,48 \pm 0,39$, $p = 0,047$) [56]. Более того, некоторые miRs могут служить циркулирующими прогностическими биомаркерами сердечно-сосудистого старения [57].

ПРОТЕОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ СОСУДИСТОМ СТАРЕНИИ

В стареющих сосудах происходят структурные и функциональные изменения, которые отражаются в протеоме составляющих ее типов клеток. Развитие протеомных технологий сделало возможным анализ количества белков, связанных с естественной историей старения аорты. Эти изменения отражают молекулярные и клеточные механизмы старения и могут дать возможность прогнозировать здоровье сосудов [58]. Характеристики возрастного ремоделирования артерий включают утолщение стенки аорты, повышенную жесткость сосудов, эндотелиальную дисфункцию, увеличение пролиферации (инвазии и (или) секреции гладкомышечных клеток сосудов), фрагментацию эластических волокон, отложение коллагена.

Провоспалительное ремоделирование артерий развивается с возрастом и у людей, и у животных. Ремоделирование приводит к изменениям содержания ключевых регуляторных белков, участвующих в патофизиологических процессах. Центральным в этом процессе является сигнальный путь ангиотензина II. Многочисленные белковые молекулы в сигнальном пути ангиотензина II активируются и влияют на ремоделирование сосудов при старении и ассоциированных с ним заболеваниях [58].

Для идентификации биомаркеров, связанных со старением, проведено исследование образцов крови 1 890 человек (1 136 мужчин и 754 женщины) в возрасте от 18 до 82 лет, использовался масс-спектрометрический анализ MALDI-TOF. В ходе исследования было выявлено 44 пептида, концентрация которых различалась в разных возрастных группах. Концентрация аполипопротеина A-I (ApoA1) постепенно увеличивалась между 18 и 50 годами, уровень фибриногена α снижался в течение того же возраста, в то время как альбумин значительно разлагался у людей среднего возраста. Кроме того, уровень фибриногена, альбумина и ApoA1 значительно коррелирует с возрастом [1].

При сравнении молодых и старых крыс идентифицировали 18 белков, концентрация которых значительно изменяется с возрастом. Анализ транскрипции и трансляции показал, что уровень мРНК и белка MFG-E8 (milk fat globule protein-epidermal growth factor-8) в аорте повышается с возрастом. Двойная иммунная метка показывает, что MFG-E8 колокализуется как с ангиотензином II, так и с моноцитарным хемоаттрактантным белком-1 в гладкомышечных клетках сосудов утолщенной стареющей стенки аорты [59].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что ССЗ, связанные с атеросклерозом, являются основными причинами заболеваемости, инвалидности и смертности в развитых странах. Одной из причин заболеваемости считается неуклонное старение населения. Накопленные данные свидетельствуют, что артериальная жесткость, ремоделирование стенки артерий, эндотелиальная дисфункция являются независимыми факторами риска ССЗ у пожилых людей. Традиционные кардиоваскулярные факторы риска – повышенное давление, дислипидемия, ожирение, сахарный диабет, курение и другие – взаимодействуют с возрастными изменениями, внося вклад в активизацию атеросклеротического процесса. Поэтому для профилактики развития и роста сердечно-сосудистых заболеваний пожилого населения необходимо понимание механизмов, лежащих в основе возрастных патофизиологических изменений сосудов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lu J., Huang Y., Wang Y., Li Y., Zhang Y., Wu J. et al. Profiling plasma peptides for the identification of potential ageing biomarkers in Chinese Han adults. *PLoS One*. 2012;7(7):e39726. DOI: 10.1371/journal.pone.0039726.
2. Wagner K.H., Cameron-Smith D., Wessner B., Franzke B. Biomarkers of aging: from function to molecular biology. *Nutrients*. 2016;8(6):338. DOI: 10.3390/nu8060338.
3. Laina A., Stellos K., Stamatelopoulos K. Vascular ageing: Underlying mechanisms and clinical implications. *Exp. Gerontol*. 2018;109:16–30. DOI: 10.1016/j.exger.2017.06.007.
4. Sepúlveda C., Palomo I., Fuentes E. Mechanisms of endothelial dysfunction during aging: predisposition to thrombosis. *Mech. Ageing Dev.* 2017;164:91–99. DOI: 10.1016/j.mad.2017.04.011.
5. Ungvari Z., Tarantini S., Donato A.J., Galvan V., Csiszar A. Mechanisms of vascular aging. *Circ. Res.* 2018;123(7):849–867. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.311378.
6. El Assar M., Angulo J., Rodríguez-Mañas L. Oxidative stress and vascular inflammation in aging. *Free Radic. Biol. Med.* 2013;65:380–401. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.003.
7. Tan B.L., Norhaizan M.E. Carotenoids: How effective are they to prevent age-related diseases? *Molecules*. 2019;24(9):1801. DOI: 10.3390/molecules24091801.
8. Meschiari C.A., Ero O.K., Pan H., Finkel T., Lindsey M.L. The impact of aging on cardiac extracellular matrix. *GeroScience*. 2017; 39(1):7–18. DOI: 10.1007/s11357-017-9959-9.
9. Wang M., Jiang L., Monticone R.E., Lakatta E.G. Proinflammation: the key to arterial aging. *Trends Endocrinol. Metab.* 2014;25(2):72–79. DOI: 10.1016/j.tem.2013.10.002.
10. Donato A.J., Machin D.R., Lesniewski L.A. Mechanisms of dysfunction in the aging vasculature and role in age-related disease. *Circ. Res.* 2018;123(7):825–848. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312563.
11. Jia G., Aroor A.R., Jia C., Sowers J.R. Endothelial cell senescence in aging-related vascular dysfunction. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis. Dis.* 2019;1865(7):1802–1809. DOI: 10.1016/j.bbdis.2018.08.008.
12. Rossman M.J., LaRocca T.J., Martens C.R., Seals D.R. Healthy lifestyle-based approaches for successful vascular aging. *J. Appl. Physiol.* 2018;125(6):1888–1900. DOI: 10.1152/japplphysiol.00521.2018.
13. Giudetti A.M., Salzet M., Cassano T. Oxidative stress in aging brain: nutritional and pharmacological interventions for neurodegenerative disorders. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2018;2018:3416028. DOI: 10.1155/2018/3416028.
14. Liu Z., Zhou T., Ziegler A.C., Dimitrion P., Zuo L. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017;2017:2525967. DOI: 10.1155/2017/2525967.
15. Park S., Lakatta E.G. Role of inflammation in the pathogenesis of arterial stiffness. *Yonsei Med. J.* 2012;53(2):258–261. DOI: 10.3349/ymj.2012.53.2.258.
16. Feldman N., Rotter-Maskowitz A., Okun E. DAMPs as mediators of sterile inflammation in aging-related pathologies. *Ageing Res. Rev.* 2015;24(Pt.A):29–39. DOI: 10.1016/j.arr.2015.01.003.
17. Michaud M., Balardy L., Moulis G., Gaudin C., Peyrot C., Vellas B. et al. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 2013;14(12):877–882. DOI: 10.1016/j.jamda.2013.05.009.
18. Shaw A.C., Goldstein D.R., Montgomery R.R. Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2013;13(12):875–887. DOI: 10.1038/nri3547.
19. Tuttle C.S.L., Thang L.A.N., Maier A.B. Markers of inflammation and their association with muscle strength and mass: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res. Rev.* 2020;64:101185. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101185.
20. Visser M., Pahor M., Taaffe D.R., Goodpaster B.H., Simonick E.M., Newman A.B. et al. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 2002;57(5):M326–332. DOI: 10.1093/gerona/57.5.m326.
21. Kaptoge S., Di Angelantonio E., Lowe G., Pepys M.B., Thompson S.G., Collins R. et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9709):132–140. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61717-7.
22. Kabagambe E.K., Judd S.E., Howard V.J., Zakai N.A., Jenny N.S., Hsieh M. et al. Inflammation biomarkers and risk of all-cause mortality in the reasons for geographic and racial differ-

- ences in stroke cohort. *Am. J. Epidemiol.* 2011;174(3):284–292. DOI: 10.1093/aje/kwr085.
23. Cohen A.A., Milot E., Li Q., Bergeron P., Poirier R., Duseault-Bélanger F. et al. Detection of a novel, integrative aging process suggests complex physiological integration. *PLoS One.* 2015;10(3):e0116489. DOI: 10.1371/journal.pone.0116489
 24. Arai Y., Martin-Ruiz C.M., Takayama M., Abe Y., Takebayashi T., Koyasu S. et al. Inflammation, But Not Telomere Length, Predicts Successful Ageing at Extreme Old Age: A Longitudinal Study of Semi-supercentenarians. *EBioMedicine.* 2015;2(10):1549–1558. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.07.029.
 25. Salvioli S., Capri M., Bucci L., Lanni C., Racchi M., Uberti D. et al. Why do centenarians escape or postpone cancer? The role of IGF-1, inflammation and p53. *Cancer Immunol. Immunother.* 2009;58(12):1909–1917. DOI: 10.1007/s00262-008-0639-6.
 26. Ragino Y.I., Stakhneva E.M., Polonskaya Y.V., Kashtanova E.V. The role of secretory activity molecules of visceral adipocytes in abdominal obesity in the development of cardiovascular disease: a review. *Biomolecules.* 2020; 10(3):374–392. DOI:10.3390/biom10030374.
 27. Gulcelik N.E., Halil M., Ariogul S., Usman A. Adipocytokines and aging: adiponectin and leptin. *Minerva Endocrinol.* 2013;38(2):203–210.
 28. Poehls J., Wassel C.L., Harris T.B., Havel P.J., Swarbrick M.M., Cummings S.R. et al. Health ABC Study. Association of adiponectin with mortality in older adults: the Health, Aging, and Body Composition Study. *Diabetologia.* 2009;52(4):591–595. DOI: 10.1007/s00125-009-1261-7.
 29. Kistorp C., Raymond I., Pedersen F., Gustafsson F., Faber J., Hildebrandt P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide, C-reactive protein, and urinary albumin levels as predictors of mortality and cardiovascular events in older adults. *JAMA.* 2005;293(13):1609–1616. DOI: 10.1001/jama.293.13.1609.
 30. Nadrowski P., Chudek J., Grodzicki T., Mossakowska M., Skrzypek M., Wiecek A. et al. Plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide (NT-proBNP) in elderly population in Poland--the PolSenior Study. *Exp. Gerontol.* 2013;48(9):852–857. DOI: 10.1016/j.exger.2013.05.060.
 31. Clerico A., Fortunato A., Ripoli A., Prontera C., Zucchelli G.C., Emdin M. Distribution of plasma cardiac troponin I values in healthy subjects: pathophysiological considerations. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2008;46(6):804–808. DOI: 10.1515/CCLM.2008.162.
 32. Harvey A., Montezano A.C., Lopes R.A., Rios F., Touyz R.M. Vascular fibrosis in aging and hypertension: molecular mechanisms and clinical implications. *Can. J. Cardiol.* 2016;32(5):659–668. DOI: 10.1016/j.cjca.2016.02.070.
 33. Nilsson P.M., Boutouyrie P., Cunha P., Kotsis V., Narkiewicz K., Parati G. et al. Early vascular ageing in translation: from laboratory investigations to clinical applications in cardiovascular prevention. *J. Hypertens.* 2013;31(8):1517–1526. DOI: 10.1097/HJH.0b013e328361e4bd.
 34. Nilsson P.M. Early vascular aging in hypertension. *Front. Cardiovasc. Med.* 2020;7:6. DOI: 10.3389/fcvm.2020.00006.
 35. Wang M., Kim S.H., Monticone R.E., Lakatta E.G. Matrix metalloproteinases promote arterial remodeling in aging, hypertension, and atherosclerosis. *Hypertension.* 2015;65(4):698–703. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONA-HA.114.03618.
 36. Carrick-Ranson G., Spinale F.G., Bhella P.S., Sarma S., Shibata S., Fujimoto N. et al. Plasma matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs and aging and lifelong exercise adaptations in ventricular and arterial stiffness. *Exp. Gerontol.* 2019;123:36–44. DOI: 10.1016/j.exger.2019.05.004.
 37. Panwar P., Butler G.S., Jamroz A., Azizi P., Overall C.M., Brömme D. Aging-associated modifications of collagen affect its degradation by matrix metalloproteinases. *Matrix. Biol.* 2018;65:30–44. DOI: 10.1016/j.matbio.2017.06.004.
 38. Struwing I.T., Durham S.N., Barnett C.D., Mao C.D. Enhanced endothelial cell senescence by lithium-induced matrix metalloproteinase-1 expression. *The Journal of Biological Chemistry.* 2009; 284(26):17595–17606. DOI: 10.1074/jbc.M109.001735.
 39. Мясоедова Е.И. Содержание матриксной металлопротеиназы-1 и ее ингибитора у пациентов с ишемической кардиомиопатией. *Вестник новых медицинских технологий.* 2016;23(4):50–53. DOI: 10.12737/23850.
 40. Shapiro S., Khodalev O., Bitterman H., Auslender R., Lahat N. Different activation forms of mmp-2 oppositely affect the fate of endothelial cells. *American journal of physiology. Cell Physiology.* 2010;298(4):C942–951. DOI: 10.1152/ajpcell.00305.2009.
 41. Momi S., Falcinelli E., Giannini S., Ruggeri L., Cecchetti L., Corazzi T. et al. Loss of matrix metalloproteinase 2 in platelets reduces arterial thrombosis in vivo. *The Journal of Experimental Medicine.* 2009; 206(11):2365–2379. DOI: 10.1084/jem.20090687.
 42. Kollarova M., Puzserova A., Balis P., Radosinska D., Tothova L., Bartekova M. et al. Age- and phenotype-dependent changes in circulating MMP-2 and MMP-9 activities in normotensive and hypertensive rats. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(19):7286. DOI: 10.3390/ijms21197286.
 43. Cancemi P., Aiello A., Accardi G., Caldarella R., Candore G., Caruso C. et al. The role of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in ageing and longevity: focus on sicilian long-living individuals (LLIs). *Mediators Inflamm.* 2020;2020:8635158. DOI: 10.1155/2020/8635158.
 44. Iyer R.P., Chiao Y.A., Flynn E.R., Hakala K., Cates C.A., Weintraub S.T. et al. Matrix metalloproteinase-9- dependent mechanisms of reduced contractility and increased stiffness in the aging heart. *Proteomics Clin. Appl.* 2016;10(1):92–107. DOI:10.1002/prca.201500038.
 45. Chiao Y.A., Dai Q., Zhang J., Lin J., Lopez E.F., Ahuja S.S. et al. Multi-analyte profiling reveals matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemotactic protein-1 as plasma biomarkers of cardiac aging. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2011;4(4):455–462. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.111.959981.
 46. Franzke B., Neubauer O., Wagner K.H. Super DNAGing-New insights into DNA integrity, genome stability and telomeres in the oldest old. *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2015;766:48–57. DOI: 10.1016/j.mrrev.2015.08.001.
 47. Lovell M.A., Markesbery W.R. Oxidative DNA damage in mild cognitive impairment and late-stage Alzheimer's disease.

- Nucleic. Acids Res.* 2007;35(22):7497–7504. DOI: 10.1093/nar/gkm821.
48. Martin-Ruiz C., Dickinson H.O., Keys B., Rowan E., Kenny R.A., Von Zglinicki T. Telomere length predicts poststroke mortality, dementia, and cognitive decline. *Ann. Neurol.* 2006;60(2):174–180. DOI: 10.1002/ana.20869.
 49. Hazane F., Sauvaigo S., Douki T., Favier A., Beani J.C. Age-dependent DNA repair and cell cycle distribution of human skin fibroblasts in response to UVA irradiation. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2006;82(3):214–223. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2005.10.004.
 50. Franzke B., Halper B., Hofmann M., Oesen S., Peherstorfer H., Krejci K. et al. Vienna Active Ageing Study Group. The influence of age and aerobic fitness on chromosomal damage in Austrian institutionalised elderly. *Mutagenesis.* 2014;29(6):441–445. DOI: 10.1093/mutage/geu042.
 51. Sanders J.L., Newman A.B. Telomere length in epidemiology: a biomarker of aging, age-related disease, both, or neither? *Epidemiol. Rev.* 2013;35(1):112–131. DOI: 10.1093/epirev/mxs008.
 52. Inukai S., Slack F. MicroRNAs and the genetic network in aging. *J. Mol. Biol.* 2013;425(19):3601–3608. DOI: 10.1016/j.jmb.2013.01.023.
 53. Keller A., Meese E. Can circulating miRNAs live up to the promise of being minimal invasive biomarkers in clinical settings? *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2016;7(2):148–156. DOI: 10.1002/wrna.1320.
 54. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell.* 2013;153(6):1194–1217. DOI: 10.1016/j.cell.2013.05.039.
 55. McGregor R.A., Poppitt S.D., Cameron-Smith D. Role of microRNAs in the age-related changes in skeletal muscle and diet or exercise interventions to promote healthy aging in humans. *Ageing Res. Rev.* 2014;17:25–33. DOI: 10.1016/j.arr.2014.05.001.
 56. Olivieri F., Bonafè M., Spazzafumo L., Gobbi M., Prattichizzo F., Recchioni R. et al. Age- and glycemia-related miR-126-3p levels in plasma and endothelial cells. *Ageing (Albany NY).* 2014;6(9):771–787. DOI: 10.18632/aging.100693.
 57. Seeger T., Boon R.A. MicroRNAs in cardiovascular ageing. *J. Physiol.* 2016;594(8):2085–2094. DOI: 10.1113/JP270557.
 58. Fu Z., Wang M., Everett A., Lakatta E., Van Eyk J. Can proteomics yield insight into aging aorta? *Proteomics Clin. Appl.* 2013;7(7–8):477–489. DOI: 10.1002/prca.201200138.
 59. Fu Z., Wang M., Gucsek M., Zhang J., Wu J., Jiang L. et al. Milk fat globule protein epidermal growth factor-8: a pivotal relay element within the angiotensin II and monocyte chemoattractant protein-1 signaling cascade mediating vascular smooth muscle cells invasion. *Circ. Res.* 2009;104(12):1337–1346. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.108.187088.

Вклад авторов

Стахнёва Е.М., Шрамко В.С. – разработка концепции и дизайна. Каштанова Е.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Полонская Я.В. – обоснование рукописи. Рагино Ю.И. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Стахнёва Екатерина Михайловна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, stahneva@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0484-6540>

Каштанова Елена Владимировна – д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, зав. лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, elekstanova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2268-4186>

Полонская Яна Владимировна – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, yana-polonskaya@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3538-0280>

Шрамко Виктория Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, nosova@211.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0436-2549>

Рагино Юлия Игоревна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, руководитель НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, ragino@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4936-8362>

(✉) Стахнёва Екатерина Михайловна, stahneva@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.08.2021;
одобрена после рецензирования 10.09.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 577.112:616.9-022.1:[616.98:578.834.1]
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-195-206>

Роль белков сурфактанта SP-A и SP-D при вирусной инфекции, фокус на COVID-19

Харламова О.С.^{1,2}, Николаев К.Ю.^{1,3}, Рагино Ю.И.¹

¹Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (НИИТупМ – ИЦиГ СО РАН)

Россия, 630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, 175/1

²Городская клиническая больница № 25 (ГКБ № 25)

Россия, 630075, г. Новосибирск, ул. А. Невского, 1а

³Новосибирский государственный университет (НГУ)

Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

РЕЗЮМЕ

Неотъемлемой частью поддержания физиологического функционирования бронхолегочной системы и эффективного газообмена является иммунологический ответ на инвазию вирусных патогенов. Одними из ключевых белков, участвующих в идентификации вирусных частиц, являются представители семейства коллагенсодержащих лектинов типа С (легочные коллектины). Они обладают образ-распознающими рецепторами, которые идентифицируют ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны, в частности, вирусные гликопротеины. К легочным коллектинам относятся белки сурфактанта SP-A и SP-D, которые состоят из тримеризованных единиц и олигомеризуются в структуры более высокого порядка. Эти белки играют ключевую роль в распознавании и элиминации микробных патогенов (вирусов, бактерий, грибов, паразитов, наночастиц, аллергенов) посредством разнообразных механизмов.

С учетом бремени пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, крайне важно обратить внимание на роль белков сурфактанта SP-A и SP-D в патогенезе ответа на данную вирусную инвазию. В настоящее время известны указания на непосредственное взаимодействие белков сурфактанта и вирусов, принадлежащих к семейству Coronaviridae. Белки SP-A и SP-D модулируют воспалительные реакции и синтез цитокинов, при этом предотвращая чрезмерную воспалительную реакцию (цитокиновый шторм). Также существует предположение, что непосредственно SARS-CoV-2 подавляет и изменяет выработку белков сурфактанта. Таким образом, очевидна патогенетическая ключевая роль белков сурфактанта SP-A и SP-D в ответе на вирусный патоген SARS-CoV-2. Это на сегодняшний день является перспективным направлением трансляционной медицины как с точки зрения детального понимания патогенеза коронавирусной инфекции для оценки диагностических и прогностических потенциалов белков сурфактанта SP-A и SP-D при COVID-19, так и с точки зрения терапевтического потенциала рекомбинантных фрагментов человеческих SP-A и SP-D.

Ключевые слова: сурфактант, сурфактантный белок А, сурфактантный белок D, биомаркер, вирусная инфекция, коронавирусная инфекция, COVID19, SARS-CoV-2

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Материал статьи является частью бюджетной темы НИИТупМ – филиал ИЦиГ СО РАН «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению».

Для цитирования: Харламова О.С., Николаев К.Ю., Рагино Ю.И. Роль белков сурфактанта SP-A и SP-D при вирусной инфекции, фокус на COVID-19. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):195–206. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-195-206>.

The role of surfactant proteins SP-A and SP-D in viral infection: a focus on COVID-19

Kharlamova O.S.^{1,2}, Nikolaev K.Yu.^{1,3}, Ragino Yu.I.¹

¹Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

²City Clinical Hospital No. 25
1a, A. Nevskogo Str., Novosibirsk, 630075, Russian Federation

³Novosibirsk State University
2, Pirogova Str., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

ABSTRACT

An immune response to invasion of viral pathogens is an integral part of maintaining the physiological functioning of the bronchopulmonary system and effective gas exchange. Collagen-containing C-type lectins (lung collectins) are some of the key proteins in the identification of viral particles. They have image-recognizing receptors that identify pathogen-associated molecular patterns, particularly viral glycoproteins. The surfactant proteins SP-A and SP-D, which are composed of trimerized units, belong to pulmonary collectins and oligomerize into higher-order structures. These proteins play an essential role in recognition and elimination of microbial pathogens (viruses, bacteria, fungi, parasites, nanoparticles, allergens) through a variety of mechanisms.

Taking into account the burden of the novel coronavirus infection caused by the SARS-CoV-2 virus, it is important to consider the role of the surfactant proteins SP-A and SP-D in the pathogenesis of the immune response to viral invasion. Currently, there are data on the direct relationship between surfactant proteins and viruses belonging to the Coronaviridae family. The SP-A and SP-D proteins modulate inflammatory responses and cytokine synthesis, but prevent an excessive inflammatory response (cytokine storm). There is also an assumption that SARS-CoV-2 directly suppresses and alters the production of surfactant proteins. Thus, the key pathogenetic role of the surfactant proteins SP-A and SP-D in the response to the viral pathogen SARS-CoV-2 is evident. Today, this is a promising area of translational medicine, which will contribute to a profound understanding of the pathogenesis of coronavirus infection for assessing the diagnostic and prognostic potentials of the surfactant proteins SP-A and SP-D in COVID-19. Additionally, it will help evaluate the therapeutic potential of recombinant fragments of human SP-A and SP-D.

Keywords: surfactant, surfactant protein A, surfactant protein D, biomarker, viral infection, coronavirus infection, COVID-19, SARS-CoV-2

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The material of the article is part of the budget topic of NIITPM – branch of ICIG SB RAS "Epidemiological monitoring of the health status of the population and the study of molecular genetic and molecular biological mechanisms of the development of common therapeutic diseases in Siberia to improve approaches to their diagnosis, prevention and treatment."

For citation: Kharlamova O.S., Nikolaev K.Yu., Ragino Yu.I. The role of surfactant proteins SP-A and SP-D in viral infection: a focus on COVID-19. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):195–206. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-195-206>.

ВВЕДЕНИЕ

Неотъемлемой частью поддержания физиологического функционирования бронхолегочной системы и эффективного газообмена является иммуно-

логический ответ на инвазию вирусных патогенов. Одними из ключевых белков, участвующих в идентификации вирусных частиц, являются представители семейства коллагенсодержащих лектинов типа С (легочные коллектины). Они обладают образ-распоз-

нающими рецепторами, которые идентифицируют ассоциированные с патогенами молекулярные паттерны, в частности вирусные гликопротеины [1].

К легочным коллектинам относятся белки сурфактанта SP-A и SP-D, которые состоят из тримеризованных единиц и олигомеризуются в структуры более высокого порядка [2]. Эти белки играют ключевую роль в распознавании и элиминации микробных патогенов (вирусов, бактерий, грибов, паразитов) посредством разнообразных механизмов [2, 3]. С учетом бремени пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-2, крайне важно обратить внимание на роль белков сурфактанта SP-A и SP-D в патогенезе ответа на данную вирусную инвазию. Во-первых, при вирусном диффузном альвеолярном повреждении с микроангиопатией SP-A и SP-D модулируют воспалительные реакции и синтез цитокинов (действуя как проактивное звено между врожденным и адаптивным иммунитетом), при этом предотвращая чрезмерную воспалительную реакцию (цитокиновый шторм) [4]. Во-вторых, известны указания на непосредственное взаимодействие белков сурфактанта и вирусов, принадлежащих к семейству Coronaviridae, по классическому лектин-углеводному C-типу [5]. В-третьих, существует предположение, что непосредственно SARS-CoV-2 не только подавляет выработку белков сурфактанта [6], но и вызывает выработку измененного сурфактанта [7]. Это обусловлено тем, что кристаллическая структура рецептор-связывающего домена (RBD, receptor-binding domain) спайкового белка SARS-CoV-2 связана с клеточным рецептором ангиотензинпревращающего фермента (ACE2, angiotensin-converting enzyme) клеток альвеолярного эпителия II типа [8], которые непосредственно синтезируют белки сурфактанта SP-A и SP-D [1].

Таким образом, несмотря на немногочисленные исследования о роли белков сурфактанта SP-A и SP-D при новой коронавирусной инфекции, очевидна их патогенетическая ключевая роль в ответе на вирусный патоген SARS-CoV-2. Это на сегодняшний день является перспективным направлением как с точки зрения детального понимания патогенеза коронавирусной инфекции и вытекающих прогностических потенциалов белков сурфактанта SP-A и SP-D при COVID-19, так и с точки зрения терапевтического потенциала рекомбинантных молекул SP-A и SP-D.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ СУРФАКТАНТА SP-A И SP-D

Легочный сурфактант – липопротеиновый комплекс слизистой оболочки легких, состоящий на 90% из липидов (в основном фосфолипидов) и на 10% из

белков: SP-A, SP-B, SP-C, SP-D [3, 4]. Как уже говорилось, сурфактант вырабатывается преимущественно клетками альвеолярного II типа, имеющими кубовидную форму, синтезирующие поверхностно активные вещества из типичных органелл, называемых пластинчатыми телами [9]. Поверхностно активные белки SP-B и SP-C представляют собой небольшие гидрофобные пептиды, они участвуют в упаковке и переработке поверхностно-активного вещества, а также вносят свой вклад в его биофизические свойства [10].

Напротив, белки сурфактанта SP-A и SP-D являются крупными, растворимыми, гидрофильными белками, которые экспрессируются на большинстве поверхностей слизистой оболочки и играют ключевую многофункциональную роль в иммунном ответе на патогенную инвазию и иммунологическом гомеостазе легких [1]. Как было сказано выше, SP-A и SP-D являются кальций-зависимыми (C-типа) лектинами с коллагеновыми областями, которые относятся к группе белков, называемых коллектинами. Коллектины – это олигомеризованные белки, состоящие из тримерных звеньев с тремя полипептидными цепями [11]. Каждая цепь имеет тройную спиральную коллагеновую область, состоящую из повторяющихся триплетов Gly-X-Y, α -спиральную шейку и C-конец, содержащий лектин C-типа или область CRD (рис. 1) [2].

Через взаимодействие их N-концевых доменов эти тримерные единицы олигомеризуются в октадекамерную структуру для SP-A, образуя молекулу 630 кДа, состоящую из 18 цепей, и додекамерную крестообразную структуру для SP-D 520 кДа, которая может далее собираться в «звездчатые мультимеры» и (или) «астральные тела» [12]. Эта мультимеризация усиливает общую avidность связывания с углеводными мишенями и повышает способность к агглютинации патогенов. В то время как тример SP-D является моногенной единицей, SP-A образуется из двух генных продуктов SP-A1 и SP-A2, которые имеют некоторые функциональные различия [13].

Белки сурфактанта SP-A и SP-D реализуют многочисленные функции врожденной и адаптивной иммунной системы при патогенной инвазии бронхолегочной системы (рис. 2) [1].

Белки сурфактанта SP-A и SP-D связывают и опсонизируют вирусы, бактерии, червей и аллергены (включая пыльцу и наночастицы) [14]. Они усиливают микробный фагоцитоз врожденными иммунными клетками, такими как макрофаги и нейтрофилы, опсонизируя и агрегируя бактерии и вирусы, действуя в качестве лиганда активации и регулируя экспрессию поверхностных рецепторов иммунных клеток, ответственных за распознавание патогена [1].

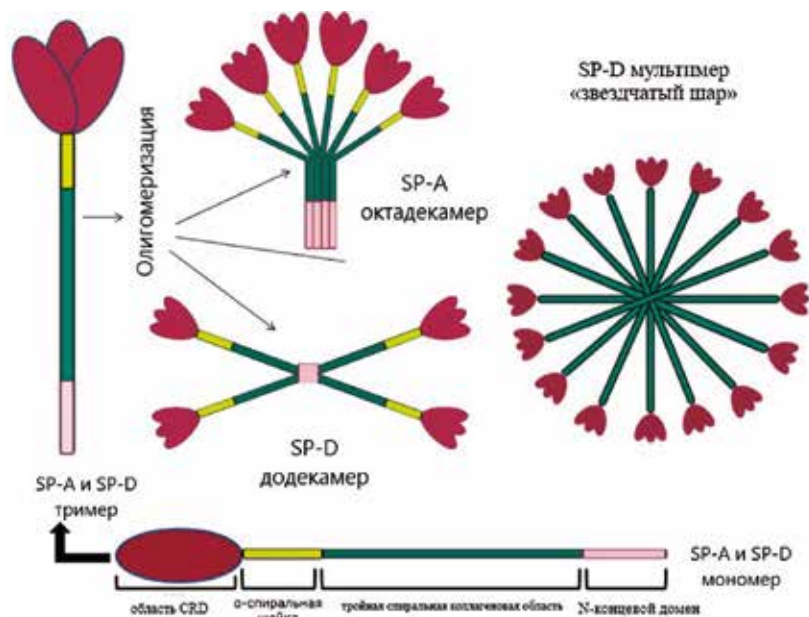


Рис. 1. Структура белков сурфактанта SP-A и SP-D (адаптировано из [2])

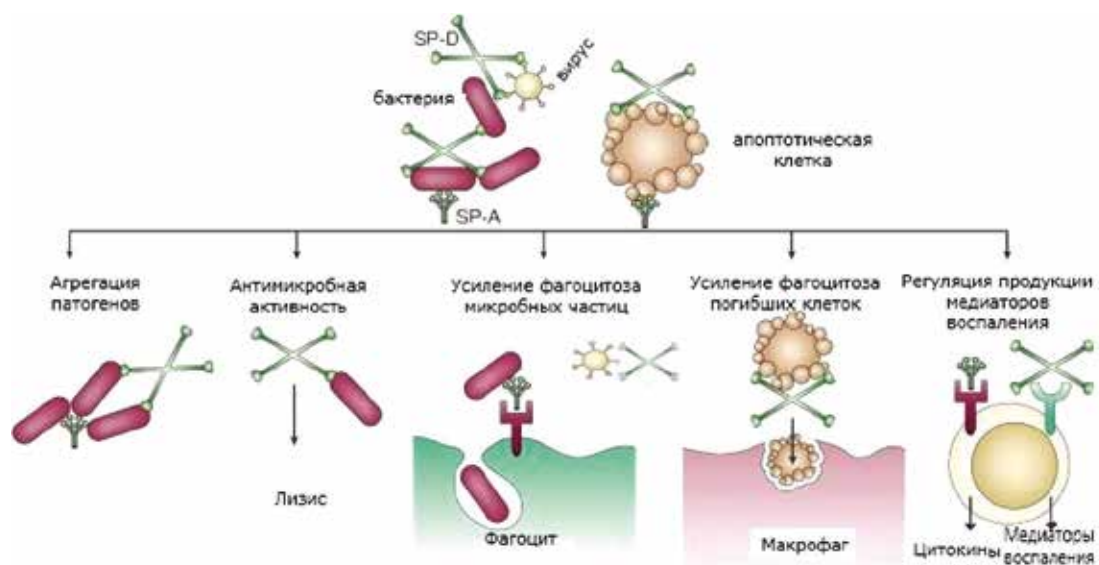


Рис. 2. Иммунные функции белков сурфактанта SP-A и SP-D (адаптировано из [1])

Оба белка обладают прямой бактерицидной активностью против бактерий и грибов [15]. Кроме того, SP-A и SP-D также способствуют поглощению апоптотических клеток врожденными иммунными клетками и регулируют выработку цитокинов и свободных радикалов контекстно-зависимым образом. Например, SP-A ингибирует продукцию липополисахарид-стимулированного оксида азота (NO) альвеолярными макрофагами, выделенными из нормальных легких, но способствует выработке NO в макрофагах, активированных $\text{IFN}\gamma$ [14, 15].

SP-A и SP-D связывают врожденный и адаптивный иммунитет для регуляции защиты при патогенной инвазии бронхолегочной системы. Несмотря на то что и SP-A, и SP-D могут связываться непосредственно с Т-клетками и ингибировать пролиферацию, также SP-A может косвенно ингибировать пролиферацию Т-клеток через подавление созревания дендритных клеток (ДК) [15]. Было показано, что SP-D усиливает поглощение и презентацию антигена [1, 14]. Результаты *in vitro* показывают, что комбинированная роль SP-A и SP-D заключается в

модуляции иммунологической среды легких таким образом, чтобы защитить хозяина, но при этом предотвратить чрезмерную воспалительную реакцию, которая потенциально может повредить альвеоларно-капиллярную мембрану и нарушить газообмен, как в случае гипериндукции провоспалительных цитокинов при развитии цитокинового шторма в ответ на патогенную инвазию SARS-CoV-2 [16].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЖДУ БЕЛКАМИ СУРФАКТАНТА SP-A И SP-D И ВИРУСАМИ

Далее будут рассмотрены способы специфического взаимодействия белков сурфактанта SP-A и SP-D с различными вирусными частицами и более подробно взаимодействие белков с коронавирусами. В настоящее время активно изучается связь белков сурфактанта с тримеризованными и гликозилированными белками на поверхности вирусных капсидов, таких как SARS-CoV, SARS-CoV-2, респираторно-синцитиальный вирус (PCV), вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и вирус гриппа А. Существует предположение, что сурфактантные белки SP-A и SP-D совместно эволюционировали с этими вирусами для нейтрализации их через связывание с гликозилированными белками вирусного прикрепления, делая невозможным связывание с клеткой-хозяином [14].

Это взаимодействие также усиливает их агрегацию, опсонизацию и клиренс фагоцитами. Многие вирусы в оболочке экспрессируют белки слияния типа I, в частности, SARS-CoV-2 имеет спайковый белок (S) или S-белок [17], гомотримерный белок слияния F-типа у парамиксовирусов и другие белки слияния 1-го класса у вирусов гриппа, вируса Эбола, ВИЧ и др. [1, 14]. Белки слияния гриппа А (influenza A virus, IAV) и респираторно-синцитиального вируса (respiratory syncytial virus, RSV) представлены примером с тремя копиями одного белка [18]. Белок оболочки слияния ВИЧ состоит из двух нековалентно ассоциированных гликопротеинов (120 и 41 кДа) – gp120 и gp41 соответственно [19]. Обсуждаемые белки слияния имеют тримерную конфигурацию, аналогичную тримерной структуре SP-A и SP-D, что позволяет предположить совместное эволюционирование для обеспечения избирательного связывания с этими вирусными поверхностными молекулами [14]. Данная конфигурация сурфактантных белков SP-A и SP-D позволяет напрямую связываться с белками слияния вирусов для их нейтрализации, и в последующем за счет нескольких сайтов связывания на молекулу происходит дальнейшая агрегация и элиминация вируса.

Вирусы гриппа А ежегодно вызывают инфекции дыхательных путей с высоким уровнем распространенности и в ряде случаев сопровождаются избыточной смертностью [20]. Взаимодействие белков сурфактанта SP-A и SP-D с вирусами гриппа достаточно широко изучено. Белок SP-D связывается с высокоманнозными олигосахаридами в непосредственной близости от сайтов связывания сиаловой кислоты гемагглютинина гриппа, что нейтрализует его пространственно, ингибируя его прикрепление к клеткам-хозяевам [21]. Напротив, вирус гриппа А связывается с сиалированным остатком аспарагина 187 белка SP-A кальций-независимым образом, что делает невозможным связывание вируса гриппа с сиалированными рецепторами [22, 23]. Также подтверждено, что белок SP-A через остатки сиаловой кислоты в качестве опсонина принимает участие в фагоцитозе вируса гриппа А альвеоларными макрофагами [23]. Инфекция гриппа А может нарушать развитие респираторного взрыва нейтрофилов в ответ на вирусную инфекцию, что приводит к дегрануляции и внутриклеточному уничтожению бактерий фагоцитарными клетками, тем самым повышая восприимчивость человека к бактериальным суперинфекциям, и является важной причиной смертности во время эпидемий сезонного гриппа [2]. Белок сурфактанта SP-D значительно потенцирует реакцию респираторного взрыва нейтрофилов в ответ на вирус гриппа А *in vitro*, таким образом демонстрируя провоспалительный ответ [24].

Инфекции PCV являются основной причиной инфекций нижних дыхательных путей у новорожденных и детей [25]. PCV – ведущая причина бронхолита и госпитализации младенцев в развитых странах [26]. Показано, что генетические полиморфизмы генов SP-A и SP-D ассоциируются с восприимчивостью к тяжелой PCV-инфекции, что подчеркивает их важность в иммунном ответе [27]. В эксперименте было продемонстрировано, что мыши SP-A^{-/-} и SP-D^{-/-} имеют как сниженную способность к клиренсу PCV, так и повышенную воспалительную реакцию в легких [28]. В настоящее время полностью не изучен механизм взаимодействия белков сурфактанта SP-A и SP-D и PCV. PCV имеет два основных поверхностных гликопротеина, белок G, который важен для прикрепления вируса к клетке-хозяину, и белок F, тримерный белок слияния типа I, важный для слияния вируса с мембраной клетки-хозяина.

В одном исследовании было показано, что SP-A *in vitro* связывается с белком слияния F PCV, но не связан с белком G [29]. Однако другое исследование показало, что SP-A связывается с PCV через белок G кальций-зависимым образом, нейтрализуя вирус и

повышая клиренс *in vivo* [30]. В эксперименте продемонстрировано, что рекомбинантный тримерный фрагмент близкородственной молекулы (белок сурфактанта SP-D) сохраняет многие функции нативного белка, а важность олигомерной структуры SP-A в его взаимодействии с PCV не определена [26]. Таким образом, механизм, посредством которого SP-A и SP-D связываются с PCV, остается неясным и требует дальнейшего изучения. Однако, учитывая эффективность в экспериментах как rfhSP-A, так и rfhSP-D в нейтрализации PCV, представляется вероятным, что нейтрализация вируса происходит через связывание белков SP-A и SP-D с белком слияния PCV, который также является тримерным белком со спиральной конформацией [31].

Вирус иммунодефицита человека является одной из самых серьезных проблем общественного здравоохранения в мире [32]. Гликопротеин ВИЧ (gp)120 необходим для проникновения вируса в клетки и является основной мишенью для связывания ВИЧ различными лектинами типа C [33]. В настоящее время продемонстрирована способность белков сурфактанта SP-A и SP-D связывать тримеризованный gp120 [34, 35]. Связывание SP-A ингибирует соединение CD4 с помощью gp120, подчеркивая потенциальную роль SP-A в нейтрализации ВИЧ путем блокирования CD4-опосредованного слияния [35]. Ассоциация SP-D с gp120 предотвращает взаимодействие DC-SIGN (мембранный белок, C-лектиновый рецептор макрофагов и дендритных клеток), что также было показано в некоторой степени для SP-A [34, 36]. Однако в эксперименте белки сурфактанта SP-A и SP-D не препятствовали связыванию циановирина с gp120, что вероятно подтверждает соединение SP-A и SP-D с gp120 по типу DC-SIGN-gp120, где ни один высокоманнозный N-связанный сайт гликозилирования не отвечает за слияние DC-SIGN [34]. Это контрастирует с циановирином, который нейтрализуется путем нацеливания на определенный набор N-связанных гликозилирований [34, 35]. Также важно, что SP-D связывает gp 41, который необходим для образования тримера gp 120 и помогает в слиянии вирусной мембраны с клеточной мембраной [37].

Поскольку как SP-A, так и SP-D были идентифицированы в женских мочеполовых путях, связывание этих белков с gp 120 может быть важным при ВИЧ-инфекции (как первичный очаг инфекции) и в легких (как общий резервуар ВИЧ-инфекции) [38, 39]. Было продемонстрировано, что это связывание нейтрализует ВИЧ и предотвращает прямую инфекцию CD4+ Т-клеточной линии PM1. Однако SP-A и SP-D усиливали инфицирование незрелых моноци-

тарных DCs и перенос на CD4+ Т-клеточную линию при совместной культуре [34, 35]. Механизм, с помощью которого коллектины усиливают этот перенос, в настоящее время не ясен. Дальнейшая работа по изучению взаимодействия SP-A и SP-D с ВИЧ имеет важное значение для выяснения роли этих белков в ВИЧ-инфекции. В ряде работ высказывается предположение, что функциональные рекомбинантные фрагменты сурфактантных белков SP-A и SP-D могут обладать терапевтическим потенциалом для предотвращения инфицирования и распространения ВИЧ [37, 40].

РОЛЬ БЕЛКОВ СУРФАКТАНТА SP-A И SP-D ПРИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

До появления в 2003 г. коронавируса тяжелого острого респираторного синдрома (severe acute respiratory syndrome, SARS (SARS-CoV)) было известно около 10 коронавирусов животных и человека. Вскоре последовало открытие вируса SARS-CoV циветты и летучей мыши, а также коронавирусов человека NL63 и HKU1, и к настоящему времени известно около 40 представителей семейства [41]. Внезапная первая эпидемия атипичной пневмонии (коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS (MERS-CoV) 2012 г.)), ее высокая смертность, скоротечное возобновление через год и экономические потери, а также последующая вспышка ближневосточного респираторного синдрома привели к активному исследованию эпидемиологических, клинических, патологических, иммунологических, вирусологических и других фундаментальных научных аспектов группы коронавирусов. После вспышки атипичной пневмонии SARS и MERS в настоящее время мировая пандемия другого вирусного заболевания под названием COVID-19, вызванного бета-коронавирусом SARS-CoV-2 [42]. С учетом данных на сегодняшний день, COVID-19 не очень отличается от SARS по своим клиническим особенностям. Однако он имеет коэффициент смертности 2,3%, что ниже, чем у SARS (9,5%), и намного ниже, чем у MERS (34,4%). Однако COVID-19 может распространяться в сообществе значительно легче, чем MERS и SARS [43].

MERS-CoV, SARS-CoV-2 и SARS-CoV являются РНК-вирусами, последние два содержат самые большие геномы из всех РНК-вирусов [44, 45]. Геномная РНК SARS-CoV-2 имеет размер 26,4–31,7 кб [44], возможно, самый большой среди всех известных РНК-вирусов [46]. Геном SARS-CoV-2 более чем на 85% схож с геномом SARS-схожего вируса ZC45 (bat-SL-CoVZC45, MG772933.1), и вместе эти

типы вирусов образуют уникальное подсемейство *Orthocoronavirinae* с другим SARS-подобным вирусом ZXC21 в подроде *Sarbecovirus*.

SARS-CoV-2 обладает геномной структурой, характерной для других бета-коронавирусов. Как и другие коронавирусы, его геном содержит 14 открытых рамок считывания (ORF), кодирующих 27 белков. *ORF1* и *ORF2* в 5'-концевой области генома кодируют 15 неструктурных белков, важных для репликации вируса [47, 48]. 3'-концевая область генома кодирует структурные белки, а именно спайковый белок (S), оболочечный белок (E), мембранный белок (M) и нуклеокапсид (N), а также восемь вспомогательных белков [48]. Вирус SARS-CoV и SARS-CoV-2 имеют отличия в спайковом белке (S) – фуриноподобный участок расщепления в SARS-CoV-2 облегчает праймирование спайкового белка (S) и может повысить эффективность распространения SARS-CoV-2 по сравнению с другими бета-коронавирусами [49]. Спайковый белок (S) относится к белкам слияния вирусов I класса и является тримеризованным.

Проведенные исследования показали, что большинство белков SARS-CoV-2 высоко гомологичны (95–100%) белкам вируса SARS-CoV, что указывает на эволюционное сходство между ними. Однако два белка (*orf8* и *orf10*) в SARS-CoV-2 не имеют гомологичных белков [50]. Белок *orf8* SARS-CoV-2 не содержит известного функционального домена, который запускает внутриклеточные пути стресса и активирует NOD-подобные рецепторы NLRP3 инфламмасом [51]. Поэтому клинически значим последующий анализ биологической функции этих двух специфических белков (*orf8* и *orf10*) при SARS-CoV-2.

Патогенные коронавирусы SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 используют рецептор ACE2 для доступа, заражения и разрушения выстилки альвеол и продуцирующих белки сурфактанта пневмоцитов II типа [8]. В целом патологические особенности COVID-19 во многом напоминают те, которые наблюдаются при SARS и MERS [52]. Биопсия и посмертные образцы при COVID-19 выявляют диффузное повреждение альвеол, утечку белка, воспаление в стенках альвеол и десквамацию пневмоцитов II типа, что характерно для острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) [53]. При ОРДС наблюдается нарушение активности белков сурфактанта легких и изменение его состава [54].

При COVID-19 истощение сурфактанта также может происходить через индуцированный вирусом лизис пневмоцитов II типа с ассоциированным образованием гиалиновой мембраны [53]. Патологические данные у этих тяжелобольных взрослых

напоминают «первичный дефицит сурфактанта» у недоношенных детей с ОРДС, в терапии которого успешно используются препараты экзогенного сурфактанта [55]. С учетом вышесказанного, на сегодняшний день уже существует ряд исследований о применении экзогенного легочного сурфактанта при ОРДС, связанном с SARS-CoV-2 [56]. Данные исследования подтверждают активное участие белков сурфактанта в патогенезе COVID-ассоциированного тяжелого поражения легких, а также дает возможность рассмотреть использование рекомбинантных молекул белков сурфактанта в качестве терапии.

Но в настоящее время единичны исследования о конкретных механизмах взаимодействия белков сурфактанта SP-A, SP-D и SARS-CoV-2. Далее более подробно рассмотрим строение спайкового белка (S) слияния SARS-CoV и SARS-CoV-2 для анализа возможных взаимодействий с белками сурфактанта, так как именно с этим тримеризованным белком происходит вероятное связывание SP-A и SP-D для вирусной нейтрализации и последующей агрегации и элиминации вируса. Несмотря на то, что слияние белков SARS-CoV и SARS-CoV-2 структурно не является идентичным, слияние субъединиц в конечном счете складывается именно в тримерные структуры, в которых три С-концевые области упаковываются снаружи центрального N-концевого тримерного ядра [57].

Спайковый белок (S) SARS-CoV-2 имеет две функциональные субъединицы, опосредующие проникновение коронавируса [58]. Субъединица S1 отвечает за связывание с рецепторами клеток-хозяев через рецептор-связывающий домен [59]. Связывание с рецептором обеспечивает конформационные изменения в субъединице S2, что позволяет слитному пептиду проникать в мембрану клетки-хозяина [57]. HR1 или область гептада 1, расположенная в субъединице S2, образует гомотримерную ориентацию, которая открывает три высококонсервативные гидрофобные канавки на внешней поверхности области, которые позволяют ассоциироваться с гептадным повтором 2 (HR2). Далее в процессе слияния формируется структура с шестью спиралями (6 НВ), что помогает приближать вирусные и клеточные мембраны для слияния вирусов и проникновения в клетки-мишени с использованием рецептора ACE2 [8].

Именно тримерная структура 6 НВ характеризует белки слияния класса I, с которыми, как известно, взаимодействует белок сурфактанта SP-D. Для белка SP-D продемонстрирована такая связь с рекомбинантными тримерными белками SARS-CoV, причем связывание является кальций-зависимым и ингибируется мальтозой, проявляя характеристики класси-

ческого лектин-углеводного взаимодействия типа С [5]. При этом в эксперименте сывороточный кол-лектин, маннан-связывающий лектин (MBL) не проявляли обнаруживаемого связывания с очищенным S-белком SARS-CoV. Примечательно, что существуют лигандные различия между коллектинами, и это взаимодействие специфично именно для SP-D [14].

Y.P. Wu и соавт. (2009) продемонстрировали, что мониторинг системного уровня SP-D информативен для мониторинга целостности альвеол при пневмонии SARS, а также выявлена значимая корреляция между уровнем плазмы SP-D и специфическими антителами к SARS-CoV, что еще раз подтверждает роль SP-D во взаимосвязи врожденных и адаптивных иммунных путей при патогенной инвазии бронхолегочной системы [60]. С учетом высокой гомологии спайкового белка (S) SARS-CoV с SARS-CoV-2 (76,42%, по данным J. Xu и соавт., 2020), возможно предположить аналогичный классический лектин-углеводный механизм связывания с участием кальция и мультимеризацией полноразмерного белка для облегчения элиминации вируса [17].

В данном контексте актуально исследование М.Н. Hsieh и соавт. (2021), которое было направлено на изучение вероятной защитной роли rfhSP-D (recombinant fragment of human SP-D, рекомбинантный фрагмент человеческого SP-D) против инфекции SARS-CoV-2. Было продемонстрировано дозозависимое связывание rfhSP-D с S1-спайковым белком SARS-CoV-2 и его RBD [61].

Важно отметить, что в исследовании rfhSP-D ингибировал взаимодействие белка S1 с культурой клеток, сверхэкспрессирующих человеческий рецептор ACE2. Защитная роль rfhSP-D против инфекции SARS-CoV-2 в качестве ингибитора проникновения была дополнительно подтверждена использованием псевдотипированных лентивирусных частиц, экспрессирующих белок S1 SARS-CoV-2 [61]. Очевидно, что белок сурфактанта SP-D играет одну из ключевых ролей в ответе на патогенную инвазию коронавирусной этиологии. С учетом вышесказанного, к настоящему времени уже появились единичные исследования о потенциальной роли SP-D в качестве маркера прогнозирования исхода и возможности терапии COVID-19 [62].

Что касается белка сурфактанта SP-A, считается, что его вируснейтрализующая активность ниже чем у SP-D, тем не менее белок, как уже говорилось, играет важную роль во врожденном иммунном ответе на различные вирусы [63]. В настоящее время представлены лишь единичные исследования, посвященные типу взаимодействия SP-A с группой коронавирусов. Например, C.J. Funk и соавт. (2012)

продемонстрировали, что и SP-A, и SP-D связываются со штаммом коронавируса HCoV-229E и ингибируют вирусную инфекцию клеток бронхиального эпителия человека (16HBE) [64]. Можно предположить, что взаимодействие белка сурфактанта SP-A с SARS-CoV-2 происходит также посредством прямого взаимодействия между лектиновым доменом и молекулой гликозилированного белка на поверхности вируса. Для белка SP-A показано множество прямых взаимодействий с тримеризованными белками, в том числе белками слияния I типа. Например, отмечено, что SP-A связывается с вирусом простого герпеса [65], который также имеет тримеризованные поверхностные белки, аналогичные белкам вируса гриппа и РСВ, обсуждаемых выше. Взаимодействие между SP-A и SARS-CoV-2 не изучалось, но оно, вероятно, зависит и от статуса гликозилирования самого белка SP-A, и от функциональных вариантов SP-A1 и SP-A2 у человека.

Значительный объем имеющихся данных показывает, что вероятно врожденные иммунные белки SP-A1 и SP-A2 играют, по крайней мере, косвенную роль в COVID-19-инфекции. Так, функциональные особенности SP-A1 и SP-A2 влияют на восприимчивость к сопутствующим инфекциям при COVID-19, наличие или отсутствие тяжелых осложнений COVID-19 у пациентов с одним и более не-SARS-CoV-2 патогенов [66]. Было отмечено, что около 26% пациентов с COVID-19 инфицированы другими патогенами, одним из наиболее распространенных патогенов был РСВ. Показано, что именно SP-A повышает клиренс РСВ, а функциональный тримерный фрагмент SP-A обладает высокой эффективностью в снижении именно РСВ-инфекции [26]. Крайне важно также то, что продемонстрирована ассоциация генетических вариантов SP-A с развитием ОРДС [27].

Как известно, варианты SP-A дифференцированно влияют на регуляцию и функцию макрофагов, что крайне важно в свете развития у пациентов с COVID-19 гиперергического иммунного ответа, свидетельствующего об активации макрофагов. Так, в исследовании М.М. Roschewski и соавт. (2020) выдвинули гипотезу о вовлечении врожденного иммунитета и активации воспалительных процессов в макрофагах в патогенезе COVID-19 по причине гиперергического воспаления, которое имеет общие характеристики с синдромом активации макрофагов [16]. Вполне вероятно, что величина воспалительного ответа будет варьировать в зависимости от генотипа SP-A, который, как было показано, по-разному влияет на ряд процессов в альвеоле, альвеолярном макрофаге и эпителиальных клетках [66].

Таким образом, белки сурфактанта SP-A и SP-D, имея тримерную структуру, достигают высокой аффинности к лиганду с повторяющейся поверхностной структурой, что является преимуществом для связывания с вирусными белками. Также эти белки обладают широкой селективностью, позволяющей им распознавать множество быстро изменяющихся патогенов, в частности структурно сходные тримерные вирусные белки слияния, в том числе спайковый белок (S) коронавируса. Это предотвращает их прикрепление к клетке-хозяину, нейтрализует вирус и усиливает его клиренс из организма, одновременно модулируя адаптивную иммунную систему. В настоящее время очевидна ведущая роль белков сурфактанта SP-A и SP-D не только в иммунном ответе бронхолегочной системы, но и всего организма в целом в ответ на патогенную (в частности, вирусную) инвазию.

Учитывая сказанное выше, очевидна одна из ключевых ролей белков сурфактанта SP-A и SP-D в патогенезе коронавирусной инвазии, что с учетом бремени пандемии COVID-19 формирует весомые предпосылки для детального изучения взаимодействия данных белков с SARS-CoV-2 и анализа системной роли SP-A и SP-D.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ СУРФАКТАНТА SP-A И SP-D ПРИ COVID-19

Обращаем внимание на ряд ключевых моментов, по которым обосновано более глубокое и детальное изучение роли белков сурфактанта SP-A и SP-D в патогенезе COVID-19. Во-первых, белки сурфактанта SP-A и SP-D, имея высокую аффинность к лиганду, взаимодействуют со спайковым белком (S) коронавируса при первичном контакте с патогеном. Во-вторых, именно при патогенной инвазии SARS-CoV-2 через рецептор ACE2 происходит заражение и разрушение пневмоцитов II типа, продуцирующих белки сурфактанта, что отражается на синтезе, секреции и функции белков SP-A и SP-D. В-третьих, уникальная комбинированная роль SP-A и SP-D в модуляции каскада иммунологических реакций состоит в том, чтобы несмотря на активную защиту, предотвратить чрезмерную воспалительную реакцию, которая потенциально может повредить альвеоларно-капиллярную мембрану и нарушить газообмен, как в случае гипериндукции провоспалительных цитокинов при новой коронавирусной инфекции. Роль SP-A и SP-D в поддержании легкого в гипореактивном состоянии является ключевой, поскольку aberrантное воспаление может быстро повлиять на жизненно важный газообмен легких через тонкую альвеоларно-капиллярную мембрану.

В-четвертых, белки SP-A и SP-D принимают участие в развитии тяжелых жизнеугрожающих осложнений, которые сопровождаются нарушением проницаемости альвеоларно-капиллярной мембраны.

Важно оценить диагностический и прогностический потенциал SP-A и SP-D при коронавирусной инфекции. В настоящее время в качестве диагностических и прогностических маркеров белки сурфактанта SP-A и SP-D используются при многих острых заболеваниях бронхолегочной системы, таких как внебольничная пневмония [4, 9, 11, 14], ОРДС [9, 54–56], муковисцидоз [4, 36] и легочный интерстициальный фиброз [1, 4, 36], рак легкого [1, 9]. Кроме того, они играют важную роль в модуляции хронических заболеваний легких и (или) бронхолегочной дисплазии [1, 4, 9]. Интересно, что за последнее десятилетие внелегочная системная функция этих белков активно изучается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из наиболее перспективных направлений является оценка терапевтического потенциала рекомбинантных молекул SP-A и SP-D в противовоспалительной терапии различных заболеваний, особенно инфекционной природы [14]. Перспективно разработать формы рекомбинантного SP-D с изменением домена шейки-CRD с повышенным сродством к SARS-CoV-2, как это уже было выполнено для молекулы мутантного тримерного SP-D с повышенной аффинностью к вирусу гриппа А [67]. Таким образом, существует потенциал для разработки различных форм рекомбинантных фрагментов белков сурфактанта SP-A и SP-D в терапии COVID-19.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wright J.R. Immunoregulatory functions of surfactant proteins. *Nat. Rev. Immunol.* 2005;5(1):58–68. DOI: 10.1038/nri1528.
2. Yasmin H., Kishore U. Biological activities of SP-A and SP-D against extracellular and intracellular pathogens. The collectin protein family and its multiple biological activities. Ed. Kishore U., Madan T., Sim R.B. *Cham, Springer.* 2021:103–133. DOI: 10.1007/978-3-030-67048-1_5.
3. Chroneos Z.C., Sever-Chroneos Z., Shepherd V.L. Pulmonary surfactant: An immunological perspective. *Cell Physiol. Biochem.* 2010;25(1):13–26. DOI: 10.1159/000272047.
4. Watson A., Madsen J., Clark H.W. SP-A and SP-D: Dual functioning immune molecules with antiviral and immunomodulatory properties. *Front. Immunol.* 2021;11:622598. DOI: 10.3389/fimmu.2020.622598.
5. Leth-Larsen R., Zhong F., Chow V.T.K., Holmskov U., Lu J. The SARS coronavirus spike glycoprotein is selectively recognized by lung surfactant protein D and activates macrophages. *Immunobiology.* 2007;212(3):201–211. DOI: 10.1016/j.imbio.2006.12.001.

6. Takano H. Pulmonary surfactant itself must be a strong defender against SARS-CoV-2. *Med. Hypotheses*. 2020;144:110020. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.110020.
7. Ghata A., Dam P., Tasdemir D., Kati A., Sellami H., Sezgin G.C., et al. Exogenous pulmonary surfactant: A review focused on adjunctive therapy for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 including SP-A and SP-D as added clinical marker. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2021;51:101413. DOI: 10.1016/j.cocis.2020.101413.
8. Mason R.J. Pathogenesis of COVID-19 from a cell biology perspective. *Eur. Respir. J.* 2020;55(4):2000607. DOI: 10.1183/13993003.00607-2020.
9. Han S., Mallampalli R.K. The role of surfactant in lung disease and host defense against pulmonary infections. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015;12(5):765–774. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201411-507FR.
10. Schürch D., Ospina O.L., Cruz A., Pérez-Gil J. Combined and independent action of proteins SP-B and SP-C in the surface behavior and mechanical stability of pulmonary surfactant films. *Biophys. J.* 2010;99(10):3290–3299. DOI: 10.1016/j.bpj.2010.09.039.
11. Sano H., Kuroki Y. The lung collectins, SP-A and SP-D, modulate pulmonary innate immunity. *Mol. Immunol.* 2005;42(3):279–287. DOI: 10.1016/j.molimm.2004.07.014.
12. Nayak A., Dodagatta-Marri E., Tsolaki A.G., Kishore U. An insight into the diverse roles of surfactant proteins, SP-A and SP-D in innate and adaptive immunity. *Front. Immunol.* 2012;3:131. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00131.
13. McCormick S.M., Boggaram V., Mendelson C.R. Characterization of mRNA transcripts and organization of human SP-A1 and SP-A2 genes. *Am. J. Physiol.* 1994;266(Pt1):L354–366. DOI: 10.1152/ajplung.1994.266.4.L354.
14. Watson A., Phipps M.J.S., Clark H.W., Skylaris C.-K., Madsen J. Surfactant proteins A and D: Trimerized innate immunity proteins with an affinity for viral fusion proteins. *J. Innate Immun.* 2019;11(1):13–28. DOI: 10.1159/000492974.
15. Pastva A.M., Wright J.R., Williams K.L. Immunomodulatory roles of surfactant proteins A and D: Implications in lung disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 2007;4(3):252–257. DOI: 10.1513/pats.200701-018AW.
16. Roschewski M., Lionakis M.S., Sharman J.P., Roswarski J., Goy A., Monticelli M.A. et al. Inhibition of Bruton tyrosine kinase in patients with severe COVID-19. *Sci. Immunol.* 2020;5(48):eabd0110. DOI: 10.1126/sciimmunol.abd0110.
17. Xu J., Zhao S., Teng T., Abdalla A.E., Zhu W., Xie L. et al. Systematic comparison of two animal-to-human transmitted human coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Viruses*. 2020;12(2):244. DOI: 10.3390/v12020244.
18. Laporte M., Naesens L. Airway proteases: An emerging drug target for influenza and other respiratory virus infections. *Curr. Opin. Virol.* 2017;24:16–24. DOI: 10.1016/j.coviro.2017.03.018.
19. Cai L., Gochin M., Liu K. Biochemistry and biophysics of HIV-1 gp41 – membrane interactions and implications for HIV-1 envelope protein mediated viral-cell fusion and fusion inhibitor design. *Curr. Top. Med. Chem.* 2011;11(24):2959–2984. DOI: 10.2174/156802611798808497.
20. Hartshorn K.L., Crouch E.C., White M.R., Eggleton P., Tauber A.I., Chang D. et al. Evidence for a protective role of pulmonary surfactant protein D (SP-D) against influenza A viruses. *J. Clin. Invest.* 1994;94(1):311–319. DOI: 10.1172/JCI117323.
21. Hartshorn K.L., Webby R., White M.R., Tecle T., Pan C., Boucher S. et al. Role of viral hemagglutinin glycosylation in anti-influenza activities of recombinant surfactant protein D. *Respir. Res.* 2008;9(1):65. DOI: 10.1186/1465-9921-9-65.
22. LeVine A.M., Hartshorn K., Elliott J., Whitsett J., Korfhagen T. Absence of SP-A modulates innate and adaptive defense responses to pulmonary influenza infection. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2002;282(3):L563–72. DOI: 10.1152/ajplung.00280.2001.
23. Benne C.A., Benaissa-Trouw B., van Strijp J.A., Kraaijeveld C.A., van Iwaarden J.F. Surfactant protein A, but not surfactant protein D, is an opsonin for influenza A virus phagocytosis by rat alveolar macrophages. *Eur. J. Immunol.* 1997;27(4):886–890. DOI: 10.1002/eji.1830270413.
24. White M.R., Crouch E., Vesona J., Tacke P.J., Batenburg J.J., Leth-Larsen R. et al. Respiratory innate immune proteins differentially modulate the neutrophil respiratory burst response to influenza A virus. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2005;289(4):L606–616. DOI: 10.1152/ajplung.00130.2005.
25. Griese M. Respiratory syncytial virus and pulmonary surfactant. *Viral Immunol.* 2002;15(2):357–363. DOI: 10.1089/08828240260066279.
26. Watson A., Kronqvist N., Spalluto C.M., Griffiths M., Staples K.J., Wilkinson T. et al. Novel expression of a functional trimeric fragment of human SP-A with efficacy in neutralisation of RSV. *Immunobiology*. 2017;222(2):111–118. DOI: 10.1016/j.imbio.2016.10.015.
27. Thomas N.J., DiAngelo S., Hess J.C., Fan R., Ball M.W., Geskey J.M. et al. Transmission of surfactant protein variants and haplotypes in children hospitalized with respiratory syncytial virus. *Pediatr. Res.* 2009;66(1):70–73. DOI: 10.1203/pdr.0b013e3181a1d768.
28. LeVine A.M., Elliott J., Whitsett J.A., Srikiatkachorn A., Crouch E., DeSilva N. et al. Surfactant protein-d enhances phagocytosis and pulmonary clearance of respiratory syncytial virus. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2004;31(2):193–199. DOI: 10.1165/rcmb.2003-0107oc.
29. Ghildyal R., Hartley C., Varrasso A., Meanger J., Voelker D.R., Anders E.M. et al. Surfactant protein A binds to the fusion glycoprotein of respiratory syncytial virus and neutralizes virion infectivity. *J. Infect. Dis.* 1999;180(6):2009–2013. DOI: 10.1086/315134.
30. Hickling T.P., Malhotra R., Bright H., McDowell W., Blair E.D., Sim R.B. Lung surfactant protein A provides a route of entry for respiratory syncytial virus into host cells. *Viral Immunol.* 2000;13(1):125–135. DOI: 10.1089/vim.2000.13.125.
31. McLellan J.S., Yang Y., Graham B.S., Kwong P.D. Structure of respiratory syncytial virus fusion glycoprotein in the postfusion conformation reveals preservation of neutralizing epitopes. *J. Virol.* 2011;85(15):7788–7796. DOI: 10.1128/JVI.00555-11.
32. Global Statistics. The Global HIV/AIDS Epidemic. 2021. URL: <https://www.hiv.gov/hiv-basics/overview/data-and-trends/global-statistics> (Available: 02.06.2022).
33. Hong P.W., Flummerfelt K.B., de Parseval A., Gurney K., Elder J.H., Lee B. Human immunodeficiency virus envelope

- (gp120) binding to DC-SIGN and primary dendritic cells is carbohydrate dependent but does not involve 2G12 or cyanovirin binding sites: Implications for structural analyses of gp120-DC-SIGN binding. *J. Virol.* 2002;76(24):12855–12865. DOI: 10.1128/jvi.76.24.12855-12865.2002.
34. Madsen J., Gaiha G.D., Palaniyar N., Dong T., Mitchell D.A., Clark H.W. Surfactant protein D modulates HIV infection of both T-cells and dendritic cells. *PLoS One.* 2013;8(3):e59047. DOI: 10.1371/journal.pone.0059047.
 35. Gaiha G.D., Dong T., Palaniyar N., Mitchell D.A., Reid K.B., Clark H.W. Surfactant protein A binds to HIV and inhibits direct infection of CD4⁺ cells, but enhances dendritic cell-mediated viral transfer. *J. Immunol.* 2008;181(1):601–609. DOI: 10.4049/jimmunol.181.1.601.
 36. Kishore U., Bulla R., Madan T. Editorial: Odyssey of surfactant proteins SP-A and SP-D: Innate immune surveillance molecules. *Front. Immunol.* 2020;11:394. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00394.
 37. Pandit H., Gopal S., Sonawani A., Yadav A.K., Qaseem A.S., Warke H. et al. Surfactant protein D inhibits HIV-1 infection of target cells via interference with gp120-CD4 interaction and modulates pro-inflammatory cytokine production. *PLoS One.* 2014;9(7):e102395. DOI: 10.1371/journal.pone.0102395.
 38. Clarke J.R., Taylor I.K., Fleming J., Nukuna A., Williamson J.D., Mitchell D.M. The epidemiology of HIV-1 infection of the lung in AIDS patients. *AIDS.* 1993;7(4):555–560. DOI: 10.1097/00002030-199304000-00015.
 39. Chun T.W., Carruth L., Finzi D., Shen X., DiGiuseppe J.A., Taylor H. et al. Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature.* 1997;387(6629):183–188. DOI: 10.1038/387183a0.
 40. Meschi J., Crouch E.C., Skolnik P., Yahya K., Holmskov U., Leth-Larsen R. et al. Surfactant protein D binds to human immunodeficiency virus (HIV) envelope protein gp120 and inhibits HIV replication. *J. Gen. Virol.* 2005;86(Pt11):3097–3107. DOI: 10.1099/vir.0.80764-0.
 41. Cheng V.C., Lau S.K., Woo P.C., Yuen K.Y. Severe acute respiratory syndrome coronavirus as an agent of emerging and reemerging infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 2007;20(4):660–694. DOI: 10.1128/CMR.00023-07.
 42. Chathappady House N.N., Palissery S., Sebastian H. Coronaviruses: A review on SARS, MERS and COVID-19. *Microbiol. Insights.* 2021;14:11786361211002481. DOI: 10.1177/11786361211002481.
 43. Petrosillo N., Viceconte G., Ergonul O., Ippolito G., Petersen E. COVID-19, SARS and MERS: Are they closely related? *Clin. Microbiol. Infect.* 2020;26(6):729–734. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.03.026.
 44. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lau C.C., Tsang A.K., Lau J.H. et al. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *J. Virol.* 2012;86(7):3995–4008. DOI: 10.1128/JVI.06540-11.
 45. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H. et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020;395(10224):565–574. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
 46. Naqvi A.A.T., Fatima K., Mohammad T. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020;1866(10):165878. DOI: 10.1016/j.bbadis.2020.165878.
 47. Malik Y.S., Sircar S., Bhat S., Sharun K., Dhama K., Dadar M. Emerging novel coronavirus (2019-nCoV) – current scenario, evolutionary perspective based on genome analysis and recent developments. *Vet. Q.* 2020;40(1):68–76. DOI: 10.1080/01652176.2020.1727993.
 48. Wu A., Peng Y., Huang B., Ding X., Wang X., Niu P. Commentary genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell Host Microbe.* 2020;27(3):325–328. DOI: 10.1016/j.chom.2020.02.001.
 49. Rabaan A.A., Al-Ahmed S.H., Haque S., Sah R., Tiwari R., Malik Y.S. et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: A comparative overview. *Infez. Med.* 2020;28(2):174–184. DOI: 10.20944/preprints202004.0075.v1.
 50. Chan J.F.W., Kok K.H., Zhu Z., Chu H., To K.K.W., Yuan S. et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg. Microbes Infect.* 2020;9(1):221–236. DOI: 10.1080/22221751.2020.1719902.
 51. Shi C.S., Nabar N.R., Huang N.N., Kehrl J.H. SARS-coronavirus open reading frame-8b triggers intracellular stress pathways and activates NLRP3 inflammasomes. *Cell Death Discov.* 2019;5:101. DOI: 10.1038/s41420-019-0181-7.
 52. Ng D.L., Al Hosani F., Keating M.K., Gerber S.I., Jones T.L., Metcalfe M.G. et al. Clinicopathologic, immunohistochemical, and ultrastructural findings of a fatal case of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in the United Arab Emirates, April 2014. *Am. J. Pathol.* 2016;186(3):652–658. DOI: 10.1016/j.ajpath.2015.10.024.
 53. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C. et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir. Med.* 2020;8(4):420–422. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
 54. Dushianthan A., Goss V., Cusack R., Grocott M.P., Postle A.D. Altered molecular specificity of surfactant phosphatidylcholine synthesis in patients with acute respiratory distress syndrome. *Respir. Res.* 2014;15(1):128. DOI: 10.1186/s12931-014-0128-8.
 55. Zebialowicz Ahlström J., Massaro F., Mikolka P., Feinstein R., Perchiazzi G., Basabe-Burgos O. et al. Synthetic surfactant with a recombinant surfactant protein C analogue improves lung function and attenuates inflammation in a model of acute respiratory distress syndrome in adult rabbits. *Respir. Res.* 2019;20(1):245. DOI: 10.1186/s12931-019-1220-x.
 56. Cattel F., Giordano S., Bertiond C., Lupia T., Corcione S., Scaldaferrì M. et al. Use of exogenous pulmonary surfactant in acute respiratory distress syndrome (ARDS): Role in SARS-CoV-2-related lung injury. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2021;288:103645. DOI: 10.1016/j.resp.2021.103645.
 57. White J.M., Delos S.E., Brecher M., Schornberg K. Structures and mechanisms of viral membrane fusion proteins: multiple variations on a common theme. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2008;43(3):189–219. DOI: 10.1080/10409230802058320.

58. Walls A.C., Park Y.J., Tortorici M.A., Wall A., McGuire A.T., Veers D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020;181(2):281–292.e6. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.058.
59. Shang J., Wan Y., Luo C. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2020;117(21):11727–11734. DOI: 10.1073/pnas.2003138117.
60. Wu Y.P., Liu Z.H., Wei R. Elevated plasma surfactant protein D (SP-D) levels and a direct correlation with anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus-specific IgG antibody in SARS patients. *Scand. J. Immunol.* 2009;69(6):508–515. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2009.02245.x.
61. Hsieh M.H., Beirag N., Murugaiah V. Human surfactant protein D binds spike protein and acts as an entry inhibitor of SARS-CoV-2 pseudotyped viral particles. *Front. Immunol.* 2021;12:641360. DOI: 10.3389/fimmu.2021.641360.
62. Kerget B., Kerget F., Koçak A.O., Kızıltunç A., Araz Ö., Uçar E.Y. et al. Are serum interleukin 6 and surfactant protein D levels associated with the clinical course of COVID-19? *Lung*. 2020;198(5):777–784. DOI: 10.1007/s00408-020-00393-8.
63. Cañadas O., Olmeda B., Alonso A., Pérez-Gil J. Lipid-protein and protein-protein interactions in the pulmonary surfactant system and their role in lung homeostasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(10):3708. DOI: 10.3390/ijms21103708.
64. Funk C.J., Wang J., Ito Y., Travanty E.A., Voelker D.R., Holmes K.V. et al. Infection of human alveolar macrophages by human coronavirus strain 229E. *J. Gen. Virol.* 2012;93(Pt3):494–503. DOI: 10.1099/vir.0.038414-0.
65. Van Iwaarden J.F., van Strijp J.A., Ebskamp M.J., Welmers A.C., Verhoef J., van Golde L.M. Surfactant protein A is opsonic in phagocytosis of herpes simplex virus type 1 by rat alveolar macrophages. *Am. J. Physiol.* 1991;261(Pt1):L204–209. DOI: 10.1152/ajplung.1991.261.2.L204.
66. Tekos F., Skaperda Z., Goutzourelas N., Phelps D.S., Floros J., Kouretas D. The importance of redox status in the frame of lifestyle approaches and the genetics of the lung innate immune molecules, SP-A1 and SP-A2, on differential outcomes of COVID-19 infection. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(9):784. DOI: 10.3390/antiox9090784.
67. Crouch E., Nikolaidis N., McCormack F.X., McDonald B., Allen K., Rynkiewicz M.J. et al. Mutagenesis of surfactant protein D informed by evolution and x-ray crystallography enhances defenses against influenza A virus *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 2011;286(47):40681–40692. DOI: 10.1074/jbc.M111.300673.

Информация об авторах

Харламова Ольга Сергеевна – мл. науч. сотрудник, лаборатория неотложной терапии, НИИТиПМ – ИЦиГ СО РАН; зав. терапевтическим отделением, (ГКБ № 25), г. Новосибирск, olga.kharlamova2016@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8788-685X>

Николаев Константин Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник с возложением обязанностей зав. лабораторией неотложной терапии, НИИТиПМ – ИЦиГ СО РАН; НГУ, г. Новосибирск, nikolaevky@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4601-6203>

Рагино Юлия Игоревна – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, руководитель НИИТиПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, ragino@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4936-8362>

(✉) Харламова Ольга Сергеевна, olga.kharlamova2016@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.06.2021;
одобрена после рецензирования 27.07.2021;
принята к публикации 05.10.2021

УДК 616-056.257-089:616.98:578.834.1]-039.55-036.83
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-207-211>

Успешное лечение тяжелого течения коронавирусной инфекции у поликоморбидного пациента с ожирением после бариатрической операции

Сюткина И.П.¹, Хабаров Д.В.^{1,2}, Булычев П.В.¹, Демура А.Ю.¹, Инёшина А.Д.²

¹Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН)
 Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

²Новосибирский государственный университет (НГУ)
 Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1

РЕЗЮМЕ

Представлено клиническое наблюдение успешного лечения тяжелого течения полисегментарной пневмонии коронавирусной этиологии, развившейся в послеоперационном периоде бариатрической операции у пациента с морбидным ожирением, сопутствующим сахарным диабетом 2-го типа, ишемической болезнью сердца, гипертонической болезнью, тромбозом мелких ветвей легочной артерии в анамнезе, хронической обструктивной болезнью легких 3-й степени.

Приведенный клинический случай демонстрирует возможность успешного лечения коронавирусной инфекции у поликоморбидного пациента с крайне высоким риском неблагоприятного исхода при условии своевременной диагностики, комплексного лечения с использованием препаратов, блокирующих цитокиновый шторм, и строгого выполнения клинических рекомендаций.

Ключевые слова: морбидное ожирение, коронавирусная инфекция, бариатрическая хирургия, цитокиновый шторм, тоцилизумаб

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Получено письменное согласие пациента. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИКЭЛ – филиалом ИЦиГ СО РАН.

Для цитирования: Сюткина И.П., Хабаров Д.В., Булычев П.В., Демура А.Ю., Инёшина А.Д. Успешное лечение тяжелого течения коронавирусной инфекции у поликоморбидного пациента с ожирением после бариатрической операции. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(2):207–211. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-207-211>.

Successful treatment of a severe course of coronavirus infection in the obese polymorbid patient after bariatric surgery

Siutkina I.P.¹, Khabarov D.V.^{1,2}, Bulychev P.V.¹, Demura A.Yu.¹, Inyoshina A.D.²

¹Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – a branch of the Federal Research Center “Institute of Cytology and Genetics”

2, Timakova Str., Novosibirsk, 630117, Russian Federation

²Novosibirsk State University (NSU)

1, Pirogova Str., Novosibirsk, 630090, Russian Federation

ABSTRACT

We presented a clinical case of the successful treatment of a severe course of polysegmental pneumonia caused by the novel coronavirus infection, that developed in the postoperative period after bariatric surgery in the patient with morbid obesity, comorbid type 2 diabetes mellitus, ischemic heart disease, arterial hypertension, pulmonary embolism (in past medical history), and stage 3 chronic obstructive pulmonary disease.

The given clinical case demonstrates the possibility of successful treatment of coronavirus infection in the polymorbid patient at an extremely high risk of an unfavorable outcome, given timely diagnosis, combination therapy using drugs that block cytokine storm, and strict adherence to clinical recommendations.

Keywords: morbid obesity, coronavirus infection, bariatric surgery, cytokine storm, tocilizumab

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The patient signed an informed consent to the publication of this clinical case. The study was approved by the local Ethics Committee at the Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – a branch of the Federal Research Center “Institute of Cytology and Genetics”.

For citation: Siutkina I.P., Khabarov D.V., Bulychev P.V., Demura A.Yu., Inyoshina A.D. Successful treatment of a severe course of coronavirus infection in the obese polymorbid patient after bariatric surgery. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(2):207–211. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-2-207-211>.

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия COVID-19 стала огромным потрясением, но не стоит забывать об еще одной эпидемии XXI в. – ожирении. Пациент с ожирением – это всегда поликоморбидный пациент, как правило, в его диагнозе имеются: сахарный диабет 2-го типа, артериальная гипертензия, гипертриглицеридемия (дислипидемия), синдром обструктивного апноэ сна, неалкогольная жировая болезнь печени. С начала пандемии ожирение расценивали в качестве предиктора высокого риска развития тяжелой пневмонии, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), тромбозомболических осложнений (ТЭО) и летального исхода [1–4].

При ожирении плацдармом вирусного поражения является исходно повышенный уровень провоспалительных цитокинов, включая интерлейкин (IL) 6 и фактор некроза опухоли α , С-реактивного белка и

ферритина, что обуславливает более высокий риск развития цитокинового шторма, приводящего в конечном итоге к ОРДС, шоку и быстрому ухудшению состояния [4–8]. Активация каскада свертывания при COVID-19 у пациентов с ожирением имеет более высокие риски фатальных ТЭО на фоне имеющейся гиперкоагуляции [7]. Ожирение приводит к снижению резервов дыхательной системы, наличию микроателектазов, нарушению вентиляционно-перфузионного соотношения, дисфункции и ограничению экскурсий диафрагмы, увеличению работы дыхательных мышц при повышении потребления кислорода. Своевременное выявление признаков нарастания воспалительного ответа, включение в комплексную терапию препаратов, позволяющих блокировать цитокиновый шторм, являются залогом успешного лечения. К таким препаратам, в частности, относятся глюкокортикоиды, ингибиторы рецепторов IL-6 и IL-1 β , ингибиторы янус-киназ [8, 9].

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент П., 58 лет, поступил для проведения бариатрического вмешательства 12.10.2020 в хирургическое отделение клиники с диагнозом: ожирение морбидное (индекс массы тела $44,4 \text{ кг/м}^2$) экзогенно-конституциональное. Синдром обструктивного апноэ. Сахарный диабет 2-го типа. Целевой уровень гемоглобина HbA1c менее 6,5%. Диабетическая периферическая сенсорная полинейропатия. Диабетическая автономная нейропатия, кардиоваскулярная форма. Диабетическая макроангиопатия (атеросклероз брахиоцефальных артерий). Ишемическая болезнь сердца. ПИКС (неизвестной давности). Гипертоническая болезнь III стадии, степень артериальной гипертензии 2, риск 4. Тромбоэмболия легочной артерии (мелких ветвей, 2008 г.). Хроническая сердечная недостаточность I степени. Функциональный класс I (NYHA). Дислипидемия. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) 3-й стадии, эмфизематозный тип, тяжелое течение, группа С (с частыми обострениями), стабильное состояние. Дыхательная недостаточность 2-й степени. Компенсированное хроническое легочное сердце. Варикозная болезнь нижних конечностей СЕАР 2. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, вне обострения. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) на SARS-CoV-2 из зева и носа при поступлении – результат отрицательный.

13.10.2020 выполнено лапароскопическое мини-гастрошунтирование. Ранний послеоперационный период протекал без осложнений, пациент активизирован, начат прием жидкости и питание согласно послеоперационному протоколу при бариатрических вмешательствах, проводилась антибиотикопрофилактика цефазолином 3 г/сут, профилактика тромбо-эмболических осложнений эноксапарин натрия 0,4 мл/сут. 17.10.2020 г. зафиксирован подъем температуры до $38,5^\circ\text{C}$, без катаральных явлений, снижение сатурации (SpO_2) до 89–90%. Состояние расценено как средней степени тяжести. Взяты мазки из носа и ротоглотки для ПЦР на SARS-CoV-2.

Больной был переведен в отделение реанимации. При оценке газов крови выявлена артериальная гипоксемия (PO_2 62 мм рт. ст.), компенсируемая гипервентиляцией (рН 7,48, PCO_2 29,1 мм рт. ст., BE_{ef} 2 ммоль/л). Начата инсuffляция увлажненного кислорода через лицевую маску со скоростью 3 л/мин, антибактериальная терапия – цефоперазон + сульбактам 2,0 г/сут по цефоперазону и левофлоксацин 1,0 г/сут; профилактика тромбообразования – эноксапарин натрия 0,8 мл/сут; дексаметазон 24 мг/сут; продолжена бронхолитическая терапия ингаля-

ционно (беродуал 2 раза/сут, будесонид 2 раза/сут, спииolto 2 раза/сут); гастропротекторы эзомепразол 40 мг/сут, коррекция гипергликемии инсулином короткого действия.

С учетом выраженного абдоминального ожирения пациент находился на правом и левом боку попеременно, в положении, приближенном к рпоп-позиции. При малейшем улучшении состояния возобновлялись попытки активизации и расширения двигательного режима. С учетом нарастания гипопроteinемии стандартная схема питания бариатрического пациента дополнена нутризон эдванст диазоном в виде сипинга. Внутривенное введение жидкостей ограничено физиологическим раствором для разведения вводимых препаратов.

19.10.2020 получены положительные результаты ПЦР на SARS-CoV-2 из зева и носа (от 17.10.2020). Компьютерная томография не проводилась по техническим причинам, рентгенологически отрицательной динамики не выявлено. Выставлен конкурирующий диагноз: новая коронавирусная инфекция COVID-19, подтвержденная ПЦР, тяжелое течение.

С 23.10.2020 отмечалось нарастание дыхательной недостаточности, увеличение потребности в кислороде до 8–10 л/мин. С 25.10.2020 – усиление одышки, появление ощущения нехватки воздуха, снижение SpO_2 до 83% на фоне инсuffляции кислорода 15 л/мин. Нарастание гипоксемии (PaO_2 58–60 мм рт. ст., индекс оксигенации 125–130). Пациент был в ясном сознании, адекватен. Гемодинамические показатели с тенденцией к гипотензии. При рентгенологическом контроле от 25.10.2020 отмечена двусторонняя полисегментарная пневмония, по всем легочным полям наблюдаются множественные участки вуалевидного затемнения по типу «матового стекла»; лабораторно выявлены признаки цитокинового шторма – прогрессирование лимфопении, увеличение уровня С-реактивного белка (СРБ) и ферритина. Показатели прокальцитонина, тропонина I и мозгового натрийуретического пептида – в пределах референсных значений. В диагноз вынесено осложнение конкурирующего заболевания: двусторонняя полисегментарная пневмония. Острый респираторный дистресс-синдром. Острая дыхательная недостаточность.

С учетом клинической картины, исходного статуса пациента, признаков нарастания цитокинового шторма 25.10.2020 была проведена инфузия тоцилизумаба 560 мг (4 мг/кг). Отмечалось кратковременное улучшение непосредственно после инфузии. 26.10.2020 – возобновление одышки при минимальной физической нагрузке, SpO_2 87–89% на фоне инсuffляции кислорода 15 л/мин, дальнейшее нарастание арте-

риальной гипоксемии (PaO_2 до 55 мм рт. ст., индекс оксигенации 100–110). Проведена повторная инфузия тоцилизумаба в той же дозе, смена антибактериальной терапии на имипенем + циластатин 3 г/сут по имипенему и ванкомицин 2 г/сут, под контролем коагулограммы и показателей тромбоэластограммы увеличена дозировка эноксапарина до 1,6 мл/сут.

На этом фоне было отмечено уменьшение проявлений дыхательной недостаточности: значительное

уменьшение одышки, потребности в кислороде, с 30.10.2020 пациент не нуждался в кислородной поддержке, также отмечалось улучшение лабораторных показателей. 30.10.2020 в связи с получением повторно положительного результата ПЦР на SARS-CoV-2 (забор 27.10.2020) начата этиотропная терапия фавипиравиром 1 800 мг 2 раза/сут в 1-е сут, далее по 800 мг 2 раза/сут. Динамика основных клинико-лабораторных показателей представлена в таблице.

Таблица

Динамика клинико-лабораторных показателей										
Показатель	19.10.2020	21.10.2020	23.10.2020	25.10.2020	26.10.2020	27.10.2020	28.10.2020	29.10.2020	31.10.2020	02.11.2020
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$ (4,00–10,00)	4,17	5,21	8,93	9,30	5,86	5,37	5,92	5,81	7,46	5,32
Лимфоциты, % (20–40)	16,6	13,1	2,3	5,5	9,3	8,4	10,4	11,9	6,8	9,9
Лимфоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$ (0,8–4,0)	0,7	0,68	0,2	0,52	0,55	0,45	0,61	0,69	0,51	0,53
Тромбоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$ (100–300)	181	183	216	265	279	339	372	334	348	300
СОЭ, мм/ч	15	21	29	31	38	27	24	18	7	7
СРБ, мг/л (0–5)	34,1	34,9	43,9	72,7	91,6	33,3	12,9	5,4	2,1	0,8
Ферритин, мкг/л (20–250)	281,7	317,8	343,0	379,8	465,4	460,3	374,1	330	348,3	316,8
Д-димер нг/мл (200–443)	365	273	244	283	349	394	319	302	336	267
Фибриноген, г/л (2,0–4,0)	5,8	4,3	4,9	5,3	5,1	4,1	3,8	3,5	2,9	2,4
SpO_2 , %, минимум	91	87	86	81	87	86	89	90	93	94
ЧДД, максимум	18	19	16	28	26	20	20	23	18	16

Примечание. СОЭ – скорость оседания эритроцитов; ЧДД – частота дыхательных движений.

Пациент переведен из отделения реанимации в обсервационное отделение 03.11.2020г. Результат ПЦР от 05.11.2020 отрицательный, выписан 09.11.2020.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данный клинический случай демонстрирует возможность успешного лечения тяжелого течения коронавирусной инфекции у пациента с крайне высоким риском неблагоприятного исхода. Своевременная диагностика, патогенетически направленная терапия, строгое соблюдение клинических рекомендаций, своевременное назначение тоцилизумаба в комбинации с дексаметазоном позволили предотвратить фатальную декомпенсацию дыхательной недостаточности и избежать перевода на искусственную вентиляцию легких. Назначение антибактериальной терапии, несмотря на отрицательные бактериологические посевы мокроты и крови, было оправданным с учетом сопутствующего сахарного диабета и ХОБЛ, с одной стороны, и массивной иммуносупрессивной терапией – с другой.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Stefan N., Birkenfeld A.L., Schulze M.B., Ludwig D.S. Obesity and impaired metabolic health in patients with COVID-19.

Nat. Rev. Endocrinol. 2020;16(7):341–342. DOI: 10.1038/s41574-020-0364-6.

2. Palaodimos L., Kokkinidis D.G., Li W., Karamanis D., Ognibene J., Arora S. et al. Severe obesity, increasing age and male sex are independently associated with worse in-hospital outcomes, and higher in-hospital mortality, in a cohort of patients with COVID-19 in the Bronx, New York. *Metabolism*. 2020;108:154262. DOI: 10.1016/j.metabol.2020.154262.
3. Emami A., Akbari A., Basirat A., Zare H., Javanmardi F., Falahati F. et al. The role of comorbidities on mortality of COVID-19 in patients with diabetes. *Obes. Med.* 2021;15:100352. DOI: 10.1016/j.obmed.2021.100352.
4. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z. et al. 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. Chiappetta S., Sharma A.M., Bottino V., Stier C. COVID-19 and the role of chronic inflammation in patients with obesity. *Int. J. Obes. (Lond)*. 2020;44(8):1790–1792. DOI: 10.1038/s41366-020-0597-4.
6. De Lucena T.M.C., da Silva Santos A.F., de Lima B.R., de Albuquerque Borborema M.E., de Azevêdo Silva J. Mechanism of inflammatory response in associated comorbidities in COVID-19. *Diabetes Metab. Syndr.* 2020;14(4):597–600. DOI: 10.1016/j.dsx.2020.05.025.
7. Jose R.J., Manuel A. COVID-19 cytokine storm: the interplay

- between inflammation and coagulation. *Lancet Respir. Med.* 2020;8(6):e46–e47. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30216-2.
8. Ye Q., Wang B., Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J. Infect.* 2020;80(6):607–613. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.03.037.
9. Heimfarth L., Serafini M.R., Martins-Filho P.R., Quintans J.S.S., Quintans-Júnior L.J. Drug repurposing and cytokine management in response to COVID-19: A review. *Int. Immunopharmacol.* 2020;88:106947. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106947.

Информация об авторах

Сюткина Ирина Павловна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, врач анестезиолог-реаниматолог, НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, komarok777@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3941-4521>

Хабаров Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, зав. отделением анестезиологии и реанимации, НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН; профессор, зеркальная кафедра анестезиологии, НГУ, Институт медицины и психологии Зельмана, г. Новосибирск, hdv@ngs.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7622-8384>

Булычев Павел Валерьевич, мл. науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, врач анестезиолог-реаниматолог, НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, paulbulych@ngs.ru <https://orcid.org/0000-0003-4032-6315>

Демура Александр Юрьевич, мл. науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, врач анестезиолог-реаниматолог, НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск, dx_@bk.ru <https://orcid.org/0000-0001-8470-5400>

Инёшина Алиса Денисовна, студент 5-го курса, НГУ, Институт медицины и психологии Зельмана, г. Новосибирск, a.ineshina@ngs.ru <http://orcid.org/0000-0001-7794-9095>

(✉) **Хабаров Дмитрий Владимирович**, hdv@ngs.ru

Поступила в редакцию 21.06.2021;
одобрена после рецензирования 28.06.2021;
принята к публикации 05.10.2021

КНИГА ПО ИСТОРИИ СИБГМУ

Готовится к изданию трехтомная иллюстрированная история одного из старейших и наиболее авторитетных медицинских вузов России – Сибирского государственного медицинского университета. На протяжении нескольких лет под руководством автора проекта академика В.В. Новицкого в университете велась масштабная и плодотворная работа по сбору исторического материала. Богатейшая летопись с момента основания первого медицинского университета за Уралом и до сегодняшних дней собрана в 3-х томах.



**Том первый.
МЕДИЦИНСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
ИМПЕРАТОРСКОГО (ГОСУДАРСТВЕННОГО)
ТОМСКОГО УНИВЕРСИТЕТА (1878–1930)**

Описывает жизнь и развитие университета с 1878 по 1930 г., включает редчайшие документальные фотографии, факты и истории.



**Том второй.
ТОМСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
(1931–1992)**

Будет представлена более чем полувековая история развития ТМИ с 1931 по 1992 г.



**Том третий.
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

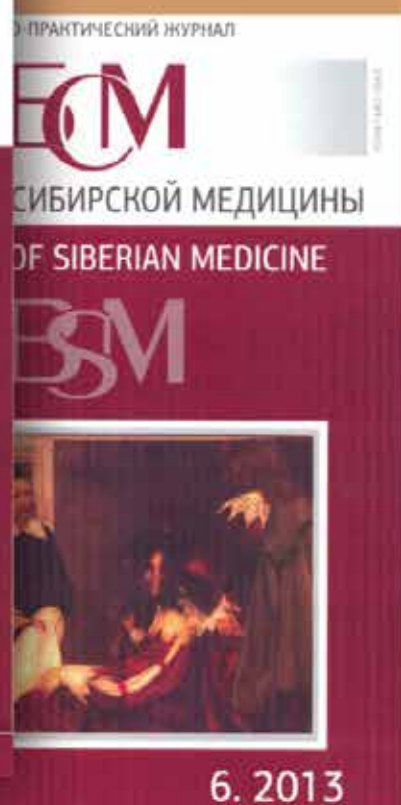
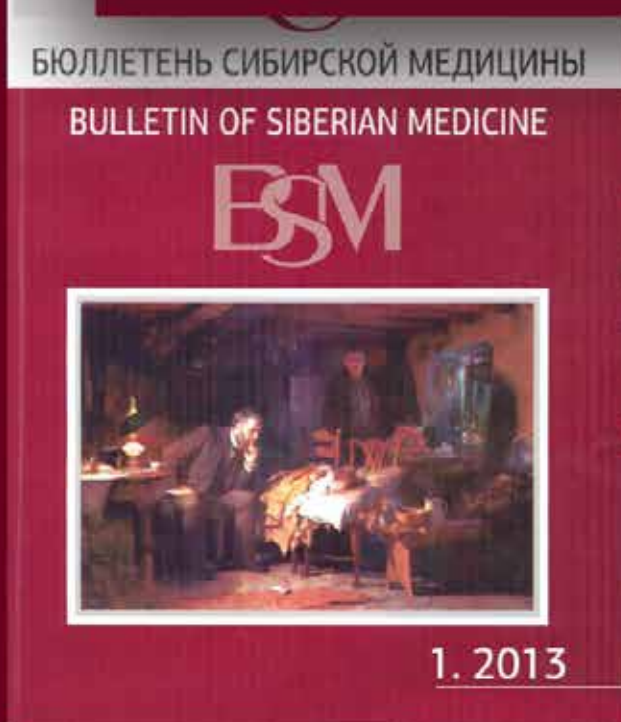
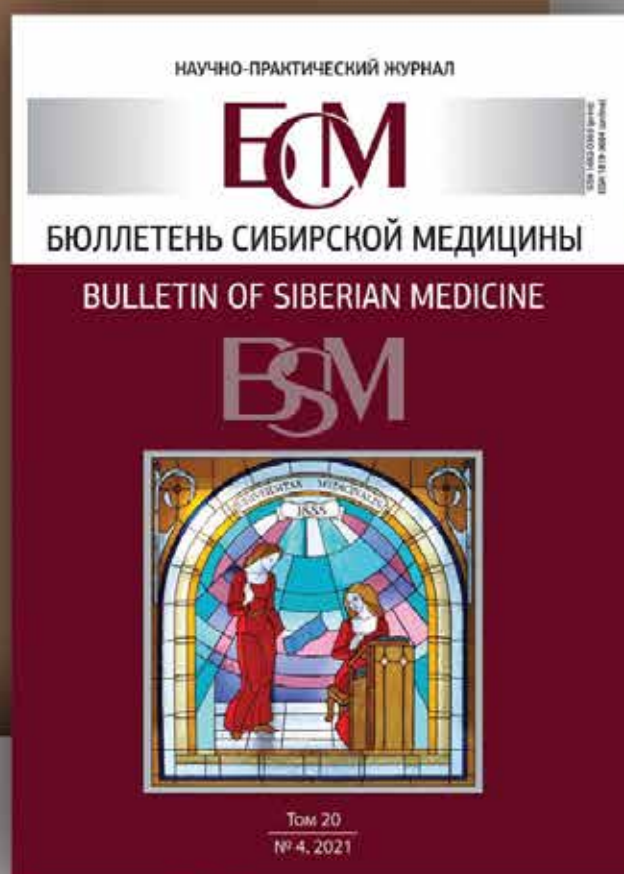
Освещены ключевые вехи в сфере науки, образования и медицины с 1992 по 2018 г.

Трехтомная иллюстрированная летопись одного из старейших и наиболее авторитетных медицинских вузов России – Сибирского (Томского) государственного медицинского университета является по сути первой серьезной попыткой осветить более чем 140-летнюю историю этого прославленного университета.

Особенностью издания является богатый иллюстративный материал, включающий более 4 тыс. фотографий (в том числе ранее практически неизвестных), и никогда не публиковавшиеся до этого крайне любопытные и интересные факты о жизни университета, его студентов и профессоров, воспоминания и рассказы выпускников и преподавателей вуза.

Для самого широкого круга читателей, интересующихся историей российских университетов, отечественного высшего медицинского образования и науки, развитием клинических и научно-медицинских школ, здравоохранения, историей Томска, Сибири, России.

**По вопросам приобретения первого тома книги обращаться:
Издательство СибГМУ: e-mail: izdatelstvo@ssmu.ru**



20 ЛЕТ ЖУРНАЛУ «БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ»

КОНТАКТ: 8402 6363 ISSN ONLINE: 1819-3684

Бюллетень сибирской медицины
Bulletin of Siberian Medicine

БМ Bulletin ENG / РУС

БМ

Бюллетень сибирской медицины

Результативный поиск

ГЛАВНАЯ О ЖУРНАЛЕ МОЙ КАБИНЕТ ПОИСК СВЕЖИЙ НОМЕР АРХИВ НОВОСТИ АРХИВ 2002-2011



Научно-практический рецензируемый журнал
Научно-практический журнал общенаучного профиля «Бюллетень сибирской»

Бюллетень сибирской медицины / Bulletin of Siberian Medicine является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты научных исследований, ориентированных на разработку передовых медицинских технологий. С целью объединения научной медицинской общественности, распространения актуальной информации и содействия профессиональному росту специалистов журнал публикует оригинальные научные статьи, представляющие результаты экспериментальных и клинических исследований, обзоры, научные обзоры, отражающие результаты исследований в различных областях медицины. Приоритет для публикации предоставляется материалам по перспективным направлениям современной медицинской науки:

- молекулярная медицина,
- регенеративная медицина и биомедицина,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инновационные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармацевтика,
- ядерная медицина,
- трансляционная медицина.

Журнал выполняет широкий спектр функций, которые в целом дают представление об основных направлениях развития российской медицинской науки и ее достижениях, ее конкурентоспособности и статусе интеграции в международное научное сообщество.

Научно-практический рецензируемый журнал «Бюллетень сибирской медицины» / Bulletin of Siberian Medicine» издается Сибирским государственным медицинским университетом с 2001 г. при поддержке ТРОО «Академия доказательной доказательной медицины».

Главный редактор – член-корреспондент РАН О.И. Уразова. Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № 77-7366 от 26.03.2001 г.
ISSN 1682-0363

Журнал включен в Перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в РФ, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК, редакция 01.12.2015).

Индексация:

- PubMed (RSCI; Science Index)
- КиберЛенинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традицию первых медицинских журналов, на страницах Бюллетеня сибирской медицины мы публикуем

Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Рецензирование

Этика публикации

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание медицинского контента может быть разным после финансового кризиса: различия в качестве

Вопрос № 2 (2003)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

обострение бронхиальной астмы воспаление легких

бронхиальная астма воспаление легких

OPEN ACCESS

LIBRARY.RU

АКТИВНАЯ

Аннотации

АНРИ

СИБИРСКАЯ

Global

Google

360

NEED

NLM Catalog

Open Access

Research

PGB

Research

Research

Scopus

WORLD

WorldCat

znanium.com

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (online)
БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ
2022. Т. 21. № 2. 1–212