

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

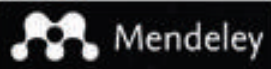
BSM



Том 22

№ 1. 2023

ЖУРНАЛ «БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ» ПРЕДСТАВЛЕН НА СЛЕДУЮЩИХ РЕСУРСАХ

	Крупнейшая в мире база данных рефератов и цитирований от компании Elsevier
	DOAJ – это уникальный и обширный индекс разнообразных журналов открытого доступа со всего мира
	Национальная библиографическая база данных научного цитирования российских авторов
	База российских научных медицинских журналов
	КиберЛенинка – это научная электронная библиотека, построенная на парадигме открытой науки (Open Science)
	AcademicKeys.com предоставляет ресурсы, которые объединяют и информируют академическое сообщество
	Международный центр ISSN
	Реферативно-библиографическая база данных научных публикаций российских учёных и индекс цитирования научных статей
	Электронно-библиотечная система
	Сервис предоставляет глобальный доступ к знаниям в области открытых инноваций
	Платформа, предоставляющая сервисы совместной работы с библиографическими данными, которая была создана для построения социальной сети учёных на основе их публикаций
	Citations Open – независимая некоммерческая инфраструктурная организация, занимающаяся публикацией открытых библиографических данных и данных о цитировании с использованием технологий Semantic Web (связанных данных)

bulletin.ssmu.ru

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 22, № 1, 2023

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.ssmu.ru>
E-mail: bulletin.tomsk@mail.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 31.03.2023 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Times».
Печ. л. 22,75. Усл. печ. л. 22,0.
Тираж 500 экз. Заказ 123.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 31.03.2023.

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. Алифирова, *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. Капилевич, *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)*
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. Erppel, *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 22, No. 1, 2023

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

FOUNDER AND PUBLISHER:

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

Registered by the Ministry of Mass Media
and Communications of the Russian Federation
Certificate of registration
No. 77-7366 of 26.03.2001

The journal "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 doctoral and Candidate of Sciences
theses

Bulletin of Siberian Medicine is indexed in:
Scopus
Web of Science (WoS (ESCI))
Science Index
RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

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

Publisher: Siberian State Medical University.
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050,
Russian Federation.
Editors: E.E. Stepanova, Yu.P. Gotfrid
Translators: M.E. Orlova, K.Yu. Skvortsova
Electronic makeup, cover design
L.D. Krivtsova

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

Signed to print on 31.03.2023
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Times font.
P.s. 22,75. C.p.s. 22,0.
500 copies. Order No. 123.

The price – free.
Date of publication 31.03.2023.

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

© Siberian State Medical University, 2023

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)*
À.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)*
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
Богомолова И.А., Долгова Д.Р., Антонеева И.И., Абакумова Т.В., Мягдиева И.Р., Песков А.Б., Генинг Т.П. Предиктивная значимость регуляторов воспаления TGFb1 и CXCL8 в опухолевой ткани при колоректальном раке	Bogomolova I.A., Dolgova D.R., Antoneeva I.I., Abakumova T.V., Myagdieva I.R., Peskov A.B., Gening T.P. Predictive value of inflammatory regulators TGFb1 and CXCL8 in tumor tissue in colorectal cancer
Быков В.В., Быкова А.В., Станкевич С.А., Алиев О.И., Сидехменова А.В., Дунаева О.И., Хазанов В.А., Венгеровский А.И., Удут В.В. Фармакологические эффекты нового стимулятора раствори- мой гуанилатциклазы при экспериментальной легочной арте- риальной гипертензии	Bykov V.V., Bykova A.V., Stankevich S.A., Aliev O.I., Sidekhmenova A.V., Dunaeva O.I., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I., Uduut V.V. Pharmacological effects of a new soluble guanylate cyclase stimulator in experimental pulmonary arterial hypertension
Калюжин О.В., Проскурина О.В., Суханова С.А., Новикова Н.В., Колганова Н.А. Экстракт из культуры термофильного штамма <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> подавляет аллергическое воспаление в дыхательных путях <i>in vivo</i> и дегрануляцию тучных клеток и базофилов <i>in</i> <i>vitro</i>	Kalyuzhin O.V., Proskurina O.V., Sukhanova S.A., Novikova N.V., Kolganova N.A. An extract from the culture of a thermophilic <i>Staphylococcus aureus</i> strain suppresses allergic inflammation in the airways <i>in vivo</i> and degranulation of mast cells and basophils <i>in vitro</i>
Кобалава Ж.Д., Кабельо Монтойя Ф.Э., Сафарова А.Ф., Толкачева В.В., Абрамов А.А. Прогностическое значение диаметра нижней полой вены, ультразвукового исследования легких и NT-proBNP у паци- ентов с декомпенсацией хронической сердечной недостаточ- ности и ожирением	Kobalava Zh.D., Cabello F.E.M., Safarova A.F., Tolkacheva V.V., Abramov A.A. Prognostic value of the inferior vena cava diameter, lung ultrasound, and the NT-proBNP level in patients with acute decompensated heart failure and obesity
Копьева К.В., Мальцева А.Н., Гракова Е.В., Мочула А.В., Солдатенко М.В., Калюжин В.В., Завадовский К.В. Прогностическая роль резерва миокардиального кровотока у больных с сердечной недостаточностью с сохраненной фрак- ции выброса	Kopeva K.V., Maltseva A.N., Grakova E.V., Mochula A.V., Soldatenko M.V., Kalyuzhin V.V., Zavadovsky K.V. Prognostic value of myocardial flow reserve in patients with heart failure with preserved ejection fraction
Корепанов В.А., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А. Активность дыхания изолированных кардиомиоцитов и ми- кровязкость их мембран у крыс разных возрастов при сердеч- ной недостаточности	Korepanov V.A., Rebrova T.Yu., Afanasiev S.A. Respiration in isolated cardiomyocytes and microviscosity of their membranes in rats of different ages with heart failure
Корнетова Е.Г., Гончарова А.А., Меднова И.А., Корнетов А.Н., Саприна Т.В., Перчаткина О.Э., Семке А.В. Конституционально-морфологические основы метаболиче- ского синдрома у пациентов с шизофренией и лиц без психи- ческих расстройств	Kornetova E.G., Goncharova A.A., Mednova I.A., Kornetov A.N., Saprina T.V., Perchatkina O.E., Semke A.V. Somatotype and morphological characteristics of metabolic syndrome in patients with schizophrenia and persons without mental disorders

Медведева А.А., Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В.,
Чойнзон Е.Л., Чижевская С.Ю., Рыбина А.Н., Гольдберг А.В.,
Черемисина О.В.

Диагностика сторожевых лимфатических узлов у больных
раком гортани и гортаноглотки с применением нового оте-
чественного радиофармацевтического лекарственного пре-
парата на основе меченного технецием-99m гамма-оксида
алюминия

65

Нестерова А.А., Прокофьев И.И., Перфилова В.Н.,
Евсюков О.Ю., Кустова М.В., Тюренок И.Н.

Морфологические изменения миокарда крыс после хрони-
ческой алкогольной интоксикации на фоне лечения новыми
производными ГАМК и глутаминовой кислоты

73

Сафарова С.С.

Искусственные нейронные сети в прогнозировании наруше-
ний метаболизма костной ткани при сахарном диабете

81

Таширева Л.А., Калинин А.Ю., Геращенко Т.С.,
Савельева О.Е., Перельмутер В.М.

Субпопуляции В-лимфоцитов у больных раком молочной же-
лезы в зависимости от статуса PD-L1

88

Хлусов И.А., Омелянчик А.С., Родионова В.В.,
Шуплецова В.В., Хазиахматова О.Г., Юрова К.А.,
Литвинова Л.С., Норкин И.К.

Десятилетняя стабильность нанопорошка магнетита, приго-
товленного методом электровзрыва проводников: полезное
свойство для экологической безопасности и биомедицинского
использования?

96

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

Буслаев В.Ю., Минина В.И., Мацкова Л.В.

Микробиота: вклад в канцерогенез и функционирование
иммунной системы легких

103

Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В.,
Черногорюк Г.Э., Терентьева Н.Н., Гракова Е.В., Копьева К.В.,
Усов В.Ю., Гарганеева Н.П., Павленко О.А., Горелова Ю.В.

Диастолическая сердечная недостаточность: границы приме-
нения термина

113

Medvedeva A.A., Chernov V.I., Bragina O.D., Zeltchan R.V.,
Choyznzonov E.L., Chizhevskaya S.Yu., Rybina A.N.,
Gol'dberg A.V., Cheremisina O.V.

Diagnosis of sentinel lymph nodes in patients with
cancer of the larynx and laryngopharynx using a new
radiopharmaceutical based on technetium-99m-labeled
gamma aluminum oxide

Nesterova A.A., Prokofiev I.I., Perfilova V.N.,
Evsyukov O.Yu., Kustova M.V., Tyurenkov I.N.

Morphological changes in the myocardium of rats with
chronic alcohol intoxication after treatment with new
GABA- and glutamic acid derivatives

Safarova S.S.

Artificial neural networks in predicting impaired bone
metabolism in diabetes mellitus

Tashireva L.A., Kalinchuk A.Yu. Gerashchenko T.S.,
Savelyeva O.E., Perelmuter V.M.

Subpopulations of B lymphocytes in patients with breast
cancer depending on the status of PD-L1

Khlovov I.A., Omelyanchik A.S., Rodionova V.V.,
Shupletsova V.V., Khaziakhmatova O.G., Yurova K.A.,
Litvinova L.S., Norkin I.K.

10-year stability of magnetite nanopowder prepared
by the exploding wire method: is it a useful feature for
environment safety and biomedical applications?

REVIEWS AND LECTURES

Buslaev V.Yu., Minina V.I., Matskova L.V.

Microbiota: its contribution to carcinogenesis and
immunity in the lungs

Kalyuzhin V.V., Teplyakov A.T., Besspalova I.D.,
Kalyuzhina E.V., Chernogoryuk G.E., Terentyeva N.N.,
Grakova E.V., Kopeva K.V., Usov V.Yu., Garganeeva N.P.,
Pavlenko O.A., Gorelova Yu.V.

Diastolic heart failure: boundaries of term application

<i>Кароли Н.А., Ребров А.П.</i> Диагностика бактериальной инфекции у больных COVID-19: так ли все просто? (обзор литературы)	121	<i>Karoli N.A., Rebrov A.P.</i> Diagnostics of bacterial infection in patients with COVID-19: is it so simple? (literature review)
<i>Перина Е.А., Хмелевская Е.С., Федорова О.С., Иванов В.В.</i> Форсайт диагностики трематодозов: инновации против рутинных методов	132	<i>Perina E.A., Khmelevskaya E.S., Fedorova O.S., Ivanov V.V.</i> Foresight in the diagnosis of trematodiasis: innovations versus routine methods
<i>Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Перельман Ю.М.</i> Клинические и патогенетические аспекты нейтрофильного воспаления бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (обзор литературы)	143	<i>Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Perelman J.M.</i> Clinical and pathogenetic aspects of neutrophilic bronchial inflammation in asthma patients with cold-induced airway hyperresponsiveness (literature review)
<i>Чигрина В.П., Тюфилин Д.С., Деев И.А., Кобякова О.С.</i> Мировые практики привлечения и удержания медицинских работников в сельских районах (обзор литературы)	153	<i>Chigrina V.P., Tyufilin D.S., Deev I.A., Kobyakova O.S.</i> Global best practices in recruiting and retaining healthcare workers in rural areas (literature review)
СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ		CLINICAL CASES
<i>Вишняк Д.А., Шевченко О.В., Зармаева М.Б., Койлыбаева А.М.</i> Загадочные «резиновые» слепки бронхов: малоизвестное заболевание в медицинской практике	164	<i>Vishnyak D.A., Shevchenko O.V., Zarmaeva M.B., Koilybaeva A.M.</i> Mysterious plastic bronchitis: a little-known disease in medical practice
<i>Джумагалиева М.Б., Аяганов Д.Н., Юлдашев В.Л., Ахмадеева Л.Р.</i> Клинический случай психического расстройства на фоне новой коронавирусной инфекции	174	<i>Jumagaliyeva M.B., Ayaganov D.N., Yuldashev V.L., Akhmadeeva L.R.</i> A clinical case of co-occurring mental disorder and coronavirus infection
<i>Терещенко Н.М., Кушнир Я.Б., Абрамова М.П., Готовчиков А.А., Краснов В.С., Соколов А.Ю., Тотолян Н.А., Амелин А.В.</i> Опыт применения препаратов иммуноглобулина человека для внутривенного введения в лечении редких неврологических заболеваний	174	<i>Tereshchenko N.M., Kushnir Ya.B., Abramova M.P., Gotovchikov A.A., Krasnov V.S., Sokolov A.Yu., Totolyan N.A., Amelin A.V.</i> Best practices in the use of human immunoglobulin preparations for intravenous administration in the treatment of rare neurological diseases

Дорогие авторы и читатели!

Перед вами первый номер журнала «Бюллетень сибирской медицины» 2023 г.

Выходу этого номера способствовала большая работа членов редакции и редакционной коллегии, которые приложили максимум усилий для того, чтобы авторы на страницах нашего журнала смогли представить свои последние научные достижения и ознакомить читателей с новыми разработками в области фундаментальной и клинической медицины.

Указом Президента России Владимира Владимировича Путина 2023 г. объявлен Годом педагога и наставника. Он посвящен вам – тем, кто принимает активное участие в обучении и воспитании молодежи, руководит подготовкой молодых высококвалифицированных научно-педагогических и медицинских кадров, передает им свой бесценный опыт и знания!

Журнал приглашает исследователей и практикующих врачей поделиться своими актуальными результатами. Надеемся, что на страницах нашего журнала вы найдете для себя много увлекательного и содержательного, изложите свои оригинальные идеи и технологии. Мы открыты для всего нового и интересного, для дискуссий и обмена мнениями.

Рассчитываем на активное сотрудничество с коллегами из России, стран ближнего и дальнего зарубежья. Желаем авторам и читателям журнала творческих успехов и профессионального роста!



С надеждой на плодотворное сотрудничество,
д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН
Уразова Ольга Ивановна

УДК 616.348-006.6-002

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-7-13>

Предиктивная значимость регуляторов воспаления TGFb1 и CXCL8 в опухолевой ткани при колоректальном раке

Богомолова И.А.^{1,3}, Долгова Д.Р.¹, Антонеева И.И.^{1,2}, Абакумова Т.В.¹, Мягдиева И.Р.¹, Песков А.Б.¹, Генинг Т.П.¹

¹ Ульяновский государственный университет (УлГУ)

Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42

² Областной клинический онкологический диспансер (ОКОД)

Россия, 432017, г. Ульяновск, ул. 12 Сентября, 90

³ Федеральный научно-клинический центр медицинской радиологии и онкологии (ФНКЦРиО) ФМБА России

Россия, 433507, г. Дмитровград, ул. Курчатова, 5в

РЕЗЮМЕ

Колоректальный рак (КРР) по заболеваемости в мире находится на 3-м месте и на 2-м – по смертности. Молекулярные маркеры химиорезистентности позволят определять прогноз заболевания и чувствительность опухоли к лекарственным препаратам.

Цель. Оценить предиктивную значимость экспрессии факторов TGFb1 и CXCL8 – регуляторов опухоль-ассоциированного воспаления в опухолевой ткани при КРР.

Материалы и методы. Пациенты были разделены на три группы: I – без рецидива, II – с рецидивом (в течение 6–16 мес после окончания химиотерапии), III – с прогрессированием заболевания. Экспрессию TGFb1 и CXCL8 в опухолевой ткани до начала лечения пациентов с КРР на II–III стадии ($n = 77$) определяли с использованием количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени на амплификаторе CFX-96 BioRad (США). Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения Statistica 13.0 (StatSoft, США).

Результаты. В образцах низкодифференцированных опухолей при КРР уровень мРНК TGFb и CXCL8 был существенно выше, чем в опухолевых образцах с умеренной и высокой дифференцировкой. Зависимости уровня транскриптов TGFb1 и CXCL8 в образцах опухоли у пациентов на II–III стадии КРР от возраста и наличия мутаций EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) сигнального пути (RAS, BRAF) не выявлено. Установлена положительная сильная корреляционная связь между уровнями транскриптов TGFb1 и CXCL8 для всей выборки пациентов с КРР. Экспрессия генов *TGFb1* и *CXCL8* значимо выше в опухолевой ткани пациентов с прогрессированием заболевания.

Заключение. Гиперэкспрессия *TGFb1* и *CXCL8*, участвующих в механизме опухоль-ассоциированного воспаления, может рассматриваться как негативный фактор прогноза времени без прогрессирования при использовании схемы FOLFOX/XELOX лечения колоректального рака.

Ключевые слова: колоректальный рак, TGFb1, CXCL8, EGFR, опухолевая прогрессия

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 Института медицины, экологии и физической культуры УлГУ (протокол № 9 от 15.09.2014).

✉ Богомолова Ирина Александровна, 73bogomolova@gmail.com

Для цитирования: Богомолова И.А., Долгова Д.Р., Антонеева И.И., Абакумова Т.В., Мягдиева И.Р., Песков А.Б., Генинг Т.П. Предиктивная значимость регуляторов воспаления TGFb1 и CXCL8 в опухолевой ткани при колоректальном раке. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):7–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-7-13>.

Predictive value of inflammatory regulators TGFb1 and CXCL8 in tumor tissue in colorectal cancer

Bogomolova I.A.^{1,3}, Dolgova D.R.¹, Antoneeva I.I.^{1,2}, Abakumova T.V.¹, Myagdieva I.R.¹, Peskov A.B.¹, Gening T.P.¹

¹ Ulyanovsk State University

42, Leo Tolstoy Str., Ulyanovsk, 432017, Russian Federation

² Regional Clinical Oncology Center

90, September 12th Str., Ulyanovsk, 432017, Russian Federation

³ Federal Scientific and Clinical Center for Medical Radiology and Oncology, Federal Medical and Biological Agency of Russia

5v, Kurchatov Str., Dimitrovgrad, 433507, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Colorectal cancer is ranked third in terms of incidence and second in terms of mortality around the world. Molecular markers of chemoresistance allow to determine the prognosis of the disease and sensitivity of the tumor to drugs.

Aim. To assess the predictive value of expression of regulators of tumor-associated inflammation TGFb1 and CXCL8 in the tumor tissue in colorectal cancer.

Materials and methods. Patients were divided into 3 groups: group I included patients without relapse of the disease, group II encompassed patients with relapse of the disease (within 6–16 months after the end of chemotherapy), group III included patients with disease progression. Expression of TGFb1 and CXCL8 in the tumor tissue before treatment in patients with stage II–III colorectal cancer ($n = 77$) was determined using quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) on the Bio-Rad CFX-96 Touch Real-Time PCR Detection System (USA). Statistical data processing was performed using Statistica 13.0 software (StatSoft, USA).

Results. We found that in samples of poorly differentiated colorectal cancer, the level of TGFb and CXCL8 mRNA was significantly higher than in moderately and well differentiated tumors. We did not reveal any relationship of the level of TGFb1 and CXCL8 transcripts in tumor samples of patients with stage II–III colorectal cancer with age and the presence of mutations in the EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) signaling pathway (RAS, BRAF). We found a strong positive correlation between the levels of TGFb1 and CXCL8 transcripts for the entire sample of patients with colorectal cancer. We have found that the expression of *TGFb1* and *CXCL8* genes was significantly higher in the tumor tissue of patients with disease progression.

Conclusion. Overexpression of *TGFb1* and *CXCL8*, which are involved in the mechanism of tumor-associated inflammation, can be considered as a negative prognostic factor for the progression-free interval when using the FOLFOX / XELOX regimen for the treatment of colorectal cancer.

Keywords: colorectal cancer, CXCL8, TGFb1, EGFR, tumor progression

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 Ethics Committee at the Institute of Medicine, Ecology, and Physical Education, Ulyanovsk State University (Protocol No. 9 of 15.09.2014).

For citation: Bogomolova I.A., Dolgova D.R., Antoneeva I.I., Abakumova T.V., Myagdieva I.R., Peskov A.B., Gening T.P. Predictive value of inflammatory regulators TGFb1 and CXCL8 in tumor tissue in colorectal cancer. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):7–13. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-7-13>.

Таблица 1

Характеристика пациентов с колоректальным раком, включенных в исследование, $n = 77$

Показатель	Количество пациентов
Пол:	
– мужской;	42
– женский	35
Возраст, лет:	
– 25–44	9
– 45–59	40
– 60–75	28
Стадия заболевания:	
– II	16
– III	37
– IV	24
Оценка метастатического поражения регионарных лимфоузлов (N)	
– N0	34
– N1	44
– N2	16
Степень дифференцировки:	
– низкодифференцированная;	7
– умереннодифференцированная;	44
– высокодифференцированная	26
Расположение опухоли (сторона):	
– левосторонняя;	59
– правосторонняя	18
Наличие мутаций EGFR-сигнального пути:	
– nRAS;	5
– kRAS;	21
– BRAF;	5
– не определено	12
Наследственность:	
– отягощена;	12
– не отягощена;	49
– неизвестно	16
Полихимиотерапия по схеме FOLFOX/XELOX:	
– адьювантная;	53
– паллиативная	24
Оценка распространенности первичной опухоли II–III стадии:	
– T ₂	3
– T ₃	34
– T _{4a}	9
– T _{4b}	7
Наличие факторов негативного прогноза (II–III стадии):	
– есть;	23
– нет	30

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) – злокачественное новообразование, возникающее в слизистой оболочке толстой и прямой кишки. По заболеваемости в мире КРР находится на 3-м месте и на 2-м – по смертности [1]. Молекулярные маркеры химиорезистентности могут быть использованы для ранней диагностики опухолей толстой кишки, прогноза заболевания и определения чувствительности к химиотерапии (ХТ). В обычных клетках трансформирующий фактор роста бета (TGFb) 1 стимулирует продукцию коллагена и фибронектина, снижая уровень секреции ферментов деградации внеклеточного матрикса [2]. На разных этапах злокачественной трансформации в эпителиальных клетках толстой кишки TGFb1 играет роль как супрессора, так и промотора опухолевого роста [3].

Данный фактор принимает участие в ингибировании пролиферации клеток, индуцирует апоптоз и ангиогенез, оказывает иммуносупрессорное действие [4–7]. Показана взаимосвязь высокого уровня TGFb1 в сыворотке крови больных КРР с плохим прогнозом заболевания [8]. TGFb1 участвует также в процессах эпителиально-мезенхимального перехода [9–11].

Показано, что клетки КРР могут продуцировать интерлейкин-8 (IL-8/CXCL8), который опосредует хемотаксис нейтрофилов [12]. Активированные нейтрофилы секретируют CXCL8, который может прерывать апоптозный эффект фактора Bcl-2, продлевать присутствие нейтрофилов в строме опухоли и блокировать противовоспалительное действие факторов [13, 14]. Показано, что CXCL8 также участвует в васкуляризации опухоли [15].

В связи с противоречивыми данными литературы о роли медиаторов воспаления в канцерогенезе, целью исследования была оценка предиктивной значимости экспрессии факторов TGFb1 и CXCL8 как регуляторов опухоль-ассоциированного воспаления в опухолевой ткани при КРР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в режиме ретроспективного исследования на базе Ульяновского областного клинического онкологического диспансера в период с 2014 по 2020 г. и Научно-исследовательского медико-биологического центра УлГУ. Протокол исследования одобрен этическим комитетом Института медицины, экологии и физической культуры УлГУ (протокол № 9 от 15.09.2014).

Подробная характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Оценка эффективности лечения проводилась каждые 2 мес (после четырех курсов FOLFOX/ двух курсов XELOX), а также после завершения всех курсов ХТ. План обследования включал в себя общеклинический и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, кровь на раковый эмбриональный антиген, СА 19/9, лучевые методы (рентгенография органов грудной клетки в двух проекциях, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, малого таза, забрюшинного пространства), эндоскопические методы (фиброколоноскопия по показаниям). При сомнительных резуль-

татах стандартных методов обследования выполнялась мультиспиральная компьютерная томография или магнитно-резонансная томография органов грудной клетки, брюшной полости, малого таза с внутривенным контрастированием. По окончании лечения пациенты находились под динамическим наблюдением врача-онколога, с периодическим контрольным обследованием в соответствии со стандартными критериями Всемирной организации здравоохранения.

В зависимости от ответа на стандартную ХТ по схемам FOLFOX/XELOX пациенты были разделены на три группы: I – без рецидива (более 3 лет после окончания лечения), II – с рецидивом (в течение 6–16 мес после окончания ХТ), III – с прогрессированием заболевания на фоне ХТ.

Молекулярно-генетическое исследование FFPE-образцов опухоли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводилось следующим образом. В качестве биоматериала использовались гистологические срезы опухолей, содержащие не менее 80% опухолевых клеток. За «условную» норму приняты срезы с блоков линий резекций этих же опухолей. Выделение ДНК/РНК из парафинизированных образцов, фиксированных в формалине (FFPE) на магнитных частицах SileksMagNA, проводили из срезов опухоли толщиной 10–15 мкм (общей площадью не менее 2 см²) с использованием магнитных частиц SileksMagNA (кат. номер: KIRFFPE0100, ООО «Силекс», г. Москва, Россия).

С помощью набора QuantumDNA-211 определяли концентрацию ДНК, выделенную из парафиновых блоков опухоли KPP и пригодную для амплификации, а также устанавливали наличие ингибиторов ПЦР в образце. В 92% случаев образцы не содержали ингибиторов ПЦР и имели концентрацию фрагментов ДНК, пригодную для ПЦР. Далее с использованием коммерческих наборов Инсайдер NRAS-3, Инсайдер KRAS-2 (StepOne Plus, Евроген Лаб, г. Москва, Россия) определяли наличие мутаций RAS. Для анализа мутации гена *BRAF(V600E)* в образцах ДНК опухоли использован набор производства «Синтол» (г. Москва, Россия). Для анализа транскриптов сразу же после выделения проводили постановку реакции обратной транскрипции. Количественную ПЦР в реальном времени проводили в триплетах на амплификаторе CFX-96 BioRad (США) с использованием интеркалирующего красителя Sybr. Последовательности праймеров, синтезированных на базе ООО «Евроген Лаб», приведены в табл. 2. В качестве гена-рефери (house-keeping) использовали ген *GAPDH*. Расчет нормализованной экспрессии исследованных генов относительно гена-рефери проводили с использованием программного обеспечения CFX Manager Bio-Rad Laboratories [16].

Таблица 2

Последовательности праймеров исследованных генов [17]		
Исследуемый ген	Последовательность	Температура отжига праймеров, °C
<i>TGFb1</i>	F5'-CGA CTC GCC AGA GTG GTT AT-3' R 5'-AGT GAA CCC GTT GAT GTC CA-3'	59
<i>CXCL8</i>	F5'-CTC CAA ACC TTT CCA CCC C-3' R5'-GAT TCT TGG ATA CCA CAG AGA ATG-3'	60
<i>GAPDH</i>	F5'-GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC-3' R5'-TGG TGA AGA CGC CAG TGG A-3'	59

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения Statistica 13.0 (StatSoft, США). Сравнение признаков в случае ненормального распределения проводилось с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни, применялся критерий линейной корреляции по Пирсону. Для анализа регрессии общей и безрецидивной выживаемости использовался критерий Кокса и Каплана – Майера. Данные представлены в виде медианы интерквартильного размаха $Me (Q_1-Q_3)$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований установлено, что уровень мРНК TGFb1 в опухоли у пациентов с KPP на II–III стадии не зависит от возраста, наличия мутаций EGFR-сигнального пути (RAS, BRAF). Выраженные отличия по уровню мРНК TGFb1 в опухоли KPP выявлены при низкой дифференцировке опухоли (табл. 3).

Выявлена положительная сильная корреляционная связь по Пирсону между уровнем транскриптов TGFb1 и CXCL8 во всех образцах опухоли KPP ($r = 0,730$; $Rho = 0,852$; $p = 0,00001$) (рис. 1).

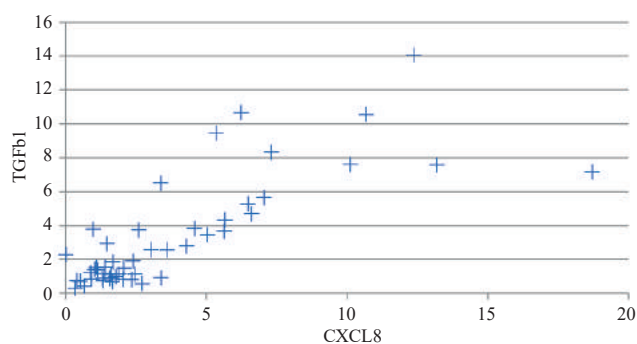


Рис. 1. Диаграмма рассеивания (линейная корреляция по Пирсону) значений мРНК TGFb1 и CXCL-8 в опухоли у пациентов с колоректальным раком

Таблица 3

Уровень транскриптов генов <i>TGFb1</i> , <i>CXCL8</i> в FFPE-образцах опухоли колоректального рака, <i>Me (Q₁–Q₃)</i>		
Параметр	Нормализованная экспрессия <i>TGFb1</i> в образцах ткани колоректального рака	Нормализованная экспрессия <i>CXCL8</i> в образцах ткани колоректального рака
Возраст пациента: – старше 55 лет; – младше 55 лет	1,845 (0,910–3,906) 2,702 (0,895–4,145) $p = 0,690$	1,968 (1,127–5,114) 2,210 (1,549–4,997) $p = 0,560$
Стадия: – II – III	2,558 (1,427–7,167) 1,490 (0,867–3,769) $p = 0,114$	2,446 (1,469–5,348) 2,212 (1,320–5,657) $p = 0,819$
Степень дифференцировки опухоли: – низкая; – умеренная; – высокая	7,168 (4,120–12,553) 2,568 (1,856–6,345) 1,427 (0,809–2,628) $p_1 = 0,035, p_2 = 0,023$	8,770 (1,127–15,114) 2,262 (1,454–6,872) 1,408 (0,849–2,997) $p_1 = 0,004, p_2 = 0,012$
Наличие мутаций EGFR-сигнального пути (RAS, BRAF): – есть мутация; – отсутствует мутация в опухоли	1,630 (0,840–3,843) 2,578 (1,12–4,411) $p = 0,371$	1,597 (1,107–3,224) 2,822 (1,647–5,294) $p = 0,246$

Примечание. Использован непараметрический критерий Манна – Уитни; оценены различия между двумя независимыми группами, статистически значимые отличия при $p \leq 0,05$.

Установлено, что экспрессия *TGFb1* в опухоли существенно отличается в группах пациентов с КРР в зависимости от ответа на стандартную химиотерапию. В группе пациентов с прогрессированием заболевания на фоне ХТ уровень мРНК *TGFb1* был выше, чем в группе пациентов КРР с рецидивом заболевания (в течение 6–16 мес после окончания ХТ – II группа) и группе без рецидива (более 2 лет) – I группа ($p_1 = 0,009$; $p_2 = 0,0007$). Сходная ситуация прослеживается и при анализе уровня мРНК *CXCL8* (рис. 2). Гиперэкспрессия *CXCL8* в опухоли КРР наблюдается в группе пациентов с прогрессированием заболевания (III группа) ($p_1 = 0,0008$; $p_2 = 0,001$).

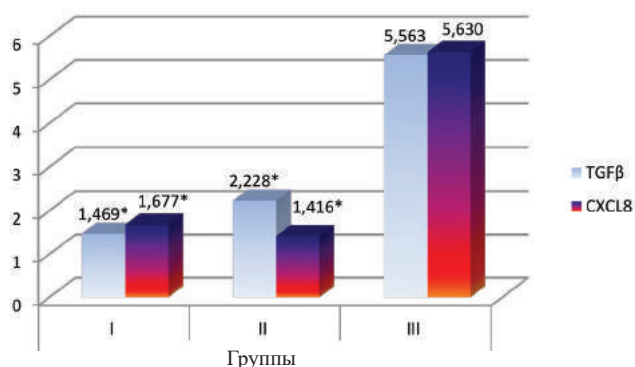


Рис. 2. Уровень транскрипта *TGFb1* и *CXCL8* в опухоли у больных колоректальным раком с разным ответом на химиотерапию: * данные статистически значимо отличаются от таковых в III группе ($p \leq 0,05$)

Регрессионный анализ с применением критерия Кокса показал, что время без прогрессирования (ВБП) зависит от экспрессии *TGFb1* в первичной опухоли ($\chi^2 = 8,158$; $p = 0,0043$). Анализ безрецидивной выживаемости пациентов с КРР по критерию Каплана – Майера также показал влияние экспрессии *TGFb1* на длительность ВБП. В группе пациентов с экспрессией *TGFb1* в опухоли выше значений 2 (группа I), медиана наблюдения составила 11,3 мес против 62,9 мес (группа 0) (log-rank-test, $p = 0,041$) (рис. 3).

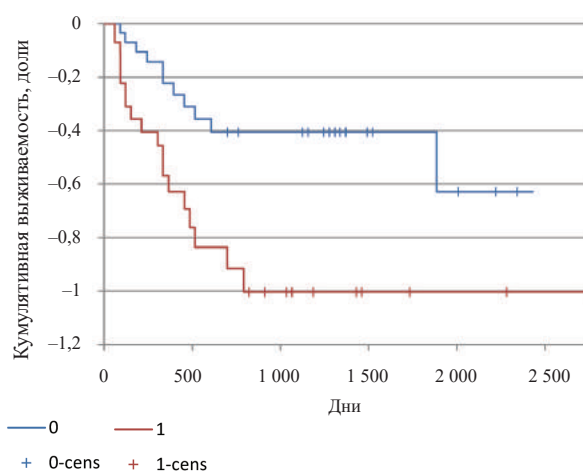


Рис. 3. Кривая времени без прогрессирования пациентов с колоректальным раком в зависимости от экспрессии *TGFb1* в опухоли

ОБСУЖДЕНИЕ

Возможное объяснение неоднозначного и двоякого функционирования TGFb1 в процессах злокачественной трансформации и опухолевой прогрессии заключается в том, что помимо двух основных путей, в которых задействован TGFb [18], цитокин участвует в ряде сигнальных каскадов, связи между которыми реализуются через активацию TGFb-EGFR белков [19, 20]. Во время прогрессирования KPP происходит связанная с мутациями инактивация сигнального пути TGFb1. Полагают, что TGFb1 ингибирует опухоль в кишечнике благодаря инактивации TGFb-рецепторов (TGFb-R1 и R2) или внутриклеточных медиаторов SMAD (SMAD 2, 3 и 4) [21]. Клетки, в которых отсутствуют сигналы от TGFb1, усиливают выработку провоспалительных цитокинов и вызывают тем самым трансформацию эпителия толстой кишки [22, 23].

Полученные нами данные о повышении экспрессии мРНК TGFb в группе прогрессирования заболевания (III группа) при снижении дифференцировки опухоли подтверждают результаты исследований А. Calon и соавт. (2012) о преимущественном рецидивировании, более поздней стадии и снижении выживаемости больных с опухолями толстого кишечника [24]. Потеря способности к подавлению роста (III группа), сопровождающая гиперэкспрессию *TGFb*, обуславливает селективный отбор клеток для выживания при KPP. В свою очередь, секреция хемокинов в опухоли активирует иммунную инфильтрацию ткани, способствует миграции канцерогенных клеток к сосудам, ускоряя процесс ангиогенеза. Наблюдаемая нами коэкспрессия генов *TGFb1* и *CXCL8* в образцах опухоли KPP может свидетельствовать о взаимосвязи факторов, участвующих в контроле пролиферации (TGFb1) и провоспалительной реакции микроокружения, в частности CXCL8, при прогрессировании KPP [24]. Более короткий безрецидивный период на фоне ХТ у пациентов с гиперэкспрессией *TGFb1* и *CXCL8* можно объяснить тем, что TGFb1 защищает опухолевые клетки от апоптоза, активируя сигнальный путь Erk [25].

Таким образом, нами установлены значительные отличия уровня экспрессии *TGFb1* и *CXCL8* в опухолевой ткани пациентов с KPP в группах в зависимости от ответа на ХТ, от дифференцировки опухоли и длительности безрецидивного периода на фоне ХТ по схеме FOLFOX/XELOX.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гиперэкспрессия *TGFb1* и *CXCL8*, участвующих в реализации механизмов опухоль-ассоциированного воспаления, может рассматриваться как негатив-

ный фактор прогноза времени без прогрессирования при использовании стандартной схемы FOLFOX/XELOX лечения KPP.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Dekker E., Tanis P.J., Vleugels J.L.A., Kasi P.M., Wallace M.B. Colorectal cancer. *Lancet*. 2019;394(10207):1467–1480. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0.
2. Mizutani J., Tokuda H., Matsushima-Nishiwaki R., Kato K., Kondo A., Natsume H. et al. Involvement of AMP-activated protein kinase in TGF- β -stimulated VEGF synthesis in osteoblasts. *Int. J. Mol. Med.* 2012;29(4):550–556. DOI: 10.3892/ijmm.2012.893.
3. Lampropoulos P., Zizi-Sermpetzoglou A., Rizos S., Kostakis A., Nikiteas N., Papavassiliou A.G. TGF-beta signalling in colon carcinogenesis. *Cancer Lett.* 2012;314(1):1–7. DOI: 10.1016/j.canlet.2011.09.041.
4. Colak S., Ten Dijke P. Targeting TGF- β signaling in cancer. *Trends Cancer.* 2017;3(1):56–71. DOI: 10.1016/j.trecan.2016.11.008.
5. Xu X., Zhang L., He X., Zhang P., Sun C., Xu X. et al. TGF- β plays a vital role in triple-negative breast cancer (TNBC) drug-resistance through regulating stemness, EMT and apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018;502(1):160–165. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.05.139.
6. Latifi Z., Nejabati H.R., Abroon S., Mihanfar A., Farzadi L., Hakimi P. et al. Dual role of TGF- β in early pregnancy: clues from tumor progression. *Biol. Reprod.* 2019;100(6):1417–1430. DOI: 10.1093/biolre/iox024.
7. Neuzillet C., Tijeras-Raballand A., Cohen R., Cros J., Faivre S., Raymond E. et al. Targeting the TGF β pathway for cancer therapy. *Pharmacol. Ther.* 2015;147:22–31. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.11.001.
8. Tauriello D.V.F., Palomo-Ponce S., Stork D., Berenguer-Llergo A., Badia-Ramentol J., Iglesias M. et al. TGF β drives immune evasion in genetically reconstituted colon cancer metastasis. *Nature.* 2018;554(7693):538–543. DOI: 10.1038/nature25492.
9. Aschner Y., Downey G.P. Transforming growth factor- β : master regulator of the respiratory system in health and disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2016;54(5):647–655. DOI: 10.1165/rcmb.2015-0391TR.
10. Ioannou M., Kouvaras E., Papamichali R., Samara M., Chiotoglou I., Koukoulis G. Smad4 and epithelial-mesenchymal transition proteins in colorectal carcinoma: an immunohistochemical study. *J. Mol. Histol.* 2018;49(3):235–244. DOI: 10.1007/s10735-018-9763-6.
11. Rao C., Lin S.L., Wen H., Deng H. Crosstalk between canonical TGF- β /Smad and Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2013;42(5):591–596. DOI: 10.3785/j.issn.1008-9292.2013.05.019.
12. Ning Y., Lenz H.J. Targeting IL-8 in colorectal cancer. *Expert Opin. Ther. Targets.* 2012;16(5):491–497. DOI: 10.1517/14728222.2012.677440.
13. Asfaha S., Dubeykovskiy A.N., Tomita H., Yang X., Stokes S., Shibata W. et al. Mice that express human interleukin-8 have

- increased mobilization of immature myeloid cells, which exacerbates inflammation and accelerates colon carcinogenesis. *Gastroenterology*. 2013;144(1):155–166. DOI: 10.1053/j.gastro.2012.09.057.
14. Long X., Ye Y., Zhang L., Liu P., Yu W., Wei F. et al. IL-8, a novel messenger to cross-link inflammation and tumor EMT via autocrine and paracrine pathways (Review). *Int. J. Oncol.* 2016;48(1):5–12. DOI: 10.3892/ijo.2015.3234.
 15. Zhang M., Fang T., Wang K., Mei H., Lv Z., Wang F. et al. Association of polymorphisms in interleukin-8 gene with cancer risk: a meta-analysis of 22 case-control studies. *Onco. Targets Ther.* 2016;9:3727–737. DOI: 10.2147/OTT.S103159.
 16. Ramezani A. CtNorm: Real time PCR cycle of threshold (Ct) normalization algorithm. *J. Microbiol. Methods*. 2021;187:106267. DOI: 10.1016/j.mimet.2021.106267.
 17. Wei W., Kong B., Qu X. Alteration of HGF and TGFβ1 expression in ovarian carcinoma associated with clinical features. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2012;38(1):57–64. DOI: 10.1111/j.1447-0756.2011.01695.x.
 18. Luo K. Signaling cross talk between TGF-β/Smad and other signaling pathways. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2017;9(1):a022137. DOI: 10.1101/cshperspect.a022137.
 19. Zhang Y.E. Non-Smad signaling pathways of the TGF-β family. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2017;9(2):a022129. DOI: 10.1101/cshperspect.a022129.
 20. Lee S., Heinrich E.L., Lu J., Lee W., Choi A.H., Luu C. et al. Epidermal growth factor receptor signaling to the mitogen activated protein kinase pathway bypasses ras in pancreatic cancer cells. *Pancreas*. 2016;45(2):286–292. DOI: 10.1097/MPA.0000000000000379.
 21. Bellam N., Pasche B. Tgf-beta signaling alterations and colon cancer. *Cancer Treat Res.* 2010;155:85–103. DOI: 10.1007/978-1-4419-6033-7_5.
 22. Yu M., Trobridge P., Wang Y., Kannigurn S., Morris S.M., Knoblauch S. et al. Inactivation of TGF-β signaling and loss of PTEN cooperate to induce colon cancer *in vivo*. *Oncogene*. 2014;33(12):1538–1547. DOI: 10.1038/ncr.2013.102.
 23. Djaldetti M., Bessler H. Modulators affecting the immune dialogue between human immune and colon cancer cells. *World J. Gastrointest. Oncol.* 2014;6(5):129–138. DOI: 10.4251/wjgo.v6.i5.129.
 24. Calon A., Espinet E., Palomo-Ponce S., Tauriello D.V., Iglesias M., Céspedes M.V. et al. Dependency of colorectal cancer on a TGF-β-driven program in stromal cells for metastasis initiation. *Cancer Cell*. 2012;22(5):571–584. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.08.013.
 25. Malki A., ElRuz R.A., Gupta I., Allouch A., Vranic S., Al Moustafa A.E. Molecular mechanisms of colon cancer progression and metastasis: recent insights and advancements. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;22(1):130. DOI: 10.3390/ijms22010130.

Вклад авторов

Богомолова И.А. – подбор клинической базы для анализа. Антонеева И.И. – разработка концепции и дизайна. Мягдиева И.Р., Абакумова Т.В. – анализ и интерпретация данных. Долгова Д.Р. – обоснование рукописи или проверка критически важного интеллектуального содержания. Песков А.Б. – подборка методов статистического анализа. Генинг Т.П. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Богомолова Ирина Александровна – ассистент, кафедра физиологии и патофизиологии, Институт медицины, экологии и физической культуры, УлГУ, г. Ульяновск; зав. химиотерапевтическим отделением, ФНКЦРиО ФМБА России, г. Димитровград, 73bogomolova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3331-8632>

Долгова Динара Ришатовна – доцент, канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии и патофизиологии, Институт медицины, экологии и физической культуры, УлГУ, г. Ульяновск, dolgova.dinara@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5475-7031>

Антонеева Инна Ивановна – д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры онкологии и лучевой диагностики, Институт медицины, экологии и физической культуры, УлГУ; зав. гинекологическим отделением, ОКОД, г. Ульяновск, aai72@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1525-2070>

Абакумова Татьяна Владимировна – доцент, канд. биол. наук, доцент кафедры физиологии и патофизиологии, Институт медицины, экологии и физической культуры, УлГУ, г. Ульяновск, taty-abakumova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7559-5246>

Мягдиева Ильсея Ринатовна – ассистент, аспирант, кафедра физиологии и патофизиологии, Институт медицины, экологии и физической культуры, УлГУ, г. Ульяновск, ilseya2015@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3908-0840>

Песков Андрей Борисович – д-р мед. наук, профессор, декан факультета последипломного медицинского и фармацевтического образования, Институт медицины, экологии и физической культуры, УлГУ, г. Ульяновск, abp_sim@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7323-9934>

Генинг Татьяна Петровна – д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой физиологии и патофизиологии, УлГУ, г. Ульяновск, Naum-53@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5117-1382>

(✉) **Богомолова Ирина Александровна**, 73bogomolova@gmail.com

Поступила в редакцию 21.03.2022;
одобрена после рецензирования 18.05.2022;
принята к публикации 08.09.2022

УДК 616.131:616.12-008.331.1]-021.6-085
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-14-22>

Фармакологические эффекты нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы при экспериментальной легочной артериальной гипертензии

Быков В.В.^{1,2}, Быкова А.В.², Станкевич С.А.², Алиев О.И.³, Сидехменова А.В.³,
Дунаева О.И.³, Хазанов В.А.², Венгеровский А.И.¹, Удуд В.В.³

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² ООО «Инновационные Фармакологические Разработки» (ООО «Ифар»)
Россия, 634021, г. Томск, ул. Елизаровых 79/4

³ Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины (НИИФиРМ)
им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ)
Российской академии наук
Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – изучить влияние GRS на сократительную активность правого желудочка сердца, вазодилатирующую функцию эндотелия и гистологические изменения в легких и сердце на модели легочной гипертензии, вызванной введением монокроталина у крыс.

Материалы и методы. У самцов крыс линии Wistar воспроизводили легочную артериальную гипертензию (ЛАГ) однократным подкожным введением монокроталина в дозе 60 мг/кг. Начиная с 15-х сут после моделирования ЛАГ крысам в течение 14 сут вводили в желудок соединение GRS в дозе 10 мг/кг или риоцигуат в дозе 1 мг/кг. После последнего введения веществ измеряли давление крови в правом желудочке сердца, массу правого желудочка, оценивали вазодилатирующую функцию эндотелия и изучали гистологическое строение легких и сердца.

Результаты. Через 28 сут после введения монокроталина у крыс развивалась модель ЛАГ: повышались максимальное давление крови в правом желудочке сердца и отношение массы стенки правого желудочка к массе сердца. Соединение GRS при курсовом введении уменьшало максимальное давление крови в правом желудочке сердца, не оказывало статистически значимого влияния на его сократительную активность, улучшало вазодилатирующую функцию эндотелия, нормализовало системное артериальное давление. Риоцигуат оказывал гипотензивный эффект и не устранял дисфункцию эндотелия при экспериментальной легочной артериальной гипертензии.

Заключение. Стимуляторы растворимой гуанилатциклазы, производное индолинона GRS и риоцигуат снижают давление крови в правом желудочке сердца, соединение GRS устраняет проявления эндотелиальной дисфункции у животных с моделью ЛАГ.

Ключевые слова: модель легочной артериальной гипертензии, стимуляторы растворимой гуанилатциклазы, производное индолинона GRS, риоцигуат

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке АО «Органика» и фонда «Сколково» (соглашение № Г 38/20 от 17.11.2020).

✉ Быков Владимир Валерьевич, preclin5_dep@iphar.ru

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальными этическими комитетами СибГМУ (протокол № 5378 от 24.10.2016), ООО «Ифар» (протокол № 113/2019 от 28.09.2021) и НИИФиРМ Томского НИМЦ (протокол № 185092021 от 11.10.2021).

Для цитирования: Быков В.В., Быкова А.В., Станкевич С.А., Алиев О.И., Сидехменова А.В., Дунаева О.И., Хазанов В.А., Венгеровский А.И., Удут В.В. Фармакологические эффекты нового стимулятора растворимой гуанилатциклазы при экспериментальной легочной артериальной гипертензии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):14–22. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-14-22>.

Pharmacological effects of a new soluble guanylate cyclase stimulator in experimental pulmonary arterial hypertension

Bykov V.V.^{1,2}, Bykova A.V.², Stankevich S.A.², Aliev O.I.³, Sidekhmenova A.V.³, Dunaeva O.I.³, Khazanov V.A.², Vengerovskii A.I.¹, Uдут V.V.³

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Innovative Pharmacology Research LLC (IPHAR LLC)

79/4, Elizarovskiy Str., Tomsk, 634021, Russian Federation

³ Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences (RAS)

3, Lenina Av., Tomsk, 634028, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the effect of an indolinone derivative (2-[2-[(5RS)-5-(hydroxymethyl)-3-methyl-1,3-oxazolidine-2-yliden]-2-cyanoethylidene]-1H-indole-3(2H)-one (codename – GRS) on right ventricular contractility, endothelial vasodilator function, and histologic changes in the lungs and heart in a rat model of monocrotaline-induced pulmonary hypertension.

Materials and methods. Pulmonary arterial hypertension (PAH) was induced in Wistar rats by a single subcutaneous administration of monocrotaline at a dose of 60 mg / kg. Starting from day 15 after PAH induction, the rats received either GRS at a dose of 10 mg / kg or riociguat at a dose of 1 mg / kg orally once a day. Blood pressure in the right ventricle, right ventricular weight, endothelial vasodilator function, and the histologic structure of the lungs and heart were studied after the last administration of test substances.

Results. Twenty-eight days after monocrotaline administration, the rats developed PAH, as shown by the increase in the maximal blood pressure in the right ventricle and the right ventricular weight / total heart weight ratio. GRS after multiple administration reduced the maximal blood pressure in the right ventricle, had no significant effect on its contractility, improved endothelial vasodilator function, and normalized blood pressure. Riociguat had a hypotensive effect and did not alleviate endothelial dysfunction in experimental PAH.

Conclusion. The indolinone derivative GRS and riociguat, both soluble guanylate cyclase stimulators, lowered blood pressure in the right ventricle. GRS also alleviated endothelial dysfunction in animals with experimental PAH.

Keywords: pulmonary arterial hypertension model, soluble guanylate cyclase stimulators, indolinone derivative GRS, riociguat

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 with the financial support of JSC Organika and the Skolkovo Foundation (Grant Agreement No. Г 38/20 of 17.11.2020).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Siberian State Medical University (Protocol No. 5378 of 24.10.2016), IPHAR LLC (Protocol No. 113/2019 of 28.09.2021), and the Bioethics Committee at Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMC (Protocol No. 185092021 of 11.10.2021).

For citation: Bykov V.V., Bykova A.V., Stankevich S.A., Aliev O.I., Sidekhmenova A.V., Dunaeva O.I., Khazanov V.A., Vengerovskii A.I., Uduv V.V. Pharmacological effects of a new soluble guanylate cyclase stimulator in experimental pulmonary arterial hypertension. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):14–22. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-14-22>.

ВВЕДЕНИЕ

При легочной артериальной гипертензии (ЛАГ) среднее давление в малом круге кровообращения повышается до ≥ 25 мм рт. ст., в легочной артерии возникает гиперплазия эндотелия и гладкомышечных клеток, в легких формируются периваскулярные воспалительные инфильтраты и фиброз, развивается гипертрофия правого желудочка сердца [1].

Одним из пусковых механизмов развития ЛАГ является дисфункция эндотелия сосудов легких с уменьшением продукции сосудорасширяющих и антитромботических факторов – оксида азота (NO) и простациклина [2]. При дефиците NO нарушаются активация растворимой гуанилатциклазы (pГЦ) гладких мышц сосудов и биосинтез вторичного мессенджера – циклического 3',5'-гуанозинмонофосфата (цГМФ) [3, 4]. Для лечения ЛАГ и хронической тромбоэмболической легочной гипертензии у людей старше 18 лет применяют независимый от NO стимулятор pГЦ риоцигуат. Он увеличивает чувствительность гема pГЦ к низким концентрациям NO за счет стабилизации связи NO–pГЦ и повышает продукцию цГМФ. Этот циклический нуклеотид активирует кальцийзависимую АТФазу саркоплазматического ретикулума гладких мышц сосудов, что сопровождается депонированием ионов кальция, расширением сосудов легких, улучшением легочного кровотока и функций легких [5].

Новое производное индолинона 2-[2-[(5RS)-5-(гидроксиметил)-3-метил-1,3-оксазолидин-2-илиден]-2-цианоэтилиден]-1H-индол-3(2H)-она (шифр – GRS) повышает активность pГЦ без участия NO, оказывает антиагрегантное действие, уменьшает только повышенное артериальное давление и восстанавливает функции эндотелия при их нарушении [6, 7].

Цель исследования – изучить влияние GRS на сократительную активность правого желудочка сердца, вазодилатирующую функцию эндотелия и гистологические изменения в легких и сердце на модели легочной гипертензии, вызванной введением монокроталина у крыс.

В работе исследовано влияние соединения GRS на давление крови в правом желудочке сердца, функции эндотелия, гистологическое строение легких и сердца при модели ЛАГ, вызванной у крыс введением монокроталина – пирролизидинового алкалоида

кроталирии нарядной. Образующийся в печени его активный метаболит монокроталинпиррол активизирует чувствительный к кальцию внеклеточный рецептор эндотелия легочных сосудов, связывается с ДНК, останавливает деление клеток, повышает проницаемость мембран, вызывает апоптоз эндотелия легочных сосудов и альвеолоцитов [8–10]. В качестве препарата сравнения использовали риоцигуат.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 60 самцах крыс линии Wistar массой тела 250–320 г, полученных из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ Томского НИМЦ. Крыс размещали по 5–8 особей в стандартных пластиковых клетках фирмы VELAZ (Чехия) при температуре воздуха 20–23 °С, влажности не более 50%, объеме воздухообмена (вытяжка : приток) 8 : 10, световом режиме (день : ночь) 1 : 1. Содержание животных и уход за ними осуществляли в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Директива 2010/63/EU). Исследование проведено с соблюдением принципов и правил надлежащей лабораторной практики, одобрено этическими комитетами Сибирского государственного медицинского университета (протокол № 5378 от 24.10.2016), ООО «Ифар» (протокол № 113/2019 от 28.09.2021) и НИИФиРМ Томского НИМЦ (протокол № 185092021 от 11.10.2021).

Крыс разделяли на четыре группы: группа 1 – интактные животные ($n = 12$), группы 2–4 – животные с моделью ЛАГ ($n = 16$ в каждой группе), из них животные контрольной группы 2 не получали исследуемые вещества, животные группы 3 получали соединение GRS, животным группы 4 вводили препарат сравнения риоцигуат (Selleckchem, США).

Для моделирования ЛАГ крысам однократно вводили под кожу монокроталин (Sigma-Aldrich, США) в дозе 60 мг/кг. Монокроталин растворяли в 0,5 н HCl, затем pH доводили до 7,4 с помощью 0,5 н NaOH [11].

Производное индолинона GRS в дозе 10 мг/кг и риоцигуат в дозе 1 мг/кг в форме суспензии в 1%-й крахмальной слизи вводили в желудок 1 раз/сут ежедневно в течение 14 сут, начиная с 15-х сут после введения монокроталина. Доза соединения GRS

близка ED_{50} по антитромботической активности и была установлена в предварительно проведенных экспериментах [6]. Доза риоцигуата (1 мг/кг) близка верхней границе диапазона доз (0,03–3 мг/кг), в которых это лекарственное средство оказывает антигипертензивное действие. Интактные животные и крысы контрольной группы получали 1%-ю крахмальную слизь по той же схеме, что и исследуемые вещества.

На 28-е сут после моделирования ЛАГ у половины крыс каждой группы измеряли давление крови в правом желудочке сердца, его массу и изучали гистологическое строение легких и правого желудочка. У другой половины животных исследовали изменение артериального давления в ответ на введение эндотелий-зависимых и эндотелий-независимых вазодилаторов.

Давление крови в правом желудочке измеряли с помощью высокоскоростной системы сбора и анализа данных MP150 (BiopacSystems Inc., США) и блока для регистрации давления с микродатчиком TSD282 (OpSens, Канада). Крысам под ингаляционным наркозом изофлураном через яремную вену вводили в правый желудочек сердца микродатчик давления. Данные записывали и обрабатывали на компьютере с помощью программы AcqKnowledge 4.2 для MP150 (Biopac, США). Определяли максимальное ($P_{\max}$) и минимальное ($P_{\min}$) давление крови в правом желудочке сердца в мм рт. ст. и максимальную скорость изменения давления на протяжении одного цикла сокращения сердца ($dP/dt_{\max}$) в мм рт. ст./с, рассчитывали сократительный индекс (CI, 1/с).

Крыс после регистрации давления крови в правом желудочке сердца выводили из эксперимента в камеру, заполненной углекислым газом. Определяли массу сердца и стенки правого желудочка. Степень гипертрофии правого желудочка рассчитывали в мг/мг как отношение массы стенки правого желудочка к массе сердца (МПЖ/МС).

Для оценки функционального состояния эндотелия крысам под наркозом изофлураном в правую сонную артерию имплантировали катетер с целью регистрации артериального давления. Фармакологические агенты вливали в правую бедренную вену в виде болюса. Среднее артериальное давление (САД) регистрировали непрерывно с помощью высокоскоростной системы сбора и обработки данных MP150, блока усиления DA100C и датчика TSD104A (программное обеспечение Acqknowledge 4.2.0, США). Эндотелий-зависимое расширение сосудов регистрировали по снижению САД в ответ на внутривенное введение ацетилхолина хлорида (АХ) в дозе 5 мкг/кг [12], эндотелий-независимое – как реакцию

САД на вливание нитропрусида натрия дигидрата (НП) в дозе 10 мкг/кг [13]. Степень расширения сосудов оценивали по площади треугольника над кривой восстановления САД при введении АХ или НП, при этом меньший катет представляет собой величину снижения САД (Δ САД) в ответ на введение сосудорасширяющего средства (мм рт. ст.), больший – время восстановления САД после проведения пробы (с). Вычисляли коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) как отношение площади треугольника над кривой восстановления САД после введения НП к площади треугольника над соответствующей кривой после введения АХ [14].

Ткани легких и правого желудочка сердца исследовали гистологически на депарафинированных срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Гистологические препараты просматривали с помощью светоптического микроскопа Axio Lab A1 (Carl Zeiss, Германия) при $\times 50$ и фотографировали с использованием программы ZEN (Carl Zeiss, Германия).

Результаты обрабатывали статистически с помощью программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США). Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартная ошибка среднего значения. Для множественного сравнения применяли критерий Краскела – Уоллиса, для межгруппового – критерий Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В правом желудочке сердца интактных животных $P_{\max}$ составляло $24,0 \pm 2,9$ мм рт. ст., $P_{\min}$ $-3,3 \pm 1,1$ мм рт. ст. Показатели $dP/dt_{\max}$ и CI были равны, соответственно, $53,7 \pm 4,4$ мм рт. ст./с и 596 ± 76 1/с (табл. 1). Эти значения не отличаются от нормальных [15, 16].

Через 4 нед после введения монокроталина (контроль) $P_{\max}$ в правом желудочке сердца крыс возрастало в 1,5 раза, что свидетельствует о развитии модели ЛАГ. $P_{\min}$ снижалось в 1,7 раза по сравнению с давлением крови у интактных животных. Показатель $dP/dt_{\max}$ повышался в 1,8 раза ($p < 0,05$). Сократительный индекс CI регистрировался таким же, как у интактных крыс. Данные факты указывают на компенсаторное усиление сердечных сокращений.

После курсового введения соединения GRS $P_{\max}$ в правом желудочке сердца составляло $42,6 \pm 3,1$ мм рт. ст. и было значительно ниже, чем при экспериментальной ЛАГ ($p < 0,05$), хотя полностью не нормализовалось. $P_{\min}$ составляло $-3,4 \pm 0,8$ мм рт. ст., было в 1,6 раза меньше давления в контроле и не отличалось от давления у интактных крыс. Показатели CI и $dP/dt_{\max}$ статистически значимо не отличались от показателей при модели ЛАГ.

Таблица 1

Влияние соединения GRS (10 мг/кг) и риоцигуата (1 мг/кг) на давление крови в правом желудочке сердца крыс с моделью ЛАГ, $M \pm m$				
Группа животных	$P_{\max}$, мм рт. ст.	$P_{\min}$, мм рт. ст.	CI, 1/с	$dP/dt_{\max}$, мм рт. ст./с
Интактные крысы, $n = 6$	$24,0 \pm 2,3$	$-3,3 \pm 1,1$	$53,7 \pm 4,4$	596 ± 76
Крысы с моделью ЛАГ (контроль), $n = 8$	$54,3 \pm 3,2^*$	$-5,6 \pm 0,3^*$	$45,6 \pm 1,4$	$1\,082 \pm 62^*$
Крысы с моделью ЛАГ, получавшие:				
– соединение GRS, $n = 8$	$42,6 \pm 3,1^{*+}$	$-3,4 \pm 0,8^+$	$49,6 \pm 3,6$	$902 \pm 60^*$
– риоцигуат, $n = 8$	$42,1 \pm 4,0^{*+}$	$-3,0 \pm 1,5$	$45,8 \pm 1,5$	$930 \pm 72^*$

$p < 0,05$ по сравнению с показателем: * интактных животных, + контрольных животных.

При курсовом введении риоцигуата крысам с экспериментальной ЛАГ $P_{\max}$ в правом желудочке сердца уменьшалось в 1,3 раза (до $42,1 \pm 4,0$ мм рт. ст.) по сравнению с давлением крови в контрольной группе ($p < 0,05$), но статистически значимо превышало давление у интактных животных. $dP/dt_{\max}$ и CI оставались такими же, как у крыс, получавших только монокроталин. Показатели $P_{\max}$, CI и $dP/dt_{\max}$ при введении соединения GRS и риоцигуата статистически значимо не различались ($p > 0,05$) (см. табл. 1).

Производное индолинона GRS и риоцигуат в равной степени снижали $P_{\max}$ в правом желудочке сердца крыс с моделью ЛАГ. Соединение GRS также нормализовало $P_{\min}$.

У интактных животных индекс МПЖ/МС составлял $0,222 \pm 0,006$ мг/мг, у крыс с моделью ЛАГ он увеличивался в 1,5 раза ($p < 0,05$). Такие изменения свидетельствуют о гипертрофии правого желудочка, развившейся на фоне повышенного артериального давления в малом круге кровообращения. Под влия-

нием соединения GRS и риоцигуата индекс МПЖ/МС оставался повышенным ($p > 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Влияние соединения GRS (10 мг/кг) и риоцигуата (1 мг/кг) на отношение массы правого желудочка к массе сердца у крыс с моделью ЛАГ, $M \pm m$	
Группа животных	МПЖ/МС мг/мг
Интактные крысы, $n = 6$	$0,222 \pm 0,006$
Крысы с моделью ЛАГ (контроль), $n = 8$	$0,332 \pm 0,013^*$
Крысы с моделью ЛАГ, получавшие:	
– соединение GRS, $n = 8$	$0,306 \pm 0,020^*$
– риоцигуат, $n = 8$	$0,314 \pm 0,020^*$

* $p < 0,05$ по сравнению с показателем интактных животных.

У интактных крыс САД в ответ на введение АХ снижалось с 111 ± 4 до 42 ± 2 мм рт. ст., при экспериментальной ЛАГ – с 92 ± 3 до 34 ± 2 мм рт. ст. Такие изменения свидетельствуют об ослаблении реакции сосудов на эндотелийзависимый вазодилатор АХ ($p < 0,05$) (табл. 3).

Таблица 3

Влияние соединения GRS (10 мг/кг) и риоцигуата (1 мг/кг) на вазодилатирующую функцию эндотелия у крыс с моделью ЛАГ, $M \pm m$				
Группа животных	Ацетилхолина хлорид, 5 мкг/кг			
	САД, мм рт. ст.	Δ САД, мм рт. ст.	Время восстановления САД, с	Площадь треугольника над кривой восстановления САД, мм рт. ст. с
Интактные крысы, $n = 6$	111 ± 4	42 ± 2	56 ± 11	$1\,121 \pm 151$
Крысы с моделью ЛАГ (контроль), $n = 8$	$92 \pm 3^*$	$34 \pm 2^*$	58 ± 6	993 ± 115
Крысы с моделью ЛАГ, получавшие:				
– соединение GRS, $n = 8$	102 ± 5	$41 \pm 3^{\#}$	$73 \pm 5^*$	$1\,489 \pm 151^+$
– риоцигуат, $n = 8$	$87 \pm 3^*$	$29 \pm 2^*$	$98 \pm 13^+$	$1\,467 \pm 228$

Здесь и в табл. 4: $p < 0,05$ по сравнению с показателем: * интактных животных; + контрольных животных; # животных, получавших риоцигуат.

Уменьшение САД в большом круге кровообращения при ЛАГ, вызванной введением монокроталина, отмечается в большинстве исследований [17]. Этот эффект обусловлен снижением сердечного выброса, а также гипоксемией, вызывающей расширение сосудов [18]. Кроме того, при ЛАГ уменьшается

активность ангиотензинпревращающего фермента в легких, что нарушает продукцию ангиотензина II с ослаблением его сосудосуживающего действия [19]. Менее выраженная реакция САД на введение АХ у крыс с моделью ЛАГ подтверждает развитие дисфункции сосудистого эндотелия.

САД и Δ САД у крыс, получавших соединение GRS, были выше значений, регистрируемых при модели ЛАГ, и не отличались от показателей интактных животных. При введении риоцигуата САД и Δ САД оставались такими же, как при модели ЛАГ. Более выраженное чем у риоцигуата влияние соединения GRS на показатель Δ САД при введении АХ, вероятно, обусловлено его способностью увеличивать продукцию NO в эндотелии.

Риоцигуат значительно удлинял время восстановления САД как после введения АХ, так и после введения НП. Соединение GRS замедляло восстановление САД после введения АХ, но в меньшей степени,

чем риоцигуат. Можно предположить, что риоцигуат сильнее стимулирует рГЦ, прочнее связывается с молекулами фермента или больше стабилизирует связь рГЦ–NO [20]. Доказательством эндотелийпротективного влияния соединения GRS служит бо́льшая площадь треугольника над кривой восстановления САД по сравнению с площадью после введения риоцигуата ($p < 0,05$).

В ответ на введение НП САД у интактных животных снижалось с 114 ± 4 до 51 ± 2 мм рт. ст. При модели ЛАГ реакция САД на НП ослаблялась ($p < 0,05$) (табл. 4). Это указывает на уменьшение чувствительности рГЦ к активирующему влиянию NO [20].

Таблица 4

Влияние соединения GRS (10 мг/кг) и риоцигуата (1 мг/кг) на эндотелиальную дисфункцию у крыс с моделью ЛАГ, $M \pm m$					
Группа животных	Нитропрусида натрия дигидрат, 10 мкг/кг				КЭД
	САД, мм рт. ст.	Δ САД, мм рт. ст.	Время восстановления САД, с	Площадь, треугольника над кривой восстановления САД, мм рт. ст. с	
Интактные крысы, $n = 6$	114 ± 4	51 ± 2	80 ± 11	$2\,000 \pm 244$	$1,80 \pm 0,06$
Крысы с моделью ЛАГ (контроль), $n = 8$	$97 \pm 2^*$	$44 \pm 1^*$	99 ± 7	$2\,169 \pm 158$	$2,36 \pm 0,27$
Крысы с моделью ЛАГ, получавшие:					
– соединение GRS, $n = 8$	103 ± 5	$45 \pm 4^{\#}$	$105 \pm 10^{\#}$	$2\,388 \pm 340$	$1,59 \pm 0,13^+$
– риоцигуат, $n = 8$	$88 \pm 4^{++}$	$31 \pm 2^{++}$	$178 \pm 15^{++}$	$2\,833 \pm 398$	$2,20 \pm 0,37$

Производное индолинона GRS при курсовом введении в дозе 10 мг/кг крысам с моделью ЛАГ не уменьшало САД ниже давления, регистрируемого у интактных животных. В этом эксперименте показатель Δ САД после введения НП не нормализовался, но и не становился меньше, чем у интактных животных. Соединение GRS обладает антигипертензивным действием, при этом не снижает нормальное артериальное давление и способствует сохранению его регуляции вследствие активации окисленной формы рГЦ. Коэффициент эндотелиальной дисфункции уменьшался по сравнению с показателем при модели ЛАГ (см. табл. 4).

Риоцигуат как вещество с гипотензивным эффектом [5] снижал САД и Δ САД в ответ на введение НП ($p < 0,05$). Вероятно, в условиях развившейся гипоксемии и эндотелиальной дисфункции часть молекул рГЦ утратила гем и перешла в окисленную форму, которую риоцигуат не стимулирует [20].

На гистологических препаратах выявлено, что в легких животных с моделью ЛАГ межальвеолярные перегородки значительно утолщались и были склерозированы. Альвеолы деформировались,

альвеолоциты 2-го типа и гладкие мышцы пролиферировали. В просвете альвеол разрасталась грануляционная ткань. В легочных артериях возникали гиперплазия клеток эндотелия и гипертрофия гладких мышц. Такие изменения в ткани легких соответствуют гистологической картине интерстициальной пневмонии (рис. 1). В миокарде правого желудочка сердца развивались очаговая гипертрофия кардиомиоцитов и интерстициальный продуктивный миокардит (рис. 2).

При введении соединения GRS и риоцигуата в легких крыс с моделью ЛАГ значительно уменьшалась толщина межальвеолярных перегородок, альвеолы расправлялись, характеризовались нормальной воздушностью. В альвеолах была менее выражена пролиферация альвеолоцитов 2-го типа и гладких мышц. Эндотелий и гладкие мышцы артерий легких не пролиферировали (см. рис. 1). При введении соединения GRS в миокарде уменьшалась воспалительная инфильтрация, но сохранялась гипертрофия кардиомиоцитов. Риоцигуат не влиял на нарушения в миокарде, возникшие при модели ЛАГ (рис. 2).

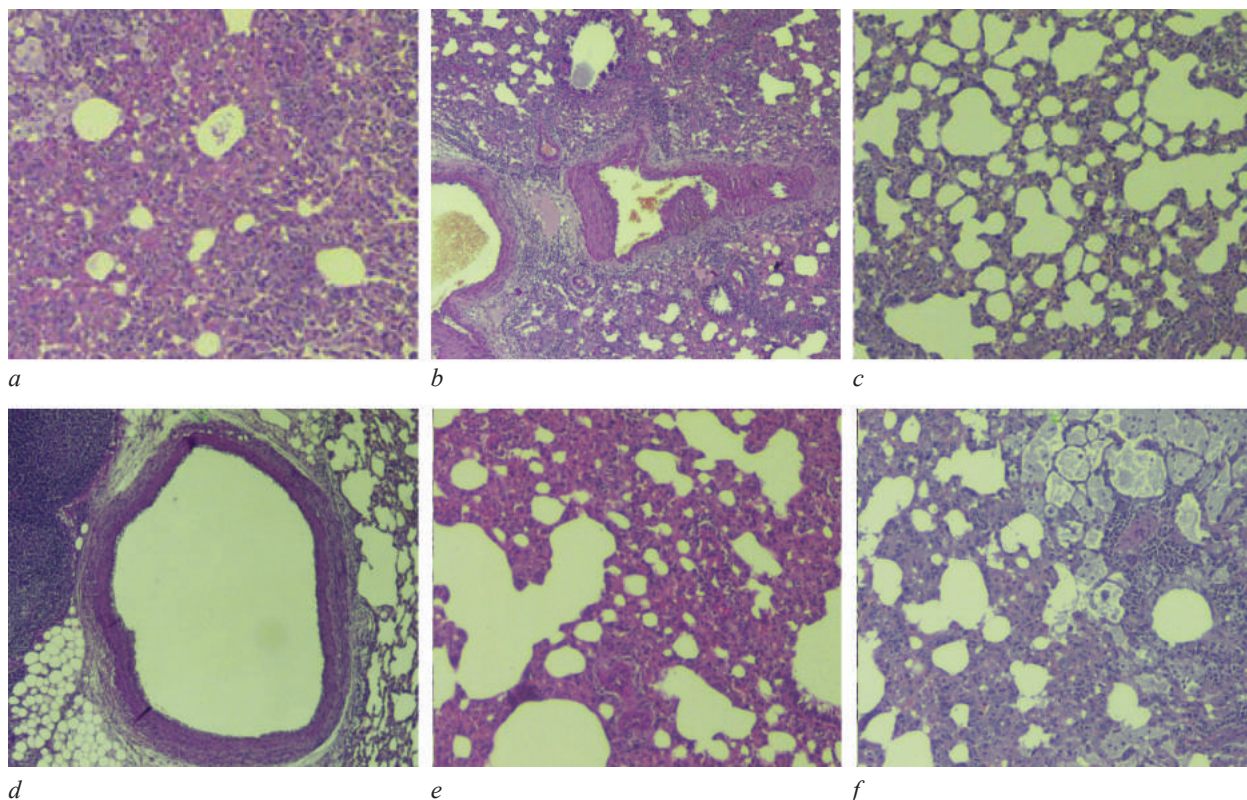


Рис. 1. Гистологические изменения в легких крыс с моделью ЛАГ (a, b) и введение соединения GRS в дозе 10 мг/кг (c, d) и риоцигуата в дозе 1 мг/кг (e, f). Здесь и на рис. 2: окраска гематоксилином и эозином, $\times 50$

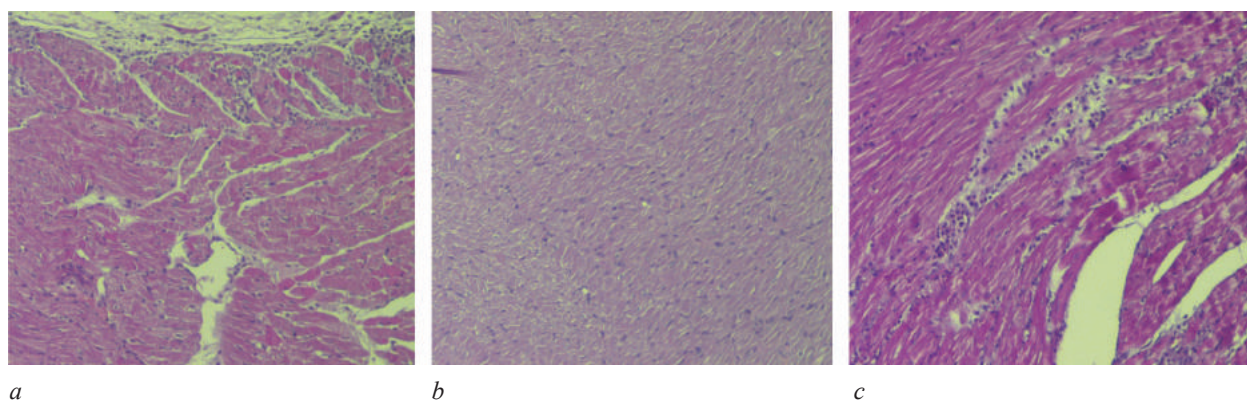


Рис. 2. Гистологические изменения в миокарде правого желудочка крыс с моделью ЛАГ (a) и введение соединения GRS в дозе 10 мг/кг (b) и риоцигуата в дозе 1 мг/кг (c)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема лечения ЛАГ до сих пор остается нерешенной [21]. Используемые для ее терапии блокаторы рецепторов эндотелина, блокаторы кальциевых каналов, препарат простаглицлина илопрост не оказывают эндотелийпротективного действия, могут снижать системное артериальное давление, вызывать кровотечение и другие побочные эффекты. Стимулятор рГЦ риоцигуат применяют как основное средство лечения ЛАГ, но он не устраняет эндотелиальную дисфунк-

цию, может вызывать тахикардию, артериальную гипотензию, анемию [22, 23]. При экспериментальной ЛАГ новое антитромботическое средство стимулятор рГЦ производное индолинона GRS не слабее известного средства терапии ЛАГ риоцигуата уменьшает давление крови в правом желудочке сердца, в отличие от риоцигуата устраняет дисфункцию эндотелия сосудов. Соединение GRS также препятствует ремоделированию сосудов легких.

Полученные данные указывают на перспективность изучения нового антитромботического сред-

ства производного индолинона GRS для профилактики и лечения ЛАГ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Humbert M., Guignabert C., Bonnet S., Dorfmüller P., Klinger J.R., Nicolls M.R. et al. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. *Eur. Respir. J.* 2019;53(1):1801887. DOI: 10.1183/13993003.01887-2018.
- Thenappan T., Ormiston M.L., Ryan J.J., Archer S.L. Pulmonary arterial hypertension: pathogenesis and clinical management. *BMJ.* 2018;360:j5492. DOI: 10.1136/bmj.j5492.
- Hamilos M., Petousis S., Parthenakis F. Interaction between platelets and endothelium: from pathophysiology to new therapeutic options. *Cardiovasc. Diagn. Ther.* 2018;8(5):568–580. DOI: 10.21037/cdt.2018.07.01.
- Makhoul S., Walter E., Pagel O., Walter U., Sickmann A., Gambaryan S. et al. Effects of the NO/soluble guanylate cyclase/cGMP system on the functions of human platelets. *Nitric Oxide.* 2018;76:71–80. DOI: 10.1016/j.niox.2018.03.008.
- Khaybullina D., Patel A., Zerilli T. Riociguat (adempas): a novel agent for the treatment of pulmonary arterial hypertension and chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *P.T.* 2014;39(11):749–758.
- Быков В.В., Чернышева Г.А., Смольякова В.И., Серебров В.Ю., Хазанов В.А., Удут В.В. Антиагрегантная активность нового производного индолинона. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2019;82(7):10–13. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-7-10-13.
- Bykov V.V., Smol'yakova V.I., Chernysheva G.A., Aliev O.I., Anishchenko A.M., Sidekhmenova A.V. et al. Effects of a new antithrombotic drug GRS, a soluble guanylate cyclase stimulator, on endothelial dysfunction in rats with myocardial infarction. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2022;172(6):709–712. DOI: 10.1007/s10517-022-05461-y.
- Thomas H.C., Lamé M.W., Dunston S.K., Segall H.J., Wilson D.W. Monocrotaline pyrrole induces apoptosis in pulmonary artery endothelial cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1998;151(2):236–244. DOI: 10.1006/taap.1998.8458.
- Dumitrascu R., Koebrich S., Dony E., Weissmann N., Savai R., Pullamsetti S.S. et al. Characterization of a murine model of monocrotaline pyrrole-induced acute lung injury. *BMC Pulm. Med.* 2008;8:25. DOI: 10.1186/1471-2466-8-25.
- Xiao R., Su Y., Feng T., Sun M., Liu B., Zhang J. et al. monocrotaline induces endothelial injury and pulmonary hypertension by targeting the extracellular calcium-sensing receptor. *J. Am. Heart. Assoc.* 2017;6(4):e004865. DOI: 10.1161/JAHA.116.004865.
- Schermuly R.T., Kreisselmeier K.P., Ghofrani H.A., Yilmaz H., Butrous G., Ermer L. et al. Chronic sildenafil treatment inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004;169(1):39–45. DOI: 10.1164/rccm.200302-282OC.
- Сидехменова А.В., Алиев О.И., Анищенко А.М., Шама-наев А.Ю., Федорова Е.П., Плотников М.Б. Динамика показателей тромбоцитов, лейкоцитов и функциональ-ной активности эндотелия у молодых крыс линии SHR. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины.* 2015;30(3):61–50. DOI: 10.29001/2073-8552-2015-30-3-61-65.
- Галаган М.Е., Широколова А.В., Ванин А.Ф. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо- и эндогенных источников. *Вопросы медицинской химии.* 1991;37(1):67–70.
- Покровский М.В., Кочкаров В.И., Покровская Т.Г., Гладченко М.П., Артюшкова Е.Б., Пашин Е.Н. и др. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при LNAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2006;10:72–77.
- Hessel M.H., Steendijk P., den Adel B., Schutte C.I., van der Laarse A. Characterization of right ventricular function after monocrotaline-induced pulmonary hypertension in the intact rat. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2006;291(5):H2424–430. DOI: 10.1152/ajpheart.00369.2006.
- Prisco S.Z., Eklund M., Moutsoglou D.M., Prisco A.R., Khouruts A., Weir E.K. et al. Intermittent fasting enhances right ventricular function in preclinical pulmonary arterial hypertension. *J. Am. Heart. Assoc.* 2021;10(22):e022722. DOI: 10.1161/JAHA.121.022722.
- Sztuka K., Jasińska-Stroschein M. Animal models of pulmonary arterial hypertension: A systematic review and meta-analysis of data from 6126 animals. *Pharmacol. Res.* 2017;125(Pt B):201–214. DOI: 10.1016/j.phrs.2017.08.003.
- Авдеев С.Н., Барбараш О.Л., Баутин А.Е., Волков А.В., Веселова Т.Н., Галявич А.С., Гончарова Н.С. и др. Легочная гипертензия, в том числе хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал.* 2021;26(12):4683. DOI: 10.15829/1560-4071-2021-4683.
- Kay J.M., Keane P.M., Suyama K.L., Gauthier D. Angiotensin converting enzyme activity and evolution of pulmonary vascular disease in rats with monocrotaline pulmonary hypertension. *Thorax.* 1982;37(2):88–96. DOI: 10.1136/thx.37.2.88.
- Sandner P., Zimmer D.P., Milne G.T., Follmann M., Hobbs A., Stasch J.P. Soluble guanylate cyclase stimulators and activators. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2021;264:355–394. DOI: 10.1007/164_2018_197.
- Hoeper M.M., Ghofrani H.A., Grünig E., Klose H., Olschewski H., Rosenkranz S. Pulmonary hypertension. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2017;114(5):73–84. DOI: 10.3238/arztebl.2017.0073.
- Klinger J.R., Elliott C.G., Levine D.J., Bossone E., Duvall L., Fagan K. et al. Therapy for pulmonary arterial hypertension in adults: update of the CHEST guideline and expert panel report. *Chest.* 2019;155(3):565–586. DOI: 10.1016/j.chest.2018.11.030.
- Ghofrani H.A., Grimminger F., Grünig E., Huang Y., Jansa P., Jing Z.C. et al. Predictors of long-term outcomes in patients treated with riociguat for pulmonary arterial hypertension: data from the PATENT-2 open-label, randomised, long-term extension trial. *Lancet Respir. Med.* 2016;4(5):361–771. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)30019-4.

Вклад авторов

Быков В.В., Быкова А.В. – разработка концепции и дизайна. Алиев О.И., Сидихменова А.В., Дунаева О.И. – выполнение экспериментальной части исследования, анализ и интерпретация данных. Хазанов В.А., Станкевич С.А. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Венгеровский А.И., Удут В.В. – утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Быков Владимир Валерьевич – канд. мед. наук, начальник отдела фармакологических исследований, ООО «Ифар»; ст. преподаватель, кафедра фармакологии, СибГМУ, г. Томск, preclin5_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5145-2184>

Быкова Арина Владимировна – канд. биол. наук, науч. сотрудник, отдел фармакологических исследований, ООО «Ифар», г. Томск, preclin7_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8495-8560>

Станкевич Сергей Александрович – канд. мед. наук, науч. руководитель доклинических исследований, ООО «Ифар», project_dep@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1313-4967>

Алиев Олег Ибрагимович – д-р мед. наук, зав. лабораторией фармакологии кровообращения, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, oal67@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9788-1235>

Сидихменова Анастасия Витальевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория фармакологии кровообращения, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск, sidehmenova@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3171-667X>

Дунаева Ольга Ивановна – мл. науч. сотрудник, лаборатория фармакологии кровообращения, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, olgadunaeva24@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8697-2553>

Хазанов Вениамин Абрамович – д-р мед. наук, профессор, генеральный директор ООО «Ифар», gen_dir@iphar.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8833-785X>

Венгеровский Александр Исаакович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии СибГМУ, г. Томск, pharm-sibgmu@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5094-3742>

Удут Владимир Васильевич – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зам. директора по научной и лечебной работе, зав. лабораторией физиологии, молекулярной и клинической фармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, udutv@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3829-7132>

(✉) **Быков Владимир Валерьевич**, preclin5_dep@iphar.ru

Поступила в редакцию 17.06.2022;
одобрена после рецензирования 29.06.2022;
принята к публикации 08.09.2022

УДК 616.2-056.43-002-08:579.861.2.063.8:57.085
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-23-32>

Экстракт из культуры термофильного штамма *Staphylococcus aureus* подавляет аллергическое воспаление в дыхательных путях *in vivo* и дегрануляцию тучных клеток и базофилов *in vitro*

Калюжин О.В.¹, Проскурина О.В.², Суханова С.А.², Новикова Н.В.³, Колганова Н.А.⁴

¹ Первый Московский государственный медицинский университет (Первый МГМУ) им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)
Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2

² Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ (ВНЦ БАВ)
Россия, 142450, г. Старая Купавна, ул. Кирова, 23

³ Институт аллергологии и клинической иммунологии (ИАКИ)
Россия, 123104, г. Москва, ул. Малая Бронная, 20/1

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить противоаллергическое действие рузама – экстракта из культуры термофильного штамма *Staphylococcus aureus* – на модели астмы *in vivo*, а также его влияние на дегрануляцию тучных клеток и базофилов *in vitro*.

Материалы и методы. Аллергическую астму у морских свинок воспроизводили двумя внутрибрюшинными инъекциями овальбумина с последующей серией ингаляций этого антигена в течение 1,5 мес. Рузам (6 мкг/кг) или референс-препарат (кромогликат натрия, 3 мг/кг) вводили ежедневно с помощью небулайзера в течение последних 6 сут иммунизации. Через 1 сут после завершения ингаляций овальбумина и сравниваемых препаратов оценивали изменения в дыхательных путях с помощью цитологических, морфометрических и гистологических методов. Для определения влияния рузама на IgE-независимую дегрануляцию, индуцированную соединением 48/80 *in vitro*, использовали базофилы крови кроликов и перитонеальные тучные клетки крыс. Эффект рузама сравнивали с таковым гидрокортизона гемисукцината. Базофилы крови сенсibilизированных овальбумином морских свинок использовали при оценке действия препарата на IgE-зависимую дегрануляцию, индуцированную овальбумином. Гранулы тучных клеток и базофилов для расчета индекса дегрануляции окрашивали с помощью алыцианового синего.

Результаты. На модели астмы рузам снижал степень обструкции дыхательных путей, повышая объем возврата бронхоальвеолярного смыва, и подавлял нейтрофильное и эозинофильное воспаление, при этом мобилизуя другие клетки-эффекторы противинфекционного ответа (лимфоциты и макрофаги). По ряду критериев противоаллергической эффективности рузам превосходил кромогликат натрия. Рузам в концентрациях 8,4–840 мкг/мл ингибировал дегрануляцию тучных клеток и базофилов, вызванную соединением 48/80, в той же степени, что и гидрокортизона гемисукцинат (10^{-3} М). Рузам (280 и 420 мкг/мл) дозозависимо подавлял индуцированную овальбумином дегрануляцию базофилов сенсibilизированных морских свинок.

Заключение. Подтверждено противоаллергическое действие рузама в тест-системах *in vivo* и *in vitro*. Выдвинута гипотеза о TLR2-опосредованном характере биологических/фармакологических эффектов препарата.

Ключевые слова: рузам, *Staphylococcus aureus*, термофильный штамм, модель астмы, аллергическое воспаление, тучные клетки, базофилы, дегрануляция

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 биоэтическим комитетом ВНЦ БАН (протокол № 12 от 28.03.2006).

Для цитирования: Калюжин О.В., Проскурина О.В., Суханова С.А., Новикова Н.В., Колганова Н.А. Экстракт из культуры термофильного штамма *Staphylococcus aureus* подавляет аллергическое воспаление в дыхательных путях *in vivo* и дегрануляцию тучных клеток и базофилов *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):23–32. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-23-32>.

An extract from the culture of a thermophilic *Staphylococcus aureus* strain suppresses allergic inflammation in the airways *in vivo* and degranulation of mast cells and basophils *in vitro*

Kalyuzhin O.V.¹, Proskurina O.V.², Sukhanova S.A.², Novikova N.V.³, Kolganova N.A.⁴

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

² All-Russian Scientific Center for the Safety of Biologically Active Substances
23, Kirova Str., Staraya Kupavna, 142450, Russian Federation

³ Institute of Allergy and Clinical Immunology
20/1, Malaya Bronnaya Str., Moscow, 123104, Russian Federation

⁴ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University
1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russia

ABSTRACT

Aim. To study the anti-allergic effects of ruzam, an extract from the culture of a thermophilic *Staphylococcus aureus* strain, in an *in vivo* model of asthma and its influence on degranulation of mast cells and basophils *in vitro*.

Materials and methods. Allergic asthma in guinea pigs was reproduced by two intraperitoneal injections of ovalbumin followed by a series of inhalations of this antigen for 1.5 months. Ruzam (6 µg / kg) or a reference drug (sodium cromoglycate, 3 mg / kg) was administered daily via a nebulizer during the last 6 days of immunization. One day after completion of inhalations with ovalbumin and compared drugs, changes in the airways were assessed using cytological, morphometric, and histologic methods. Rabbit blood basophils and rat peritoneal mast cells were used to determine the effect of ruzam on IgE-independent degranulation induced by the compound 48 / 80 *in vitro*. The effect of ruzam was compared with that of hydrocortisone hemisuccinate. Basophils from the blood of ovalbumin-sensitized guinea pigs were used to evaluate the effect of the drug on IgE-dependent degranulation induced by ovalbumin. Granules of mast cells and basophils were detected by alcian blue staining to calculate the degranulation index.

Results. In the asthma model, ruzam reduced the degree of airway obstruction by increasing the bronchoalveolar lavage volume returned and suppressed neutrophilic and eosinophilic inflammation, while mobilizing other effector cells of the anti-pathogen immunity (lymphocytes and macrophages). Ruzam has proven to have a stronger anti-allergic effect than sodium cromoglycate by several parameters. At concentrations of 8.4–840 µg / ml, ruzam inhibited degranulation of mast cells and basophils, induced by the compound 48 / 80, equally to hydrocortisone hemisuccinate (10⁻³ M). At concentrations of 280 and 420 µg / ml, ruzam dose-dependently inhibited ovalbumin-induced degranulation of basophils in sensitized guinea pigs.

Conclusion. The anti-allergic effect of ruzam was confirmed in test systems *in vivo* and *in vitro*. We speculate here that the TLR2 signaling pathway may be involved in biological and pharmacological effects of this drug.

Keywords: ruzam, *Staphylococcus aureus*, thermophilic strain, asthma model, allergic inflammation, mast cells, basophils, degranulation

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 Committee at All-Russian Scientific Center for the Safety of Biologically Active Substances (Protocol No. 12 of 28.03.2006).

For citation: Kalyuzhin O.V., Proskurina O.V., Sukhanova S.A., Novikova N.V., Kolganova N.A. An extract from the culture of a thermophilic *Staphylococcus aureus* strain suppresses allergic inflammation in the airways *in vivo* and degranulation of mast cells and basophils *in vitro*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):23–32. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-23-32>.

ВВЕДЕНИЕ

Структурные фрагменты и продукты жизнедеятельности микроорганизмов, в первую очередь бактерий, давно являются объектами поиска биологически активных веществ с потенциально широким спектром фармакологического действия [1]. В этом плане одним из наиболее перспективных направлений, состоятельность которого доказана в клинических исследованиях и практическом здравоохранении, является создание бактериальных иммуномодуляторов [2, 3]. В России разработано, зарегистрировано и уже три десятилетия используется в терапии аллергических заболеваний лекарственное средство «Рузам», представляющее собой экстракт из культуры термофильного штамма *Staphylococcus aureus* [4, 5]. Продemonстрирована эффективность этого препарата в лечении поллиноза, бронхиальной астмы, аллергического ринита, атопического дерматита, крапивницы и ангиоотечек, латексной и пищевой аллергии, инсектной аллергии, а также в профилактике респираторных инфекций [4].

Сегодня рузам разрешен к клиническому применению в виде раствора для подкожного введения. Весьма обнадеживают положительные результаты доклинических и первых клинических исследований назальной и ингаляционной форм препарата в лечении аллергических заболеваний дыхательных путей [6].

Ранее проведены экспериментальные исследования противоаллергического действия рузама, в ходе которых, в частности, доказана его способность подавлять при ингаляционном введении овальбумин-индуцированное воспаление у сенсибилизированных животных *in vivo*, а также ингибировать IgE-зависимую и IgE-независимую дегрануляцию тучных клеток и базофилов в тест-системах *in vitro*. Материалы этой работы были представлены А.Г. Чу-чалиным и соавт. еще в 2003 г., но лишь в тезисном виде как фрагмент обзорной статьи [5]. Вместе с тем эти данные представляют большой интерес сегодня не только в контексте создания и внедрения новых лекарственных форм рузама, но и в плане объясне-

ния фармакологических эффектов препарата, выявленных в более поздних клинических исследованиях [4]. Вышесказанное побудило детально описать результаты раннее проведенных экспериментальных исследований и подвергнуть их дополнительной математической обработке и интерпретации в свете эволюционирующих иммунологических парадигм.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Рузам – комплекс липопротеинов, экстрагированный из культуры термофильного штамма *Staphylococcus aureus* C-2, – предоставлен для испытаний компанией «Рузам-М» (Россия). Аллергическое воспаление в дыхательных путях *in vivo* воспроизводили по методу Р.А. Hutson и соавт. [7] в модификации, детально описанной ранее [8]. Для этого морским свинкам обоего пола массой 300–400 г дважды с 7-дневным интервалом внутрибрюшинно вводили овальбумин (Sigma-Aldrich, США) в дозе 10 мг/кг. Затем животным с помощью компрессорного небулайзера Pari LC Plus (Pari GmbH, Германия) 1 раз в 4 сут в течение 1,5 мес ингалировали по 1 мл раствора овальбумина, постепенно увеличивая его концентрацию с 0,1 до 1%. Рузам в дозе 6 мкг/кг или кромогликат натрия, служивший референсным препаратом, в дозе 3 мг/кг вводили с помощью этого же небулайзера в виде водного раствора в объеме 1 мл ежедневно в течение 6 сут в конце иммунизации в группах животных «Овальбумин + рузам» и «Овальбумин + кромогликат» соответственно. В группе «Овальбумин» в последние дни иммунизации через небулайзер вводили стерильную воду в том же режиме и объеме. Время каждой ингаляции – 180 с.

Исследования с использованием экспериментальных животных выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Характеристики аэрозольных частиц определяли с помощью аэродинамического измерителя APS 3300 (TSI, США) и каскадного импактора с последующим анализом отобранных проб флуориметри-

ческим методом. Средняя массовая скорость распыления составила 0,46 мл/мин, массовый медианный диаметр частиц аэрозоля – 6,2 мкм, величина респираторной фракции рузама и кромогликата натрия – 38,5 и 39,8% соответственно. Через 24 ч после ингаляции последней дозой овальбумина оценивали изменения в дыхательных путях с помощью цитологических, морфометрических и гистологических методов. Забор бронхоальвеолярного смыва проводили под внутрибрюшинным гексеналовым наркозом через эндотрахеальную канюлю путем двукратного промывания легких 10 мл стерильного 0,9%-го раствора NaCl, подогретого до 37 °С.

Определяли объем возврата эндотрахеально введенной жидкости. В бронхоальвеолярном смыве после центрифугирования при 200 g в течение 10 мин определяли абсолютное количество клеток в 1 мл (цитоз). В мазках, окрашенных по Романовскому – Гимзе, подсчитывали число нейтрофилов, эозинофилов, макрофагов и лимфоцитов [9]. Объемную плотность ассоциированных с бронхами лимфоидных фолликулов, имеющих вид беловатых бляшек диаметром 3–5 мм, выступающих над поверхностью слизистой оболочки бронхов, оценивали в макропрепаратах легких под лупой с помощью сетки Г.Г. Автандилова [8].

Для гистологических исследований легкие фиксировали в жидкости Карнуа, заливали в парафин и готовили срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали либо гематоксилином и эозином для выявления эозинофилов, нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов и гистиоцитов, либо толуидиновым синим (рН 2,0) для определения числа тучных клеток. В обоих случаях клетки считали в поле зрения микроскопа при 400-кратном увеличении. Дегрануляцию тучных клеток оценивали в баллах: 1 балл – вся цитоплазма заполнена плотно расположенными темно-фиолетовыми гранулами, 2 – отмечаются отдельные участки просветления в цитоплазме, иногда отдельные гранулы расположены рядом с клеткой, 3 – участки просветления занимают 50–70% цитоплазмы, ядро оголено, гранулы расположены очень рыхло; 4 – просветленные участки составляют более 70% цитоплазмы (гранулолизис). Индекс дегрануляции (ИД) рассчитывали по формуле

$$\text{ИД} = \sum (i \times n_i) / \sum n_i,$$

где i – степень дегрануляции в баллах, n_i – количество клеток с степенью i (%) [10].

Перитонеальные тучные клетки крыс Вистар получали, как описано ранее [11]. Базофилы выделяли в составе лейкоцитарной взвеси из крови, забранной под эфирным наркозом из сердца кроликов или морских свинок, путем двухступенчатого осаждения: на

первом этапе разбавляя кровь этилендиаминтетрауксусной кислотой (Sigma-Aldrich, США), на втором – цитрат-содержащей осаждающей жидкостью [12].

Влияние рузама на IgE-независимую дегрануляцию тучных клеток и базофилов *in vitro* оценивали в конечных концентрациях 8,4; 84 и 840 мкг/мл. В качестве референс-препарата использовали натриевую соль гемисукцината гидрокортизона (Sigma-Aldrich, США) в концентрациях 10^{-5} , 10^{-4} и 10^{-3} М. Дегрануляцию индуцировали соединением 48/80 (Sigma-Aldrich, США) 1 мкг/мл – полимером, обладающим свойствами дегранулятора тучных клеток и базофилов и гистамин-либератора [13].

Оценку влияния рузама на IgE-зависимую дегрануляцию базофилов *in vitro* проводили, как описано ранее [12]. Для этого выделяли лейкоцитарную взвесь из крови сердца морских свинок, которых за 1 мес до этого сенсибилизировали внутрибрюшинным введением 10 мкг овальбумина (Sigma-Aldrich, США) с гидроокисью алюминия (100 мг геля) в качестве адьюванта по методу [14]. Суспензию лейкоцитов (10^4 клеток/мл) инкубировали в среде с добавлением рузама в концентрациях 280 и 420 мкг/мл или без такового (контроль) течение 15 мин при 37 °С в атмосфере с 5%-м CO_2 . Затем в культуру на 10 мин вносили раствор овальбумина в конечной концентрации 0,35% для индукции дегрануляции базофилов. Реакцию останавливали добавлением охлажденного солевого раствора. Суспензию клеток центрифугировали 7 мин при 100 g. Из осадка готовили препараты для микроскопирования. Фиксацию и окраску препаратов проводили по методу [15]. Для выявления гранул базофилов использовали 0,5%-й альциановый синий (рН 1,0), ядра докрашивали сафранином (0,1%-й раствор в 1%-й уксусной кислоте). Индекс дегрануляции рассчитывали тем же способом, который использовали при гистологических исследованиях [10].

Экспериментальные и контрольная группы морских свинок в исследованиях *in vivo* включали по пять особей. В экспериментах *in vitro* для каждой концентрации рузама и референс-препарата, а также в качестве контроля использовали триплеты культур клеток от каждого из трех отдельно взятых животных.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Statistica 18 (StatSoft Inc., США). Парные сравнения независимых и зависимых выборок по количественным характеристикам проводили, используя критерии Манна – Уитни и Вилкоксона соответственно. Количественные данные в таблицах и на рисунках представлены как среднее и стандартное отклонение $M \pm SE$. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$, при $0,05 \leq p < 0,1$ констатировали тенденцию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Противоаллергические эффекты рузама на модели воспаления дыхательных путей, индуцированного овальбумином, у морских свинок

Последовательные две внутрибрюшинные инъекции овальбумина, а затем серия ингаляций этого антигена морским свинкам воспроизводили хроническое аллергическое воспаление дыхательных путей, которое, помимо морфологических расстройств, характеризовалось снижением объема возврата бронхоальвеолярного смыва и увеличением более чем в 1,5 раза числа клеток в смыве, главным образом за счет эозинофилов, в меньшей степени – нейтрофилов (табл. 1). Число и доля лимфоцитов при этом существенно не изменялись, а абсолютное и относительное количество макрофагов

снижалось в сравнении с показателями интактных животных.

Ежедневные ингаляции рузама в течение 6 сут на завершающем этапе моделирования аллергического воспаления увеличивали объем возврата бронхоальвеолярного смыва, в результате чего этот показатель не отличался от такового у интактных морских свинок (см. табл. 1). Референс-препарат – кромогликат натрия – не изменял объем возврата.

В группах животных с овальбумин-индуцированным воспалением дыхательных путей, получавших рузам или кромогликат натрия, выявлена тенденция к снижению цитоза бронхоальвеолярного смыва. При этом под влиянием рузама статистически значимо уменьшалось число эозинофилов и нейтрофилов, а референс-препарат существенно не изменял количество этих клеток в смыве.

Таблица 1

Влияние рузама и кромогликата натрия на показатели бронхоальвеолярного смыва морских свинок с овальбумин-индуцированным аллергическим воспалением дыхательных путей, $M \pm SE$

Показатель		Интактные животные	Аллергическое воспаление дыхательных путей		
			Овальбумин	Овальбумин + рузам	Овальбумин + кромогликат
Объем возврата, %		65,6 ± 6,3	50,0 ± 5,8*	62,9 ± 1,0#	50,7 ± 7,4
Цитоз, клеток/мл		42,0 ± 9,0	68,0 ± 16,0*	58,0 ± 7,0	55,0 ± 19,0
Макрофаги	клеток/мл	32,0 ± 2,9	22,2 ± 2,4*	29,6 ± 2,4†	12,6 ± 3,0*
	%	76,6 ± 5,9	32,7 ± 3,5*	51,1 ± 5,2†	22,9 ± 5,5*
Лимфоциты	клеток/мл	3,3 ± 0,4	4,3 ± 1,4	6,0 ± 1,3*†	2,7 ± 0,6
	%	7,8 ± 1,0	6,4 ± 1,7	10,4 ± 2,2*†	4,9 ± 1,1
Нейтрофилы	клеток/мл	0,30 ± 0,05	1,8 ± 0,9*	0,6 ± 0,3#†	1,5 ± 0,5
	%	0,64 ± 0,13	2,7 ± 1,4*	1,0 ± 0,5#†	2,7 ± 0,1
Эозинофилы	клеток/мл	6,2 ± 2,0	39,5 ± 3,3*	21,6 ± 2,9*#†	38,4 ± 3,6*
	%	14,9 ± 5,0	58,1 ± 4,8*	37,7 ± 5,1*#†	69,8 ± 6,6*

* $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными; # $p < 0,05$ в сравнении с группой «Овальбумин»; † $p < 0,05$ в сравнении с группой «Овальбумин + кромогликат»

Кромогликат натрия в условиях аллергического воспаления способствовал еще большему снижению числа макрофагов в смыве, тогда как на фоне ингаляций рузама наблюдали, наоборот, восходящий тренд количества этих клеток. В результате этот показатель в группе «Овальбумин + рузам» не отличался от такового у интактных животных и более чем в 2 раза превышал значения в группе «Овальбумин + кромогликат» (см. табл. 1).

Сравниваемые фармакологические вещества вызывали противоположные тенденции изменения числа лимфоцитов в бронхоальвеолярном смыве: рузам – к увеличению, а кромогликат натрия – к снижению. В итоге абсолютное и относительное количество лимфоцитов в смывах от животных, получавших рузам, было примерно вдвое выше, чем у морских свинок после ингаляций референс-препарата.

Иммунизация морских свинок овальбумином приводила к существенным морфологическим изме-

нениям дыхательных путей, совокупность которых можно охарактеризовать как бронхит и обструктивная эмфизема. Выявляли дистрофические изменения эпителия и обширные участки десквамации. В просветах бронхов, помимо десквамированных эпителиоцитов, присутствовали в большом количестве эозинофилы и нейтрофилы, а также единичные макрофаги. В межальвеолярных перегородках отмечали диффузно-очаговую инфильтрацию полиморфно-ядерными лейкоцитами (эозинофилами и нейтрофилами), лимфоцитами и гистиоцитами. Количество полиморфно-ядерных лейкоцитов в поле зрения увеличивалось более чем в 2 раза в сравнении с интактными животными (рис. 1). Выявлена математически неподтвержденная тенденция к снижению числа тучных клеток в поле зрения; показатели дегрануляции этих клеток статистически значимо не изменялись. Примерно в 2 раза возрастала объемная плотность лимфоидной ткани в стенках бронхов (рис. 2).

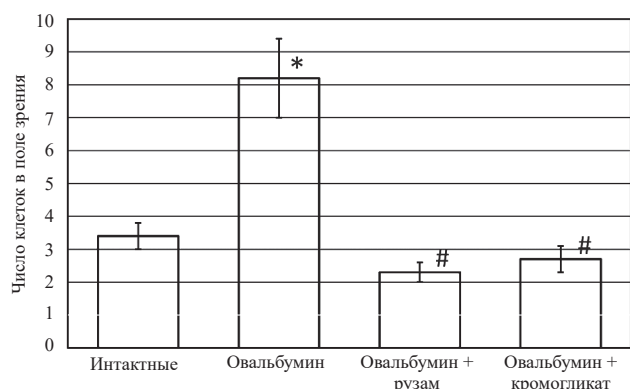


Рис. 1. Влияние рузама и кромогликата натрия на количество полиморфно-ядерных лейкоцитов в межальвеолярных перегородках легких морских свинок с овальбумин-индуцированным аллергическим воспалением дыхательных путей, $M \pm SE$: * $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными; # $p < 0,05$ в сравнении с группой «Овальбумин»

Тестируемый и референсный препараты на модели аллергического воспаления примерно в равной степени снижали инфильтрацию легких эозинофилами и нейтрофилами: в результате ингаляций рузама количество полиморфно-ядерных лейкоцитов в межальвеолярных перегородках уменьшалось в 3,6 раза, и под влиянием кромогликата натрия – в 3 раза (см. рис. 1). Математически подтвержденных различий между группами морских свинок, получавших сравниваемые препараты, по этому показателю не выявлено: в обоих случаях число полиморфно-ядерных лейкоцитов снижалось до уровня, не отличающегося от такового у интактных животных.

Ингаляции рузама и кромогликата натрия статистически значимо не изменяли число тучных клеток в поле зрения и показатели их дегрануляции в легких морских свинок с альбумин-индуцированным воспалением дыхательных путей. Оба препарата также не оказывали влияния на объемную плотность лимфоидных

идных фолликулов в стенках бронхов иммунизированных животных (рис. 2).

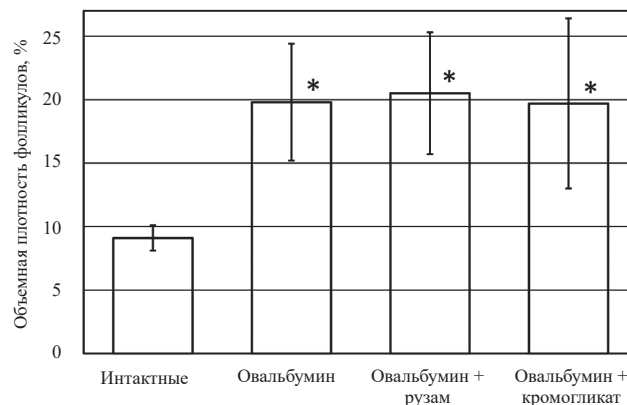


Рис. 2. Влияние рузама и кромогликата натрия на объемную плотность лимфоидных фолликулов в стенках бронхов морских свинок с овальбумин-индуцированным аллергическим воспалением дыхательных путей, $M \pm SE$: * $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными

Влияние рузама на дегрануляцию тучных клеток и базофилов *in vitro*

Соединение 48/80 в тест-системах *in vitro* вполне ожидаемо повышало индекс дегрануляции перитонеальных тучных клеток крыс в 6 раз и базофилов периферической крови кроликов в 2 раза в сравнении с показателями интактных клеток (табл. 2).

Рузам в широком диапазоне концентраций (8,4–840 мкг/мл) более чем в 2 раза снижал индекс дегрануляции тучных клеток крыс, индуцированной соединением 48/80 (см. табл. 2). При этом зависимости указанного эффекта от дозы рузама не установлено.

Гидрокортизона гемисукцинат, служивший в условиях этой модели референс-препаратом, в той же степени угнетал дегрануляцию только в самой высокой из использованных концентраций (10^{-3} М), а в более низких дозах вызывал лишь тенденцию к снижению индекса дегрануляции.

Таблица 2

Влияние рузама и гидрокортизона гемисукцината на индуцированную соединением 48/80 дегрануляцию тучных клеток и базофилов <i>in vitro</i> , $M \pm SE$				
Вариант воздействия на культивируемые клетки			Индекс дегрануляции, усл. ед.	
			Перитонеальные тучные клетки крыс линии Вистар	Базофилы крови кроликов
Интактные клетки			–0,40 ± 0,05	0,70 ± 0,05
Клетки, стимулированные соединением 48/80	Без дополнительных воздействий		2,40 ± 0,10*	1,40 ± 0,10*
	Рузам	840 мкг/мл	1,10 ± 0,10*#	0,90 ± 0,05#
		84 мкг/мл	1,10 ± 0,10*#	1,00 ± 0,05
		8,4 мкг/мл	1,12 ± 0,10*#	0,95 ± 0,05
	Гидрокортизона гемисукцинат	10^{-3} М	1,10 ± 0,05*#	0,80 ± 0,05#
		10^{-4} М	1,28 ± 0,05*	1,25 ± 0,05*
		10^{-5} М	1,50 ± 0,05*	1,65 ± 0,05*

* $p < 0,01$ в сравнении с интактными клетками; # $p < 0,01$ в сравнении с клетками, стимулированными соединением 48/80 без дополнительных воздействий

Сходные закономерности выявлены при оценке влияния рузама и референс-препарата на дегрануляцию базофилов крови кроликов, вызванную либератором гистамина (см. табл. 2). Рузам во всех использованных концентрациях примерно в 1,5 снижал индекс дегрануляции, тогда как гидрокортизона гемисукцинат оказывал такой же эффект только в концентрации 10^{-3} М.

Внесение овальбумина в культуру базофилов крови морских свинок, предварительно иммунизированных этим антигеном, повышало индекс дегрануляции этих клеток вдвое в сравнении с показателями нестимулированных культур базофилов, служивших в этой тест-системе контролем (рис. 3). Рузам дозозависимо подавлял индуцированную овальбумином дегрануляцию базофилов сенсibilизированных животных. При этом в обеих использованных концентрациях (280 и 420 мкг/мл) препарат снижал индекс дегрануляции до уровня, статистически значимо не отличающегося от контрольных значений.

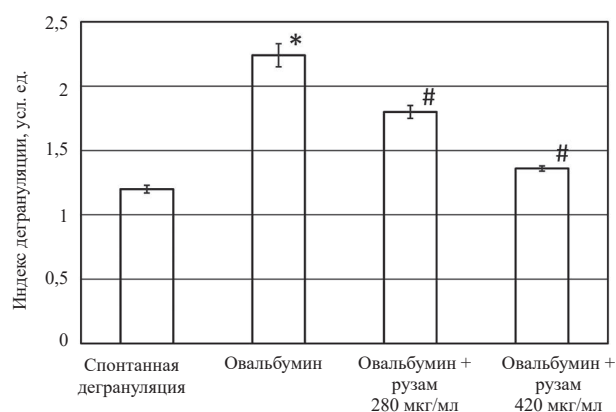


Рис. 3. Влияние рузама на индуцированную овальбумином дегрануляцию базофилов морских свинок, иммунизированных овальбумином, *in vitro*, $M \pm SE$: * $p < 0,01$ в сравнении со спонтанной дегрануляцией; # $p < 0,01$ в сравнении с дегрануляцией, индуцированной овальбумином без дополнительных воздействий

ОБСУЖДЕНИЕ

Установленные в настоящей работе морфологические и цитологические сдвиги в условиях экспериментального аллергического воспаления дыхательных путей *in vivo* в целом согласуются с результатами других исследований, в которых воспроизводили модель овальбумин-индуцированной астмы [16, 17]. Вместе с тем при определении числа тучных клеток в легочной ткани и индекса их дегрануляции мы не выявили существенных отличий от показателей интактных животных. Обнаружена даже незначительная тенденция к снижению количества этих клеток, что отчасти противоречит ранее опубликованным данным об экспансии тучных клеток в перибронхи-

альной ткани у больных астмой [18] и животных с хроническим аллергическим воспалением дыхательных путей, индуцированным овальбумином [16].

Несмотря на то, что зрелые тучные клетки живут в тканях достаточно долго и способны выдержать повторные циклы дегрануляции [19], некоторые авторы указывают на возможность временного истощения популяции этих клеток в результате интенсивной дегрануляции [20, 21]. Мы проводили гистологическое изучение легких через 24 ч после ингаляции последней разрешающей дозы овальбумина, которая *a priori* должна вызывать массовую и быструю дегрануляцию тучных клеток в дыхательных путях. А это в свою очередь могло приводить к кратковременному снижению числа этих клеток в легочной ткани, маскирующему или нивелирующему их экспансию в другие более продолжительные периоды.

Указанное ограничение воспроизведенной модели не позволило оценить эффективность рузама и референс-препарата (кромогликата натрия) по изменению числа тучных клеток в легочной ткани и индекса их дегрануляции *in vivo*, но не снизило информативность оценки противоаллергической активности сравниваемых фармакологических веществ по другим важным критериям.

Рузам снижал степень бронхообструкции дыхательных путей, вызванной аллергическим воспалением, что отражалось повышением объема возврата бронхоальвеолярного смыва. Кромогликат натрия по этому показателю был неэффективен.

Выявлен принципиально разный характер влияния рузама и референс-препарата на клеточный состав бронхоальвеолярного смыва в условиях овальбумин-индуцированного воспаления дыхательных путей. Совокупность цитологических сдвигов, вызванных применением рузама, можно оценить как подавление эозинофильного и нейтрофильного воспаления с одновременной мобилизацией клеток-эффекторов противоинфекционного ответа: лимфоцитов и макрофагов. Референс-препарат, наоборот, не изменял количество полиморфно-ядерных лейкоцитов в смыве, но вызывал тенденцию к снижению числа лимфоцитов и макрофагов.

Вместе с тем непосредственно в образцах легочной ткани на фоне применения обоих препаратов наблюдали сходное по амплитуде подавление инфильтрации межальвеолярных перегородок эозинофилами и нейтрофилами.

Развитие аллергического воспаления в дыхательных путях сопровождалось гиперплазией бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани, состоящей из множества индуцируемых лимфоидных фолликулов. Эти временные эктопические лимфоидные

образования, в настоящее время классифицируемые как третичные лимфоидные ткани, представляют собой скопления иммунных клеток, по фолликулярной структуре напоминающие вторичные лимфоидные органы. Индуцируемые лимфоидные фолликулы формируются в периферических нелимфоидных тканях в ответ на воздействие разных триггеров, в том числе антигенов [22].

В условиях воспроизведенной нами модели аллергического воспаления развитие третичных лимфоидных органов в бронхах вызвано повторными ингаляциями овальбумина сенсibilизированным животным. То, что 6-дневный курс введений рузама или кромогликата натрия на завершающем этапе ингаляций разрешающих доз аллергена не изменял объемную плотность лимфоидных фолликулов в стенках бронхов морских свинок, вполне объяснимо. Известно, что даже однократное антигенное воздействие на дыхательные пути индуцирует развитие бронхо-ассоциированных лимфоидных структур, которые существуют как минимум 4 нед после клиренса причинно-значимого антигена, при этом достигают пика своего развития на 8–12-е сут [22]. Очевидно, короткий курс ингаляций рузама или референс-препарата не успевал вызвать заметную регрессию лимфоидных фолликулов, которые уже сформировались ранее под влиянием череды аллергенных воздействий и не закончили естественных ход своей эволюции и обратного развития. Предположительно, более длительное и (или) раннее применение рузама на такой модели *in vivo* могло бы подтвердить противоаллергическую эффективность препарата и по этому критерию.

Перекрестное связывание высокоаффинных рецепторов IgE (FcεRI) на тучных клетках аллергенами вызывает быстрое высвобождение провоспалительных медиаторов, стимулирующих не только сокращение гладкой мускулатуры и секрецию слизи [23, 24], но и пролиферацию фибробластов и синтез коллагена, что ведет к ремоделированию дыхательных путей при астме и фиброзу других тканей, подверженных аллергическому воспалению [25–27].

Помимо тучных клеток существенную роль в IgE-зависимых аллергических реакциях играют базофилы [28, 29]. При дегрануляции последних также высвобождается большое число флогенных медиаторов, провоцирующих развитие астмы, аллергического ринита, крапивницы и многих других, причем не только аллергических, заболеваний [30].

Учитывая вышесказанное, а также ограничения, с которыми мы столкнулись при оценке числа и функционального состояния тучных клеток на модели *in vivo*, очень ценными представляются данные, полученные в тест-системах *in vitro*, о выраженной спо-

собности рузама в широком диапазоне концентраций подавлять дегрануляцию тучных клеток и базофилов, вызванную либератором гистамина, а также индуцированную овальбумином дегрануляцию базофилов животных, сенсibilизированных этим антигеном. Таким образом, исследуемый препарат напрямую блокировал как IgE-зависимые, так и IgE-независимые механизмы дегрануляции тучных клеток и базофилов. Обращает на себя внимание, что рузам был эффективен в подавлении дегрануляции клеток трех видов млекопитающих, один из которых (кролики) не относится к грызунам. Это вселяет оптимизм в плане экстраполяции полученных результатов на человека.

Описанные в настоящей работе экспериментальные данные хорошо согласуются с результатами клинических исследований рузама в лечении и профилактике аллергических заболеваний, освещенные в недавнем обзоре [4], и увеличивают их убедительность. При этом биологические эффекты препарата на моделях *in vivo* и *in vitro* в целом подтверждают способность рузама подавлять иммунные реакции 2-го типа (T2), лежащие в основе патогенеза большинства аллергических болезней.

Учитывая химическую природу рузама (комплекс бактериальных липопротеинов), полагаем, что препарат реализует биологические (фармакологические) эффекты через Toll-подобные рецепторы врожденного иммунитета (TLR). Наиболее вероятными молекулярными мишенями рузама при этом представляются TLR2 и его гетеродимеры TLR1/TLR2 и TLR/TLR6. TLR2-опосредованные сигналы могут как активировать, так и регулировать иммунные реакции в зависимости от характера и дозы лигандов (липopeптидов, липотейхоевых кислот, протеогликанов), варианта гомо- или гетеродимеризации этого рецептора, исходного состояния организма и целого ряда других факторов [31].

В контексте интерпретации полученных нами данных примечательна выявленная ранее способность липopeптидов подавлять аллергическое воспаление по TLR2-зависимому пути на моделях овальбумин-индуцированной астмы *in vivo* за счет поляризации преобладающего типа иммунного ответа в направлении T2→T1 и потенцирования иммунорегуляторных механизмов [32, 33]. Генетический дефект TLR2, наоборот, усугублял ультраструктурные, цитологические и молекулярные признаки T2-воспаления, вызванного овальбумином, в дыхательных путях сенсibilизированных животных [34]. В тест-системах *in vitro* лиганды TLR2 подавляли IgE-зависимую [35, 36] и IgE-независимую дегрануляцию тучных клеток [37]. Считаем проверку гипотезы о ключевой роли TLR2 и его гетеродимеров в реализации фарма-

кологических эффектов рузама перспективной темой дальнейших научных исследований не только для уточнения молекулярных механизмов действия препарата, но и для расширения и оптимизации сферы и способов его клинического применения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подтверждено противоаллергическое действие экстракта из культуры термофильного штамма *S. aureus* C-2 – рузама – в тест-системах *in vivo* и *in vitro*. В частности, на модели овальбумин-индуцированной аллергической астмы у морских свинок препарат снижал степень обструкции дыхательных путей и выраженность нейтрофильного и эозинофильного воспаления, при этом мобилизуя клетки-эффекторы противоинфекционного ответа (лимфоциты и макрофаги). А на моделях *in vitro* рузам подавлял как IgE-независимую дегрануляцию тучных клеток и базофилов, вызванную либератором гистамина, так и IgE-зависимую дегрануляцию базофилов sensibilized животных. Выдвинута гипотеза о TLR2-опосредованном характере основных биологических (фармакологических) эффектов препарата, выявленных в данном исследовании и описанных в других научных работах.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Chedid L., Audibert F. Chemically defined bacterial products with immunopotentiating activity. *J Infect Dis.* 1977;136(Suppl.):S246–S251. DOI: 10.1093/infdis/136.supplement.s246.
- Le Garrec Y. Immunomodifiers of bacterial origin. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1986;9(2–3):137–141. DOI: 10.1016/0147-9571(86)90005-6.
- Пронин А.В., Санин А.В., Гинцбург А.Л. Бактериальные иммуномодуляторы и их место в иммуномодулирующей терапии. В кн.: Иммуноterapia. Руководство для врачей; под ред. Р.М. Хаитова, Р.И. Атауллаханова, А.Е. Шульженко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2000:191–212.
- Терехова Е.П., Терехов Д.В., Себекина О.В. Применение препарата Рузам® в лечении и профилактике аллергических заболеваний. *Практическая аллергология.* 2021;1:54–64. DOI: 10.46393/2712-9667_2021_1_54-64.
- Чучалин А.Г., Ковалева В., Колганова Н.А. Рузам – новый подход в лечении и профилактике аллергических заболеваний (экспериментальные и клинические данные). *Русский медицинский журнал.* 2003;11(22):1248–1252.
- Ненашева Н.М., Терехова Е.П., Терехов Д.В. Эффективность ингаляционной иммунотерапии Рузамом у больных atopической бронхиальной астмой: влияние на частоту респираторных инфекций и обострений. *Пульмонология.* 2014;1:52–58. DOI: 10.18093/0869-0189-2014-0-1-52-58.
- Hutson P.A., Church M.K., Clay T.P., Miller P., Holgate S.T. Early and late-phase bronchoconstriction after allergen challenge of nonanesthetized guinea pigs. I. The association of disordered airway physiology to leukocyte infiltration. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1988;137(3):548–557. DOI: 10.1164/ajrccm/137.3.548.
- Ковалева В.Л. Методические указания по изучению фармакологических веществ, предназначенных для терапии бронхиальной астмы и других обструктивных заболеваний дыхательных путей. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: 2-е изд.; под ред. Р.У. Хабриева. М.: Медицина, 2005:483–500.
- Nagai H., Tsuji F., Goto S., Koda A. Pharmacological modulation of antigen-induced airway hyperresponsiveness by thromboxane A2 inhibitors in guinea pigs. *Biol. Pharm. Bull.* 1993;16(11):1099–1103. DOI: 10.1248/bpb.16.1099.
- Линднер Д.П., Поберий И.А., Родкин М.Я., Ефимов В.С. Морфометрический анализ популяции тучных клеток. *Архив патологии.* 1980;6:60–64.
- Иммунологические методы; пер. с нем. А.П. Тарасова; под ред. Г. Фримеля. М.: Медицина, 1987:472.
- Носейкина Е.М., Хвостова А.Е., Ларина Т.И., Митрохин Н.М. Базофилы крови морской свинки как тестовая система для оценки противоаллергической активности химических соединений *in vitro*. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2011;6(129):96–100.
- Rothschild A.M. Mechanisms of histamine release by compound 48-80. *Br. J. Pharmacol.* 1970;38(1):253–262. DOI: 10.1111/j.1476-5381.1970.tb10354.x.
- Andersson P. Antigen-induced bronchial anaphylaxis in actively sensitized guinea-pigs. *Allergy.* 1980;35(1):65–71. DOI: 10.1111/j.1398-9995.1980.tb01718.x.
- Seder R.A., Paul W.E., Dvorak A.M., Sharkis S.J., Kagey-Sobotka A., Niv Y. et al. Mouse splenic and bone marrow cell populations that express high-affinity Fc epsilon receptors and produce interleukin 4 are highly enriched in basophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1991;88(7):2835–2839. DOI: 10.1073/pnas.88.7.2835.
- Ikeda R.K., Miller M., Nayar J., Walker L., Cho J.Y., McElwain K. et al. Accumulation of peribronchial mast cells in a mouse model of ovalbumin allergen induced chronic airway inflammation: modulation by immunostimulatory DNA sequences. *J. Immunol.* 2003;171(9):4860–4867. DOI: 10.4049/jimmunol.171.9.4860.
- Schramm C.M., Puddington L., Wu C., Guernsey L., Gharraie-Kermani M., Phan S.H. et al. Chronic inhaled ovalbumin exposure induces antigen-dependent but not antigen-specific inhalational tolerance in a murine model of allergic airway disease. *Am. J. Pathol.* 2004;164(1):295–304. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63119-7.
- Brightling C.E., Bradding P., Symon F.A., Holgate S.T., Wardlaw A.J., Pavord I.D. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N. Engl. J. Med.* 2002;346(22):1699–1705. DOI: 10.1056/NEJMoa012705.
- Krystal-Whittemore M., Dileepan K.N., Wood J.G. Mast cell: A multi-functional master cell. *Front. Immunol.* 2016;6:620. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00620.
- Дзодикова М.Э. Особенности дегрануляции и апоптоз тучных клеток. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина.* 2005;1(29):102–107.
- Raveendran V.V., Smith D.D., Tan X., Sweeney M.E., Reed G.A., Flynn C.A. et al. Chronic ingestion of H1-antihistamines increase progression of atherosclerosis in apolipoprotein

- tein E-/- mice. *PLoS One*. 2014;9(7):e102165. DOI: 10.1371/journal.pone.0102165.
22. Bery A.I., Shepherd H.M., Li W., Krupnick A.S., Gelman A.E., Kreisel D. Role of tertiary lymphoid organs in the regulation of immune responses in the periphery. *Cell Mol. Life Sci.* 2022;79(7):359. DOI: 10.1007/s00018-022-04388-x.
 23. Halle S., Dujardin H.C., Bakocevic N., Fleige H., Danzer H., Willenzon S. et al. Induced bronchus-associated lymphoid tissue serves as a general priming site for T cells and is maintained by dendritic cells. *J. Exp. Med.* 2009;206(12):2593–2601. DOI: 10.1084/jem.20091472.
 24. Bradding P., Walls A.F., Holgate S.T. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006;117(6):1277–1284. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.02.039.
 25. Williams C.M., Galli S.J. The diverse potential effector and immunoregulatory roles of mast cells in allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000;105(5):847–859. DOI: 10.1067/mai.2000.106485.
 26. Cairns J.A., Walls A.F. Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts. *J. Clin. Invest.* 1997;99(6):1313–1321. DOI: 10.1172/JCI119290.
 27. Gruber B.L., Kew R.R., Jelaska A., Marchese M.J., Garlick J., Ren S., Schwartz L.B. et al. Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J. Immunol.* 1997;158(5):2310–2317.
 28. Garbuzenko E., Nagler A., Pickholtz D., Gillery P., Reich R., Maquart F.X. et al. Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis. *Clin. Exp. Allergy*. 2002;32(2):237–246. DOI: 10.1046/j.1365-2222.2002.01293.x.
 29. Nabe T., Matsuya K., Akamizu K., Fujita M., Nakagawa T., Shioe M. et al. Roles of basophils and mast cells infiltrating the lung by multiple antigen challenges in asthmatic responses of mice. *Br. J. Pharmacol.* 2013;169(2):462–476. DOI: 10.1111/bph.12154.
 30. Miyake K., Ito J., Karasuyama H. Role of basophils in a broad spectrum of disorders. *Front. Immunol.* 2022;13:902494. DOI: 10.3389/fimmu.2022.902494.
 31. Chandler C.E., Ernst R.K. Bacterial lipids: powerful modifiers of the innate immune response. *F1000Res*. 2017;6:F1000 Faculty Rev-1334. DOI: 10.12688/f1000research.11388.1.
 32. Krishnaswamy J.K., Jirmo A.C., Baru A.M., Ebensen T., Guzmán C.A., Sparwasser T. et al. Toll-like receptor-2 agonist-allergen coupling efficiently redirects Th2 cell responses and inhibits allergic airway eosinophilia. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2012;47(6):852–863. DOI: 10.1165/rcmb.2011-0414OC.
 33. Velasco G., Campo M., Manrique O.J., Bellou A., He H., Arestides R.S. et al. Toll-like receptor 4 or 2 agonists decrease allergic inflammation. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2005;32(3):218–224. DOI: 10.1165/rcmb.2003-0435OC.
 34. Ma S.Q., Wei H.L., Zhang X. TLR2 regulates allergic airway inflammation through NF-κB and MAPK signaling pathways in asthmatic mice. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2018;22(10):3138–3146. DOI: 10.26355/eurrev_201805_15073.
 35. Kasakura K., Takahashi K., Aizawa T., Hosono A., Kaminogawa S. A TLR2 ligand suppresses allergic inflammatory reactions by acting directly on mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2009;150(4):359–369. DOI: 10.1159/000226237.
 36. Yu Y., Yip K.H., Tam I.Y., Sam S.W., Ng C.W., Zhang W. et al. Differential effects of the Toll-like receptor 2 agonists, PGN and Pam3CSK4 on anti-IgE induced human mast cell activation. *PLoS One*. 2014;9(11):e112989. DOI: 10.1371/journal.pone.0112989.
 37. Zhang Y.Y., Yu Y.Y., Zhang Y.R., Zhang W., Yu B. The modulatory effect of TLR2 on LL-37-induced human mast cells activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016;470(2):368–374. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.01.037.

Вклад авторов

Проскурина О.В., Суханова С.А. – разработка концепции и дизайна, проведение экспериментов, сбор и математическая обработка первичных данных. Калюжин О.В. – анализ и интерпретация данных, подготовка статьи. Новикова Н.В., Колганова Н.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

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, <https://orcid.org/0000-0003-3628-2436>

Проскурина Оксана Владимировна – канд. мед. наук, ВНИЦ БАВ, г. Старая Купавна, proskurina_ov@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5718-3301>

Суханова Светлана Алексеевна – канд. биол. наук, ВНИЦ БАВ, г. Старая Купавна, ssuhanova46@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0548-4249>

Новикова Наталья Викторовна – врач высшей категории, аллерголог-иммунолог, ИАКИ, г. Москва, doctor.novikova@gmail.com

Колганова Нина Алексеевна – д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, nina3580@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6891-3250>

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

Поступила в редакцию 10.10.2022;
одобрена после рецензирования 28.10.2022;
принята к публикации 10.11.2022

УДК 616.146-073.432.1-037-092:616.12-008.46-036.12:616-056.257

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-33-40>

Прогностическое значение диаметра нижней полой вены, ультразвукового исследования легких и NT-proBNP у пациентов с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности и ожирением

Кобалава Ж.Д.¹, Кабельо Монтойа Ф.Э.^{1,2}, Сафарова А.Ф.^{1,2}, Толкачева В.В.¹, Абрамов А.А.¹

¹ Российский университет дружбы народов (РУДН)

Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8

² Городская клиническая больница (ГКБ) им. В.В. Виноградова

117292, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, 61

РЕЗЮМЕ

Цель: изучение клинического и прогностического значения диаметра нижней полой вены (НПВ), суммы В-линий по данным ультразвукового исследования (УЗИ) легких и NT-proBNP у пациентов с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ОДХСН) и ожирением.

Материалы и методы. В одноцентровое проспективное исследование включены 162 пациента с ОДХСН (66% мужчин, возраст 68 ± 12 лет, фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) 44 (35; 54)%, медиана уровня NT-proBNP 4 246 (1 741; 6 837) пг/мл). Имели избыточную массу тела 27,8% пациентов, 55% страдали ожирением. Всем пациентам при поступлении выполнены стандартное клинико-лабораторное обследование, включая УЗИ легких с подсчетом суммы В-линий, УЗИ НПВ, NT-proBNP.

Результаты. Пациенты с ожирением по сравнению с пациентами с избыточной и нормальной массой тела имели меньшую сумму В-линий при УЗИ легких [33 (21–51); 38 (27–54) и 42 (30–58) соответственно; $p = 0,002$], меньший уровень NT-proBNP [3 404 (1 630; 5 516); 4 458 (2 697; 5 969); 5 085 (2 871; 7 351) пг/мл соответственно, $p = 0,013$]. Диаметр НПВ существенно не отличался в зависимости от индекса массы тела: при ожирении – 2,3 (1,9–2,8) см, при избыточной массе тела – 2,3 (1,9–2,8) см, при нормальной массе тела – 2,2 (1,8–2,4) мм, $p = 0,324$.

По данным многофакторного регрессионного анализа Кокса, сумма В-линий более 7 при выписке (отношение рисков (ОР, hazard ratio (HR)) 8,90; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 2,03–38,30; $p = 0,003$) и НПВ более 2,4 см при поступлении (ОР 5,42; 95%-й ДИ 1,04–28,13; $p = 0,045$) независимо ассоциировались с более высокой вероятностью 12-месячной смерти от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

Заключение. Таким образом, УЗИ легких с подсчетом В-линий и оценка диаметра НПВ могут быть полезными у пациентов с ОДХСН и ожирением для стратификации по риску развития смерти от ССЗ в течение года.

Ключевые слова: ОДХСН, ожирение, В-линии, нижняя полая вена, NTproBNP

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 этическим комитетом Медицинского института РУДН (протокол № 8 от 16.11.2021).

✉ Кабельо Монтойа Флора Элиса, florinela.cabellomontoya@gmail.com

Для цитирования: Кобалава Ж.Д., Кабельо Монтойа Ф.Э., Сафарова А.Ф., Толкачева В.В., Абрамов А.А. Прогностическое значение диаметра нижней полой вены, ультразвукового исследования легких и NT-proBNP у пациентов с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности и ожирением. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):33–40. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-33-40>.

Prognostic value of the inferior vena cava diameter, lung ultrasound, and the NT-proBNP level in patients with acute decompensated heart failure and obesity

Kobalava Zh.D.¹, Cabello Montoya F.E.¹, Safarova A.F.^{1,2}, Tolkacheva V.V.¹, Abramov A.A.¹

¹ Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University)
8, Mikluho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russian Federation

² Vinogradov City Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation
61, Vavilova Str., Moscow, 117292, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To evaluate the clinical and prognostic value of the inferior vena cava (IVC) diameter, the sum of B-lines according to lung ultrasound (LUS), and the NT-proBNP level in patients with acute decompensated heart failure (ADHF) and obesity.

Materials and methods. A single-center, prospective study included 162 patients with ADHF (66% men, age 68 ± 12 years, left ventricular ejection fraction (LVEF) $44 (35; 54)\%$, median level of NT-proBNP 4,246 (1,741; 6,837) pg / ml). 27.8% of patients were overweight, 55% of patients had obesity. Upon admission, all patients underwent a standard clinical and laboratory examination, including lung ultrasound with the calculation of the sum of B-lines, IVC ultrasound, and determination of the NT-proBNP level.

Results. Obese patients had a smaller sum of B-lines according to lung ultrasound than overweight patients and those with normal weight [33 (21–51); 38 (27–54), and 42 (30–58), respectively; $p = 0.002$] and a lower level of NT-proBNP [3,404 (1,630; 5,516); 4,458 (2,697; 5,969); 5,085 (2,871; 7,351) pg / ml, respectively, $p = 0.013$]. The IVC diameter did not differ significantly depending on body mass index (BMI): with obesity – 2.3 (1.9–2.8) cm, with overweightness – 2.3 (1.9–2.8) cm, and with normal weight – 2.2 (1.8–2.4) mm, $p = 0.324$.

According to the multivariate Cox regression analysis, the sum of B-lines > 7 at discharge (hazard ratio (HR) 8.90, 95% confidence interval (CI) 2.03–38.30, $p = 0.003$) and IVC > 2.4 cm at admission (HR 5.42, 95% CI 1.04–28.13, $p = 0.045$) were independently associated with a higher risk of 12-month mortality from cardiovascular disease.

Conclusion. Therefore, lung ultrasound with B-line quantification and assessment of the IVC diameter may be useful in obese patients with ADHF to stratify the risk of 12-month mortality from cardiovascular disease.

Keywords: ADHF, obesity, B-lines, inferior vena cava, NTproBNP

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 RUDN University (Protocol No. 8 of 16.11.2021).

For citation: Kobalava Zh.D., Cabello Montoya F.E., Safarova A.F., Tolkacheva V.V., Abramov A.A. Prognostic value of the inferior vena cava diameter, lung ultrasound, and the NT-proBNP level in patients with acute decompensated heart failure and obesity. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):33–40. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-33-40>.

ВВЕДЕНИЕ

Застой является одной из основных причин повторной госпитализации и смертности у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) независимо от фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ). В последнее время широко обсуждается роль ультразвукового исследования (УЗИ) легких с оценкой суммы В-линий и диаметра нижней полой вены (НПВ) у пациентов с острой декомпенсацией хронической сердечной недостаточности (ОДХСН) для стратификации риска сердечно-сосудистых осложнений [1]. Выявленная взаимосвязь между индексом массы тела (ИМТ) как с натрийуретическими пептидами (НУП), так и с В-линиями, имеет важное клиническое значение для пациентов с ожирением [2].

У пациентов с ожирением наблюдается задержка натрия, увеличение внутрисосудистого объема и артериального давления, а также повышение постнагрузки, что может привести к неблагоприятному ремоделированию сердца и способствовать развитию сердечной недостаточности (СН).

У пациентов с одышкой и (или) отеками и ожирением диагностика СН вызывает определенные трудности, так как генез этих симптомов не всегда связан с развитием СН. Кроме того, есть данные об обратной корреляции между ИМТ и количеством В-линий при УЗИ легких у пациентов с острой или ХСН [1, 2]. Таким образом, поиск эффективных методов ранней диагностики застоя у пациентов с ОДХСН и ожирением является актуальной задачей.

Целью исследования явилось изучение клинического и прогностического значения диаметра НПВ, суммы В-линий по данным УЗИ легких и NT-proBNP у пациентов с ОДХСН и ожирением.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В одноцентровое проспективное исследование включены 162 пациента с ОДХСН (66% мужчин, средний возраст 68 ± 12 лет, ФВ ЛЖ 44 (35; 54)%) (табл. 1).

Диагноз ОДХСН устанавливали на основании общепринятых критериев: быстрое нарастание симптомов и (или) признаков СН, структурно-функциональные изменения сердца и повышение уровня NT-proBNP. Наличие острого коронарного синдрома, терминальной стадии хронической болезни почек, онкологических заболеваний, тяжелой анемии, фебрильной лихорадки, первичной патологии легких (пневмонии, обострения хронической обструктивной болезни легких или бронхиальной астмы),

травмы грудной клетки рассматривали как критерии исключения из исследования.

Таблица 1

Характеристика пациентов с ОДХСН	
Показатель	Значение
Пол (мужской/женский), <i>n</i> (%)	107 (66)/55 (34)
Возраст, лет, $M \pm SD$	68 ± 12
Длительность СН, лет, <i>Me (IQR)</i>	2 (0,3; 5)
Функциональный класс СН, NYHA, <i>n</i> (%)	
– II	5 (4)
– III	79 (48)
– IV	78 (48)
Фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ), %, $M \pm SD$	40 ± 14
Артериальная гипертензия, <i>n</i> (%)	157 (96,9)
Инфаркт миокарда в анамнезе, <i>n</i> (%)	71 (44)
Фибрилляция предсердий, <i>n</i> (%)	97 (59,8)
Сахарный диабет 2-го типа, <i>n</i> (%)	62 (38,2)
Хроническая анемия, <i>n</i> (%)	36 (22,2)
NT-proBNP, пг/мл, <i>Me (IQR)</i>	4 246 (1 741; 6 837)
Креатинин сыворотки, мкмоль/л, <i>Me (IQR)</i>	107 (92; 136)
СКФ СКД-EPI, мл/мин/1,73 м, $M \pm SD$	54 (40; 69)
Глюкоза, ммоль/л, $M \pm SD$	6,2 (5,3; 8)

Примечание. СН – сердечная недостаточность, СКФ СКД-EPI – скорость клубочковой фильтрации по формуле СКД-EPI.

Всем пациентам проводили рутинное клиническое обследование с оценкой симптомов и (или) признаков СН. Уровень NT-proBNP анализировали иммунохемилюминесцентным методом (PathFast, Япония).

Эхокардиографию (ЭхоКГ), УЗИ легких и измерение диаметра НПВ выполняли на аппарате экспертного класса VIVID E90 (GE Healthcare, США). При проведении стандартной ЭхоКГ с оценкой ФВ ЛЖ по Симпсону измеряли также максимальный диаметр НПВ и коллабирование во время дыхательного цикла, используя продольную позицию из субкостального доступа (рис. 1).

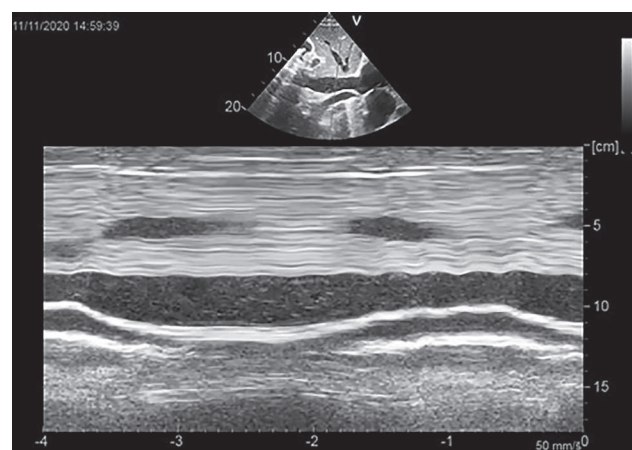


Рис. 1. Оценка диаметра нижней полой вены

УЗИ легких выполняли в первые 48 ч от поступления с помощью абдоминального датчика в восьми зонах по переднебоковым поверхностям с обеих сторон грудной клетки, оценивали наличие и подсчитывали сумму В-линий в каждой зоне (рис. 2). Ультразвуковой профиль легких считали нормальным, соответствующим отсутствию легочного застоя, при сумме В-линий менее 5. При сумме В-линий более 5 диагностировали легочный застой [3].

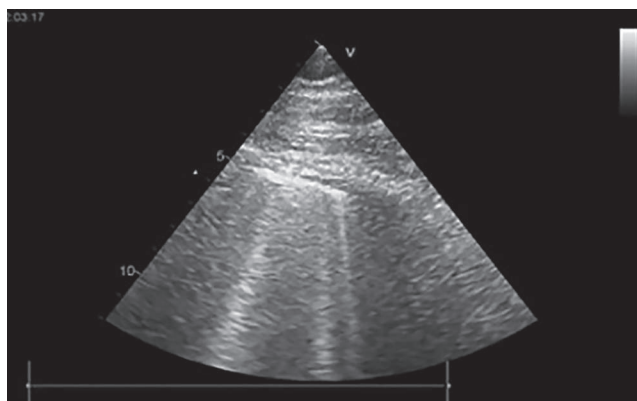


Рис. 2. Ультразвуковое исследование легких. Множественные В-линии

Период наблюдения составил 12 мес. При телефонных контактах через 1, 3, 6, 12 мес после выписки оценивали исходы (смерть от СН и повторная госпитализация по поводу декомпенсации СН). Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение SPSS (версия 23.0), MedCalc Version 19. Количественные переменные описывали как среднее арифметическое значение (M) и стандартное отклонение среднего значения (SD) при нормальном распределении или как медиану (Me) интерквартильного размаха (IQR) – при асимметричном распределении.

Достоверность различий между двумя группами по количественным переменным оценивали при помощи U -критерия Манна – Уитни. Качественные переменные представляли абсолютными (n) и относительными (%) значениями. Для сравнения групп по частоте качественных переменных использовали критерий χ^2 Пирсона.

Метод кривых рабочих характеристик приемника (ROC) был использован для определения прогностической точки отсечки параметров застоя у пациентов с нормальной массой тела, избыточной массой тела и ожирением при СН, стратифицируя ее на фатальные и повторные госпитализации. Рассчитывали соотношение случаев в положительной группе (распространенность), чувствительность и специфичность. Были созданы кривые ROC, и прогностические пороговые значения определены как точка на кривой, ближайшая к 100%-й оси у. Это было сделано путем определения значения параметров перегрузки, связанных с самыми высокими значениями суммы чувствительности и специфичности [4].

Вероятность выживания оценивали методом построения кривых выживаемости Каплана – Майера, сравнение производили с помощью лог-рангового критерия. Влияние на риск смерти или повторной госпитализации по поводу СН оценивали при одно- и многофакторном регрессионном анализе Кокса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все пациенты были разделены на три группы в зависимости от ИМТ: с нормальной массой $<24,9$ кг/м², избыточной массой 25–29,9 кг/м², ожирением ≥ 30 кг/м². Сравнительная характеристика пациентов в зависимости от ИМТ представлена в табл. 2.

Таблица 2

Сравнительная характеристика пациентов с ОДХСН в зависимости от индекса массы тела при поступлении				
Параметр	ИМТ, кг/м ²			p
	$<24,9$	25–29,9	≥ 30	
Пол (мужской/женский)	14 (52)/13 (48)	35 (77,8)/10 (22,2)	58 (64,4)/ 32(35,5)	0,023
Возраст, лет, Me (IQR)	71,8 (66–82)	71,3 (62–80)	65,9 (57–76)	0,005
ИМТ, кг/м ² , Me (IQR)	23,7 (23; 24)	27,8 (27; 29)	35 (32; 38)	$<0,000$
СН (NYHA), n (%):				
– II			6 (5,5)	0,007
– III	19 (70)	28 (62)	31 (35,5)	
– IV	8 (30)	17 (38)	53 (59)	
Гипертоническая болезнь, n (%)	24 (88,8)	44 (97,8)	89 (98,8)	0,031
Сахарный диабет, n (%)	6 (22,22)	14 (31,1)	42 (46,6)	0,009
Курение, n (%)	9 (33,3)	15 (33,3)	36 (40)	0,404
Фибрилляция предсердий, n (%)	15 (55,5)	25 (55,6)	57 (63,3)	0,337
ЧСС, уд/мин, Me (IQR)	87,7 (68–100)	87,8 (75–100)	91,9 (78–100)	0,126

Параметр	ИМТ, кг/м ²			<i>p</i>
	<24,9	25–29,9	≥30	
САД, <i>Me (IQR)</i>	135,1 (120–150)	139,6 (120–160)	144,8 (120–167)	0,093
ДАД, <i>Me (IQR)</i>	78,8 (70–84)	79,3 (40–80)	84,5 (80–90)	0,028
Одышка в покое, <i>n (%)</i>	10 (37)	16 (36)	28 (31)	0,490
Отеки нижних конечностей при выписке, <i>n (%)</i>	2 (7,4)	13 (28,8)	38 (42,2)	0,031
Фракция выброса, ФВ ЛЖ, %	43,03 (28–55)	37,5 (23–47)	41,4 (31–50)	0,384
Сумма В-линий, <i>Me (IQR)</i>	42 (30; 58)	38 (27; 54)	33 (21; 51)	0,002
NT-proBNP, пг/мл, <i>Me (IQR)</i>	5 085 (2 871; 7 351)	4 458 (2 697; 11 969)	3 404 (1 630; 5 516)	0,013
Креатинин, мкмоль/л, <i>Me (IQR)</i>	102 (89; 163)	107 (95; 160)	107 (91; 133)	0,596
СКФ СКД-EPI, мл/мин/1,73 м ²	53 (34; 67)	49 (39; 65)	56 (43; 70)	0,212
Глюкоза, ммоль/л, <i>Me (IQR)</i>	5,7 (5,2; 7,2)	6,12 (4,9; 8,1)	6,4 (5,4; 8,4)	0,155
Диаметр нижней полой вены, см, <i>M ± SD</i>	2,22 ± 0,51	2,33 ± 0,52	2,33 ± 0,52	0,324

Примечание. ИМТ – индекс массы тела, СН – сердечная недостаточность, ЧСС – частота сердечных сокращений, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, СКФ СКД-EPI – скорость клубочковой фильтрации по формуле СКД-EPI.

Пациенты с ожирением по сравнению с пациентами с избыточной массой и нормальным ИМТ были моложе, чаще страдали сахарным диабетом (СД), артериальной гипертензией (АГ), имели более высокое диастолическое артериальное давление (ДАД), имели меньшую сумму В-линий и меньший уровень NT-proBNP. Не было выявлено достоверно значимой разницы диаметра НПВ в зависимости от ИМТ.

За 12 мес наблюдения выявлено 85 событий (52,4%), из них 29 случаев смерти (18%), 56 повтор-

ных госпитализаций по поводу ДХСН (34,4%). При этом у пациентов с ожирением частота событий составила 47%: смерть – в 13%, повторная госпитализация с ДХСН в 34% случаев.

При построении ROC-кривых для прогнозирования исходов у пациентов с ожирением были выявлены пороговые значения для суммы В-линий по данным УЗИ легких и диаметра НПВ (табл. 3). Не выявлено достоверных пороговых значений для уровня NT-proBNP в этой группе пациентов.

Таблица 3

Пороговые значения для прогнозирования исходов у пациентов с ожирением					
Параметр	Пороговые значения	Чувствительность	Специфичность	AUC	<i>p</i>
Сумма В-линий	>7	77	74	0,71	0,026
Нижняя полая вена, см	>2,4	78	68	0,73	0,0002
NT-proBNP, пг/мл	>5053,8	70	77	0,70	0,059

Однофакторный регрессионный анализ Кокса представлен в табл. 4. Многофакторный регрессионный анализ Кокса (включивший пол, возраст, ФВ ЛЖ, ФК СН) подтвердил независимую прогностическую значимость в отношении риска развития смерти от ССЗ в период наблюдения для суммы

В-линий более 7 при выписке (отношение рисков (ОР, hazard ratio (HR)) 8,90; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 2,03–38,30; *p* = 0,003) и диаметра НПВ более 2,4 см при поступлении (ОР 5,42; 95%-й ДИ 1,04–28,13; *p* = 0,045) у пациентов с ОДХСН и ожирением.

Таблица 4

Однофакторный регрессионный анализ Кокса в отношении риска смерти от сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с сердечной недостаточностью в зависимости от индекса массы тела						
Показатель	ИМТ < 24,9 кг/м², n = 6 (22%)		ИМТ = 25–29,9 кг/м², n = 11 (24%)		ИМТ ≥30 кг/м², n = 12 (44%)	
	ОШ (95%-й ДИ)	p	ОШ (95%-й ДИ)	p	ОШ (95%-й ДИ)	p
Фибрилляция предсердий	0,84 [0,17–4,20]	0,841	1,08 [0,51–2,28]	0,828	2,55 [1,13–5,73]	0,023
Нижняя полая вена	0,87 [0,04–2,09]	0,930	1,04 [0,52–2,09]	0,894	2,92 [1,31–6,54]	0,009
Фракция выброса левого желудочка <40%	2,43 [0,44–13,3]	0,304	1,59 [0,93–2,68]	0,087	2,09 [1,05–4,16]	0,035
Сумма В-линий при выписке	1,09 [0,96–1,23]	0,162	1,03 [1,00–1,06]	0,024	1,06 [1,01–1,10]	0,011
В-линии при выписке > 7	0,77 [0,12–3,69]	0,652	3,07 [1,44–6,53]	0,003	10,2 [2,76–37,7]	<0,000
LogNTproBNP	1,25 [0,52–3,04]	0,609	1,59 [1,06–2,38]	0,023	1,82 [0,89–3,70]	0,098
NT-proBNP	1,00 [1,00–1,00]	0,779	1,00 [1,00–1,00]	0,033	1,00 [1,00–1,00]	0,064

Кривые Каплана – Мейера кумулятивной вероятности выживания (смерть от ССЗ) у пациентов с ожирением в зависимости от суммы В-линий, диаметра НПВ представлены на рис. 3, 4.

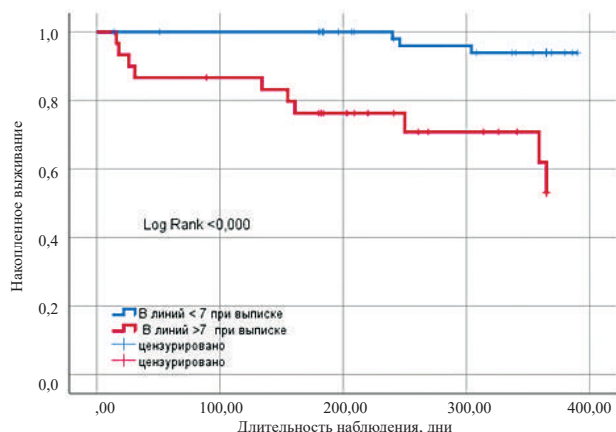


Рис. 3. Кривые Каплана – Мейера кумулятивной вероятности выживания (без смерти от ССЗ) в зависимости от суммы В-линий > 7 по данным УЗИ легких при выписке у пациентов с ожирением

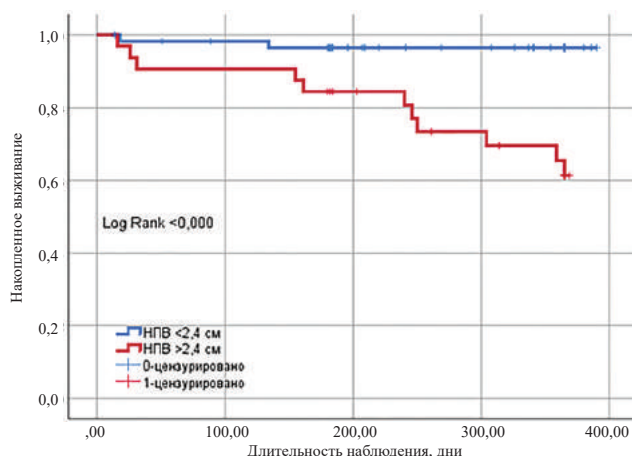


Рис. 4. Кривые Каплана – Мейера кумулятивной вероятности выживания (без смерти от ССЗ) в зависимости от диаметра НПВ > 2,4 см по данным УЗИ легких при выписке у пациентов с ожирением

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании у пациентов с ОДХСН и ожирением обнаружена обратная зависимость между ИМТ как с NTproBNP, так и с суммой В-линий. Диаметр НПВ достоверно не отличался у пациентов в зависимости от ИМТ. Наши результаты согласуются с результатами недавнего исследования А. Palazzuoli и соавт., в котором была получена обратная корреляция между ИМТ и суммой В-линий при УЗИ легких и отсутствие корреляции между диаметром НПВ и ИМТ у пациентов с острой или хронической СН [2, 5]. Кроме того, мы обратили внимание на более низкие уровни NTproBNP и меньшее коли-

чество В-линий при УЗИ легких у пациентов с ожирением, что также продемонстрировано в работе Е. Жоусе и соавт. [6]. Меньшее количество В-линий у пациентов с ожирением, возможно, связано с выраженной подкожно-жировой клетчаткой [1, 2, 7]. В то же время на сегодняшний день выдвинуто несколько гипотез, объясняющих меньшее количество В-линий и более низкие уровни НУП у пациентов с СН и ожирением.

Согласно литературным данным, избыточная масса тела связана с более низким риском развития смерти у пациентов с СН, что свидетельствует о менее тяжелом течении заболевания [1, 2, 8, 9]. Однако пациенты с СН и ожирением по-разному реагируют на лечение СН. Более высокий ИМТ может быть связан как с перегрузкой жидкостью, так и с избыточным накоплением жировой ткани. В первом случае диуретическая реакция может быть значительно более эффективной, а во втором случае, наоборот, даже снижена. В ретроспективном анализе исследования DOSE обнаружено, что пациенты с ИМТ > 30 кг/м² лучше реагируют на прием петлевых диуретиков, чем пациенты без ожирения [10]. Также возможно, что введение внутривенных петлевых диуретиков быстро устраняет застой в легких, но оказывает меньшее влияние на диаметр НПВ. Поскольку более высокий ИМТ связан с лучшим прогнозом, пациенты с ожирением и СН могут быть менее склонны к развитию застоя в легких по сравнению с пациентами с более низким ИМТ [11, 12]. В нашем исследовании выявлена прогностическая роль суммы В-линий более 7 при выписке и диаметра НПВ более 2,4 см при поступлении в отношении развития смерти от ССЗ в течение 12 мес у пациентов с СН и ожирением, что также согласовывается с результатами исследования других авторов [1, 2, 13–15].

Ограничения исследования связаны с относительно небольшим количеством пациентов. При УЗИ легких мы использовали 8-зонный протокол, который имеет хорошую диагностическую точность и является более практичным для клинического использования в неотложных ситуациях. При использовании других протоколов (4- или 28-зонного) возможны иные результаты [16–18]. Для дальнейшего определения взаимосвязи между ИМТ, диаметром НПВ и суммой В-линий необходимы долгосрочные исследования в большей когорте пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, УЗИ легких с подсчетом сумм В-линий и оценка диаметра НПВ могут быть полезными у пациентов с ОДХСН и ожирением для стратификации по риску развития смерти от сердечно-сосудистых заболеваний в течение года.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Brainin P., Claggett B., Lewis E.F., Dwyer K.H., Merz A.A., Silverman M.B. et al. Body mass index and B-lines on lung ultrasonography in chronic and acute heart failure. *ESC Heart Failure*. 2020; 7(3):1201–1209. DOI: 10.1002/ehf2.12640.
2. Palazzuoli A., Ruocco G., Franci B., Evangelista I., Lucani B., Nuti R. et al. Ultrasound indices of congestion in patients with acute heart failure according to body mass index. *Clinical Research in Cardiology: Official Journal of the German Cardiac Society*. 2020;109(11):1423–1433. DOI: 10.1007/s00392-020-01642-9.
3. Кобалава Ж.Д., Сафарова А.Ф., Соловьева А.Е., Кабельо Монтойя Ф.Э., Мерай И.А., Шаварова Е.К. и др. Легочный застой по данным ультразвукового исследования у пациентов с декомпенсацией сердечной недостаточности. *Кардиология*. 2019;59(8):5–14. DOI: 10.18087/cardio.2019.8.n534.
4. Muesan M.L., Salvetti M., Virdis A., Masi S., Casiglia E., Tikhonoff V. et al. Serum uric acid, predicts heart failure in a large Italian cohort: search for a cut-off value the URic acid Right for heArt Health study. *J. Hypertens*. 2021;39(1):62–69. DOI: 10.1097/HJH.0000000000002589.
5. Hollstein T., Schlicht K., Krause L., Hagen S., Rohmann N., Schulte D.M. et al. Effect of various weight loss interventions on serum NT-proBNP concentration in severe obese subjects without clinical manifest heart failure. *Sci. Rep*. 2021;11(1):10096. DOI: 10.1038/s41598-021-89426-7.
6. Joyce E., Lala A., Stevens S.R., Cooper L.B., AbouEzzeddine O.F., Groarke J.D. et al. Heart failure apprentice network. Prevalence, profile, and prognosis of severe obesity in contemporary hospitalized heart failure trial populations. *JACC. Heart Failure*. 2016;4(12):923–931. DOI: 10.1016/j.jchf.2016.09.013.
7. Picano E., Pellikka P.A. Ultrasound of extravascular lung water: a new standard for pulmonary congestion. *Eur. Heart J*. 2016;37(27):2097–2104. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw164.
8. Donataccio M.P., Vanzo A., Bosello O. Obesity paradox and heart failure. *Eat Weight Disord*. 2021;26(6):1697–1707. DOI: 10.1007/s40519-020-00982-9.
9. Zhang J., Begley A., Jackson R., Harrison M., Pellicori P., Clark A.L. et al. J. Body mass index and all-cause mortality in heart failure patients with normal and reduced ventricular ejection fraction: a dose-response meta-analysis. *Clinical Research in Cardiology: Official Journal of the German Cardiac Society*. 2019;108(2):119–132. DOI: 10.1007/s00392-018-1302-7.
10. Gupta A., Braunwald E., McNulty S., Felker G.M., Gilbert E.M., Alharethi R. et al. Obesity and the response to intensified diuretic treatment in decompensated heart failure: a DOSE trial substudy. *Journal of Cardiac Failure*. 2012;18(11):837–844. DOI: 10.1016/j.cardfail.2012.09.005.
11. Marcks N., Aimo A., Januzzi J.L., Jr, Vergaro G., Clerico A., Latini R. et al. Re-appraisal of the obesity paradox in heart failure: a meta-analysis of individual data. *Clinical Research in Cardiology: Official Journal of the German Cardiac Society*. 2021;110(8):1280–1291. DOI: 10.1007/s00392-021-01822-1.
12. Freja S., Pidello S., Volpe A., Canavosio F.G., Galluzzo A., Bovolenta V. et al. Diuretic treatment in high-risk acute decompensation of advanced chronic heart failure-bolus intermittent vs. continuous infusion of furosemide: a randomized controlled trial. *Clinical Research in Cardiology: Official Journal of the German Cardiac Society*. 2020;109(4):17–425. DOI: 10.1007/s00392-019-01521-y.
13. Seko Y., Kato T., Morimoto T., Yaku H., Inuzuka Y., Tamaki Y. et al. Association between body mass index and prognosis of patients hospitalized with heart failure. *Scientific Reports*. 2020;10(1):16663. DOI: 10.1038/s41598-020-73640-w.
14. Pellicori P., Shah P., Cuthbert J., Urbinati A., Zhang J., Kallvikbacka-Bennett A. et al. Prevalence, pattern and clinical relevance of ultrasound indices of congestion in outpatients with heart failure. *Eur. J. Heart Fail*. 2019;21(7):904–916. DOI: 10.1002/ehf.1383.
15. Curbelo J., Rodriguez-Cortes P., Aguilera M., Gil-Martinez P., Martin D., Suarez Fernandez C. Comparison between inferior vena cava ultrasound, lung ultrasound, bioelectric impedance analysis, and natriuretic peptides in chronic heart failure. *Current Medical Research and Opinion*. 2019;35(4):705–713. DOI: 10.1080/03007995.2018.1519502.
16. Pivetta E., Goffi A., Nazerian P., Castagno D., Tozzetti C., Tizzani P. et al. Study Group on Lung Ultrasound from the Molinette and Careggi Hospitals. Lung ultrasound integrated with clinical assessment for the diagnosis of acute decompensated heart failure in the emergency department: a randomized controlled trial. *Eur. J. Heart Fail*. 2019;21(6):754–766. DOI: 10.1002/ehf.1379.
17. Platz E., Jhund P.S., Gierd N., Pivetta E., McMurray J., Peacock W.F. et al. Expert consensus document: Reporting checklist for quantification of pulmonary congestion by lung ultrasound in heart failure. *European J. Heart Fail*. 2019;21(7):844–851. DOI: 10.1002/ehf.1499.
18. Araiza-Garaygordobil D., Gopar-Nieto R., Martinez-Amezcu P., Cabello-López A., Alanis-Estrada G., Luna-Herbert A. et al. A randomized controlled trial of lung ultrasound-guided therapy in heart failure (CLUSTER-HF study). *Am. Heart J*. 2020Sept.; 227:31–39. DOI: 10.1016/j.ahj.2020.

Вклад авторов

Кобалава Ж.Д. – концепция и дизайн исследования. Кабельо Монтойя Ф.Э., Сафарова А.Ф., Толкачева В.В. – анализ полученных данных, написание текста. Кабельо Монтойя Ф.Э., Абрамов А.А. – сбор и обработка материалов.

Информация об авторах

Кобалава Жанна Давидовна – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. кафедрой внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН, г. Москва, zkobalava@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5873-1768>

Кабельо Монтойа Флора Элиса – канд. мед. наук, ассистент, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН, г. Москва, flora.cabello@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2334-6675>

Сафарова Айтен Фуад кызы – д-р мед. наук, профессор кафедры внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН, г. Москва, aytensaf@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2412-5986>

Толкачева Вероника Владимировна – д-р мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН, г. Москва, tolkachevav@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6847-8797>

Абрамов Алексей Алексеевич – ординатор, кафедра внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени академика В.С. Моисеева, Медицинский институт, РУДН, г. Москва, aaabramov196@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9678-5871>

✉) **Кабельо Монтойа Флора Элиса**, florinela.cabellomontoya@gmail.com

Поступила в редакцию 10.08.2022;
одобрена после рецензирования 25.08.2022;
принята к публикации 08.09.2022

УДК 616.12-008.46:616.127-037
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-41-50>

Прогностическая роль резерва миокардиального кровотока у больных с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса

Копьева К.В.¹, Мальцева А.Н.¹, Гракова Е.В.¹, Мочула А.В.¹, Солдатенко М.В.¹,
Калюжин В.В.², Завадовский К.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, Томск, ул. Киевская, 111а

² Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение роли параметров миокардиального кровотока (MBF) и резерва миокардиального кровотока (MFR) у пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) и необструктивным поражением коронарных артерий (КА) в стратификации риска прогрессирования СНсФВ в течение 12 мес наблюдения.

Материалы и методы. В исследование включено 58 пациентов с необструктивным поражением КА и СНсФВ (ФВЛЖ 62 [58; 66]%). С помощью динамической CZT-SPECT оценивали показатели MFR, MBF в покое (rest-MBF) и при нагрузке (на фоне введения стресс-агента аденозинтрифосфата, stress-MBF). Уровни NT-proBNP определяли с помощью иммуноферментного анализа. Параметры диастолической дисфункции измеряли с помощью двумерной трансторакальной эхокардиографии. Систолическая глобальная продольная деформация ЛЖ (GLS) оценивалась с помощью 2D-speckle tracking.

Результаты. Через 12 мес наблюдения больные ретроспективно были разделены на две группы: в группу 1 ($n = 11$) вошли больные с неблагоприятным течением СНсФВ, в группу 2 ($n = 47$) – с благоприятным. В группе 1 уровень NT-proBNP был выше в 3,8 раза, чем в группе 2 (284,5 [183,42; 716,73] и 1071,4 [272,4; 2168,1] пг/мл соответственно). Значения MFR были ниже в группе 1 на 45,4% ($p < 0,001$), чем в группе 2 (1,19 [0,86; 1,55] vs 2,18 [1,7; 2,55] соответственно). Уровни rest-MBF были выше на 23,6% ($p = 0,046$), а stress-MBF ниже на 28,2% ($p = 0,046$) в группе 1, чем в группе 2. При проведении многофакторного регрессионного анализа уровни NT-proBNP (отношение шансов (ОШ) 3,23; $p = 0,008$), GLS (ОШ 2,27; $p = 0,012$) и MFR (ОШ 8,09; $p < 0,001$) оказались независимыми предикторами неблагоприятного течения СНсФВ. По данным ROC-анализа, уровни MFR $\leq 1,62$ (AUC = 0,827; $p < 0,001$), GLS ≤ -18 (AUC = 0,756; $p = 0,002$) и NT-proBNP $\geq 760,5$ пг/мл (AUC = 0,708; $p = 0,040$) можно рассматривать в качестве маркеров неблагоприятных исходов. Однако комбинированное определение NT-proBNP с MFR обладало большей значимостью (AUC 0,935; $p < 0,001$) в стратификации риска по сравнению с мономаркерной моделью, тогда как добавление GLS не увеличивало значимость анализа.

Заключение. Уровни NT-proBNP, GLS и MFR могут использоваться в качестве неинвазивных маркеров неблагоприятного течения СНсФВ у пациентов с необструктивным поражением КА, при этом комбинированное определение NT-proBNP и MBF увеличивает прогностическую значимость анализа.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, сохраненная фракция выброса, резерв миокардиального кровотока, прогноз, натрийуретический пептид

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

✉ Копьева Кристина Васильевна, kristin-kop@inbox.ru

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке гранта Президента Российской Федерации № МК-4257.2022.3.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 177 от 30.10.2018).

Для цитирования: Копьева К.В., Мальцева А.Н., Гракова Е.В., Мочула А.В., Солдатенко М.В., Калюжин В.В., Завадовский К.В. Прогностическая роль резерва миокардиального кровотока у больных с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):41–50. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-41-50>.

Prognostic value of myocardial flow reserve in patients with heart failure with preserved ejection fraction

Kopeva K.V.¹, Maltseva A.N.¹, Grakova E.V.¹, Mochula A.V.¹, Soldatenko M.V.¹, Kalyuzhin V. V.², Zavadovsky K.V.²

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences (RAS)

111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

² Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the prognostic value of myocardial blood flow (MBF) and myocardial flow reserve (MFR) parameters in patients with heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) and non-obstructive coronary artery disease (CAD) in risk stratification of HFpEF progression during a 12-month follow-up.

Materials and methods. The study included 58 patients with non-obstructive CAD and HFpEF (LVEF 62 [58; 66]%). Dynamic CZT-SPECT was used to evaluate MFR and MBF at rest (rest-MBF) and stress (stress-MBF). NT-proBNP levels were determined by the enzyme immunoassay. Diastolic dysfunction parameters were measured using 2D transthoracic echocardiography. Left ventricular systolic global longitudinal strain (GLS) was assessed using 2D speckle tracking.

Results. After a 12-month follow-up, the patients were retrospectively divided into 2 groups: group 1 ($n = 11$) included patients with an unfavorable course of HFpEF, group 2 ($n = 47$) encompassed patients with a favorable course of the disease. In group 1, the level of NT-proBNP was 3.8 times higher than in group 2 (284.5 [183.42; 716.73] and 1,071.4 [272.4; 2,168.1] pg / ml, respectively). MFR values in group 1 were lower by 45.4% ($p < 0.001$) than in group 2 (1.19 [0.86; 1.55] vs. 2.18 [1.7; 2.55], respectively). In group 1, rest-MBF levels were higher by 23.6% ($p = 0.046$) and stress-MBF was lower by 28.2% ($p = 0.046$) than in group 2. The multivariate regression analysis revealed that NT-proBNP levels (odds ratio (OR) 3.23; $p = 0.008$), GLS (OR 2.27; $p = 0.012$), and MFR (OR 8.09; $p < 0.001$) were independent predictors of adverse outcomes in HFpEF. Based on the ROC analysis, MFR levels ≤ 1.62 (AUC = 0.827; $p < 0.001$), GLS ≤ -18 (AUC = 0.756; $p = 0.002$), and NT-proBNP ≥ 760.5 pg / ml (AUC = 0.708; $p = 0.040$) may be considered as markers of adverse outcomes. However, the combined determination of NT-proBNP and MFR had a greater significance (AUC 0.935; $p < 0.001$) in risk stratification compared with the monomarker model, while the addition of GLS did not increase the significance of the analysis.

Conclusion. Levels of NT-proBNP, GLS, and MFR may be used as non-invasive markers of an adverse course of HFpEF in patients with non-obstructive CAD, while the combined determination of NT-proBNP and MBF increases the prognostic value of the analysis.

Keywords: heart failure, preserved ejection fraction, myocardial flow reserve, prognosis, natriuretic peptide

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 supported by the grant awarded by the President of the Russian Federation No. MK-4257.2022.3.

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 NRMC (Protocol No. 177 of 30.10.2018).

Для цитирования: Kopeva K.V., Maltseva A.N., Grakova E.V., Mochula A.V., Soldatenko M.V., Kalyuzhin V.V., Zavadovsky K.V. Prognostic value of myocardial flow reserve in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):41–50. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-41-50>.

ВВЕДЕНИЕ

Сердечная недостаточность (СН), получившая статус новой эпидемии в 1997 г., остается актуальной серьезной клинической проблемой и проблемой общественного здравоохранения [1]. Примерно у 50% пациентов с СН диагностируется сохраненная фракция выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) [2], и распространенность СН с сохраненной фракцией выброса (СНсФВ) ежегодно увеличивается примерно на 1% по сравнению с данным показателем для СН со сниженной ФВ ЛЖ [3]. При этом уровень 5-летней выживаемости больных с СНсФВ сопоставим с некоторыми видами негематологического рака [4], а стоимость лечения сопряжена с высокими экономическими затратами, составляющими 1–2% от общего бюджета здравоохранения. Согласно прогнозам, к 2030 г. ежегодные расходы на лечение данной когорты пациентов будут составлять около 69,8 млрд долл. [5].

До настоящего времени механизм развития и прогрессирования СНсФВ остается не до конца изученным [6]. При этом отсутствие точного понимания ее патофизиологии отражает отсутствие адекватной терапии согласно современным рекомендациям [7]. В последнее время была предложена новая инновационная теория развития и прогрессирования СНсФВ, в основе которой лежит коронарная микрососудистая дисфункция (КМД) [8]. Результаты ряда международных исследований с использованием инвазивных или неинвазивных методов диагностики подтверждают предположение о том, что КМД встречается значительно чаще, чем это было установлено ранее, в том числе у пациентов с СНсФВ [9]. V.L. Murthy и соавт. установили, что у 53% пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий (КА) и ангинозными болями выявляются признаки стресс-индуцируемой ишемии миокарда [10]. Согласно данным метаанализа 56 исследований

с участием 14 427 пациентов, доля пациентов с КМД в общей популяции составляла 41% [9], а у пациентов с СНсФВ распространенность КМД возрастала до 75–85% [11, 12].

Резерв миокардиального кровотока (myocardial flow reserve, MFR), количественно определяемый как отношение гиперемизированного миокардиального кровотока к кровотоку в покое, является функциональной мерой ишемии крупных и мелких сосудов, а при отсутствии окклюзирующего поражения субэпикардиальных КА – маркером КМД [13]. В настоящее время магнитно-резонансная томография сердца и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) являются одними из основных методов для диагностики КМД, но их использование для оценки параметров перфузии миокарда не нашло широкого применения в клинической практике из-за сложности методов и высокой стоимости [14, 15]. Другим методом определения абсолютных показателей перфузии является динамическая однофотонная эмиссионная компьютерная томография миокарда [16]. Эта методика связана с появлением нового класса гамма-камер, оснащенных полупроводниковыми кадмий-цинк-теллуридными детекторами (Cadmium-Zinc-Telluride, CZT). При этом метод, наравне с ПЭТ, в достаточной степени апробирован и валидизирован, а также является более доступным для визуализации микроциркуляторных изменений коронарного русла [17]. Однако прогностическая роль MFR и MBF параметров, полученных с помощью CZT-детекторов, на стратификацию риска прогрессирования СНсФВ до сих пор не оценивалась.

Целью исследования являлось изучение роли параметров миокардиального кровотока и резерва миокардиального кровотока у пациентов с СНсФВ и необструктивным поражением КА в стратификации риска прогрессирования СНсФВ в течение 12 мес наблюдения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации и одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 177 от 30.10.2018). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения: 1) необструктивное (<50%) поражение КА; 2) фракция выброса ЛЖ $\geq 50\%$, измеренная с помощью эхокардиографии; 3) диастолическая дисфункция (ДД) ЛЖ/повышенное давление наполнения левого желудочка по данным эхокардиографии; 4) синусовый ритм; 5) NT-proBNP ≥ 125 пг/мл; 6) подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: 1) перенесенный ранее инфаркт миокарда; 2) плановая коронарная реваскуляризация и (или) предшествующая реваскуляризация КА; 3) систолическое артериальное давление > 160 мм рт. ст.; 4) симптоматическая гипотензия со средним систолическим АД < 90 мм рт. ст.; 5) атрио-вентрикулярная блокада II–III степени, синдром слабости синусового узла; 6) персистирующая или хроническая фибрилляция и (или) трепетание предсердий; 7) недостаточность или стеноз клапанов сердца $\geq$ II степени; 8) гипертрофическая и дилатационная кардиомиопатии; 9) перенесенная ранее тромбоэмболия легочной артерии с высокой легочной гипертензией ≥ 45 мм рт. ст.; 10) тяжелая форма бронхиальной астмы и (или) хронической обструктивной болезни легких; 11) патология щитовидной железы; 12) скорость клубочковой фильтрации по формуле CKD-EPI < 30 мл/мин/м²; 13) печеночная недостаточность класса C по Чайлд – Пью; 14) острые и хронические воспалительные заболевания сердца; 15) уровень гемоглобина < 100 г/дл; 16) инсульт или транзиторная ишемическая атака в течение 90 сут до включения в исследование; 17) ожирение (индекс массы тела > 35 кг/м²); 18) жизнеугрожающие неконтролируемые аритмии.

Подготовка к коронарной компьютерной томографической ангиографии проводилась по стандартному протоколу и включала прием бета-адреноблокаторов и преднизолона, отказ от напитков и пищи с кофеином, исключался прием глюкофажа (метформина), виагры, обезболивающих (адвила или мотрина) и других лекарственных препаратов. Кроме того, пациенты были проинструктированы о противопоказаниях процедуры, связанными с аллергическими реакциями, беременностью и заболеванием почек. Перед каждым сканированием оценивали частоту сердечных сокращений и артериальное давление.

Все пациенты получали 0,5 мг нитроглицерина сублингвально.

Для сканирования с контрастным усилением 70–90 мл неионогенного контрастного вещества (йопамидол 370 мг, Bracco Diagnostics, Италия) вводили внутривенно через кубитальный катетер 18G со скоростью 5–5,5 мл/с с последующим введением 60 мл 0,9%-го NaCl. Для анализа набора данных использовались осевые изображения, криволинейные многоплоскостные и поперечные преобразования, а также проекции максимальной интенсивности тонких плит. Все исследования анализировались на гибридном компьютерном томографе (Advantage Workstation 4.6, GE Healthcare, США). Согласно модифицированной классификации Ассоциации кардиологов, коронарные артерии подразделяли на 16 сегментов [18].

Подготовка пациентов к динамической однофотонной эмиссионной компьютерной томографии миокарда, протокол исследования, запись и обработка статических и динамических скинтиграфических данных изложены в предыдущих работах [16]. За 24 ч до исследования пациентам отменяли прием бета-адреноблокаторов, нитратов, антагонистов кальциевых каналов, кофеина и производных метилксантина. Исследования выполняли в утренние часы, натощак, на фоне синусового ритма, по двухдневному протоколу «покой–нагрузка» с использованием радиофармпрепарата ^{99m}Tc-метокси-изобутил-изотонитрил (^{99m}Tc-МИБИ), который вводили внутривенно болюсно в дозировке 260–444 МБк. Для выполнения исследования в состоянии нагрузки использовали стресс-агент аденозинтрифосфат, который вводили внутривенно при помощи инфузомата в дозировке 160 мкг/кг/мин в течение 4 мин.

Для коррекции аттенуации выполняли низкодозовую компьютерную томографию органов грудной клетки. Все исследования были выполнены на гибридном компьютерном томографе Discovery NM/CT 570c (GE Healthcare, Milwaukee, WI, США), оснащенном гамма-камерой с высокочувствительными полупроводниковыми кадмий-цинк-теллуридными детекторами (Cadmium-Zinc-Telluride, CZT). Общая эффективная лучевая нагрузка исследования (покой и фармакологический стресс-тест) составила ~6,25 мЗв.

Полученные скинтиграфические изображения обрабатывали на специализированной рабочей станции Xeleris II (GE Healthcare, Haifa, Израиль). Оценку миокардиальной перфузии, кровотока и резерва осуществляли с использованием специализированного программного обеспечения Corridor 4DM SPECT и 4DM Reserve v.2015 (INVIA, Ann Arbor, MI, США). Для обработки количественных характеристик ис-

пользовали модель Net Retention с применением коррекции аттенюации.

По данным однофотонной эмиссионной компьютерной томографии миокарда определяли стандартные полуколичественные индексы нарушения миокардиальной перфузии: Summed Stress Score (SSS) – сумма баллов при нагрузке, Summed Rest Score (SRS) – сумма баллов в покое, Summed Difference Score (SDS) – разница между нагрузкой и покоем, а также количественные показатели: Stress Myocardial Blood Flow (stress-MBF) – миокардиальный кровоток при нагрузке, Rest Myocardial Blood Flow (rest-MBF) – миокардиальный кровоток в покое, Myocardial Flow Reserve (MFR) – резерв миокардиального кровотока.

Для выполнения двухмерной трансторакальной эхокардиографии использовался ультразвуковой аппарат Philips Affiniti 70. Все исследования проводились одним высококвалифицированным специалистом. Оценка ДД ЛЖ основывалась на четырех основных показателях: ранняя диастолическая скорость движения боковой стенки левого желудочка (lateral e'), среднее отношение ранней диастолической скорости потока митрального клапана к средней ранней диастолической скорости движения митрального кольца (E/e'), индексированный объем левого предсердия и пиковая скорость трикуспидальной регургитации [19]. Диастолическая дисфункция ЛЖ диагностировалась при наличии ≥ 3 аномальных значений показателей. Систолическая глобальная продольная деформация ЛЖ (GLS) оценивалась с помощью 2D-speckle tracking.

Образцы крови получены путем венопункции. Адекватные образцы центрифугировались, отделялась сыворотка, которая хранилась при температуре -24°C с одним циклом замораживания–оттаивания. Концентрацию NT-proBNP определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием набора Biomedica (Австрия). Неблагоприятные исходы течения СНсФВ определяли как время до появления новых или ухудшения симптомов/признаков СН, госпитализации в связи с декомпенсацией СНсФВ или смерти.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 10.0 и MedCalc 11.5.0.0. Данные представляли в виде медианы интерквартильного размаха $Me (Q_{25}–Q_{75})$. Для проверки статистических гипотез при анализе количественных показателей использовали критерий Манна – Уитни при сравнении двух независимых групп. При анализе качественных признаков проводили анализ таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 Пирсона. Если имелись ячейки с ожидаемой частотой меньше 5, то применяли двусторонний

точный критерий Фишера или поправку Йетса (для таблиц 2×2). Для выявления предикторов неблагоприятного течения СНсФВ использовали ROC-анализ с построением характеристических кривых и расчетом AUC (площади под кривой). Для выявления факторов, оказывающих значимое влияние на течение и прогноз заболевания, производился многофакторный анализ с расчетом отношения шансов (ОШ) с 95%-м доверительным интервалом (ДИ). Критический уровень значимости p для всех используемых процедур статистического анализа принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Через 12 мес наблюдения пациенты ретроспективно были разделены на две группы: в группу 1 ($n = 11$) вошли больные с неблагоприятным течением СНсФВ, в группу 2 ($n = 47$) – с благоприятным (табл. 1). Неблагоприятные сердечно-сосудистые события, зарегистрированные в течение периода наблюдения, представлены на рис. 1.

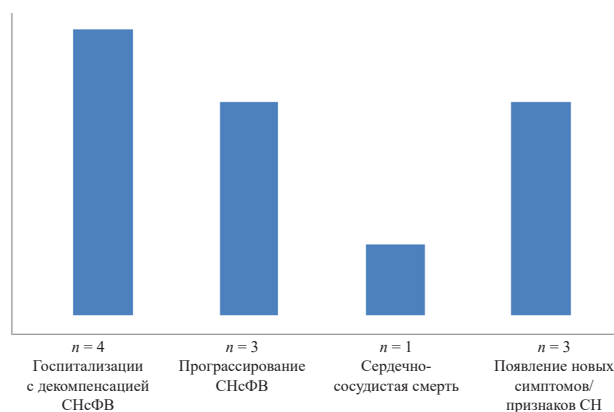


Рис. 1. Частота наступления неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в течение 12 мес наблюдения

По основным клинико-демографическим характеристикам группы были сопоставимы, кроме значений натрийуретического пептида ($p < 0,001$). В группе 1 уровень NT-proBNP был выше в 3,8 раза, чем в группе 2 (284,5 [183,42; 716,73] и 1071,4 [272,4; 2168,1] пг/мл соответственно).

У пациентов с неблагоприятным течением СНсФВ абсолютная величина GLS была ниже на 27,1% ($p = 0,003$), чем у больных с благоприятным (–14,5 [12; 18,9]% и –19,9 [14; 21,4]% соответственно; $p = 0,003$). Septal e' было ниже на 23,6% ($p = 0,008$) в группе 1, чем в группе 2 (5,5 [4,9; 6,7] против 7,2 (6,9; 8,01) см соответственно). Значения E/e' на 14,7% ($p = 0,041$) и LAVI на 17,8 ($p = 0,021$) были выше у пациентов с неблагоприятными исходами СНсФВ, чем у больных с благоприятным течением патологии (табл. 2).

Таблица 1

Клинико-демографическая характеристика пациентов в зависимости от характера течения СНсФВ			
Параметр	Группа 1, $n = 11$	Группа 2, $n = 48$	p
Возраст, годы, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	62 (54,0; 67,0)	60,0 (53,0; 68,0)	0,124
Мужчины, n (%)	7 (63,6)	29 (60,4)	0,912
Индекса массы тела, $кг/м^2$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	32,4 (29,9; 34,8)	30,19 (27,8; 33,3)	0,174
Гипертоническая болезнь, n (%)	8 (72,7)	32 (66,7)	0,257
Сахарный диабет, n (%)	3 (27,3)	14 (29,2)	0,863
ХОБЛ, n (%)	2 (18,2)	11 (22,9)	0,315
Курение, n (%)	3 (27,3)	10 (20,8)	0,311
СКФ, $мл/мин/1,73 м^2$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	69,8 (57,0; 78,5)	71,0 (59,0; 81,0)	0,745
Общий холестерин, $ммоль/л$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	4,34 (3,76; 5,23)	4,67 (3,98; 5,54)	0,976
HbA1c, %, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	5,7 (5,2; 6,8)	5,4 (5,3; 6,9)	0,721
ХС-ЛПНП, $ммоль/л$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	3,19 (1,78; 3,65)	1,65 (1,99; 3,34)	0,457
ХС-ЛПВП, $ммоль/л$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	1,07 (0,85; 1,31)	1,06 (0,96; 1,26)	0,896
Триглицериды, $ммоль/л$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	1,69 (1,23; 1,97)	1,67 (1,22; 1,92)	0,235
Гемоглобин, $г/дл$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	133 (127; 143)	135 (128; 142)	0,675
Калий, $ммоль/л$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	4,56 (4,01; 5,12)	4,87 (4,43; 5,21)	0,346
Фибриноген, $г/л$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	3,27 (3,14; 3,14)	3,17 (2,86; 3,43)	0,844
NT-proBNP, $пг/мл$, $Me (Q_{25}-Q_{75})$	1701,4 (272,4; 2168,1)	284,5 (183,4; 716,7)	<0,001

Примечание. HbA1c – гликированный гемоглобин; СКФ – скорость клубочковой фильтрации по формуле СКД-EPI; ХС-ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности; ХС-ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких.

Таблица 2

Эхокардиографические параметры в зависимости от характера течения СНсФВ, $Me (Q_{25}-Q_{75})$			
Параметр	Группа 1, $n = 11$	Группа 2, $n = 48$	p
Фракция выброса левого желудочка, %	59,5 (56; 62,5)	61 (59; 64)	0,456
Конечный систолический размер, мм	43 (38; 47)	41,5 (36,5; 45,5)	0,544
Конечный диастолический размер, мм	56,0 (49,5; 59,0)	54,5 (47,5; 57,5)	0,398
ИММ ЛЖ, $г/м^2$	99,0 (88,5; 112,5)	97 (85,5; 109,5)	0,276
Отношение Е/А	1,04 (0,79; 1,34)	0,99 (0,74; 1,2)	0,516
Lateral e' , $см/м$	5,5 (4,9; 6,7)	7,2 (6,9; 8,01)	0,008
ТР, $м/с$	2,99 (2,95; 3,21)	2,92 (2,8; 3,11)	0,056
Отношение Е/ e'	14,5 (13,5; 15,0)	13 (12; 14)	0,041
ЛПИ, $мл/м^2$	38,3 (35,7; 51,1)	31,48 (29,5; 47,9)	0,021
Глобальная продольная деформация ЛЖ, %	-14,5 (-12; -18,9)	-19,9 (14; 21,4)	0,003

Примечание. Е/А – отношение максимальной скорости потока крови в фазу быстрого наполнения к максимальной скорости потока в систолу предсердий; Е/ e' – отношение трансмитрального Е пика к тканевому миокардиальному доплеровскому e' ; ИММ – индекс массы миокарда; ЛЖ – левый желудочек; ЛПИ – индексированный объем левого предсердия; ТР – пиковая скорость трикуспидальной регургитации; lateral e' – ранняя диастолическая скорость движения боковой стенки левого желудочка.

Полуколичественные показатели перфузии миокарда ЛЖ достоверно не различались в исследуемых группах. Значения MFR были ниже в группе 1 на 45,4% ($p < 0,001$), чем в группе 2 (1,19 [0,86; 1,55] vs 2,18 [1,7; 2,55] соответственно). Значение миокардиального кровотока в условиях функционального покоя у больных с неблагоприятным течением СНсФВ на 23,6% превышало таковое значение в группе с благоприятным течением патологии ($p = 0,046$), тогда как величина стресс-индуцированного миокардиального кровотока в группе 1 была ниже на 28,2% ($p = 0,014$), чем в группе 2 (табл. 3).

Уровни MFR и rest-MBF коррелировали с уровнем NT-proBNP ($r = -0,368$; $p = 0,007$ и $r = 0,354$; $p = 0,042$ соответственно). Значения MFR также коррелировали с индексированным объемом левого предсердия ($r = -0,464$; $p = 0,001$) и ранней диастолической скоростью движения боковой стенки левого желудочка e' ($r = 0,314$; $p = 0,012$) и GLS ($r = 0,504$; $p = 0,009$), а rest-MBF в покое коррелировало с Е/ e' ($r = 0,512$; $p = 0,002$).

При проведении многофакторного регрессионного анализа уровни NT-proBNP (ОШ 3,23; 95%-й ДИ 1,76–6,78; $p = 0,008$), GLS (ОШ 2,27; 95%-й ДИ 1,15–

4,65; $p = 0,012$) и MFR (ОШ 8,09; 95%-й ДИ 5,12–19,98; $p < 0,001$) оказались независимыми предикторами неблагоприятного течения СНсФВ. По данным ROC-анализа, уровни MFR $\leq 1,62$ (AUC = 0,827; $p < 0,001$), GLS ≤ -18 (AUC = 0,756; $p = 0,002$) и NT-proBNP $\geq 760,5$ пг/мл (AUC = 0,708; $p = 0,040$) можно рассматривать в качестве маркеров неблагоприятных исходов (рис. 2, а). При сравнении ROC-кривых

не было выявлено различий в отношении прогностической значимости предикторов ($p = 0,953$) (рис. 2). Однако комбинированное определение NT-proBNP с MFR обладало большей значимостью (AUC 0,935; $p < 0,001$) в стратификации риска по сравнению с мономаркерной моделью (рис. 3), тогда как добавление GLS (AUC = 0,885; $p = 0,570$) значительно не увеличивало прогностическую ценность анализа.

Таблицы 3

Параметры резерва коронарного кровотока и миокардиального кровотока в зависимости от характера течения СНсФВ, Me (Q_{25} – Q_{75})			
Параметр	Группа 1, $n = 11$	Группа 2, $n = 48$	p
Stress-MBF, мл/мин/г	1,07 (0,57; 1,22)	1,49 (1,09; 1,71)	0,014
Rest-MBF, мл/мин/г	0,72 (0,52; 1,22)	0,55 (0,47; 0,77)	0,046
MFR	1,19 (0,86; 1,55)	2,18 (1,7; 2,55)	<0,001
SSS	3 (0; 4)	2 (0; 4)	0,563
SRS	0 (0; 1)	0 (0; 2)	0,423
SDS	2 (2; 3)	1 (0; 3)	0,221

Примечание. MFR – глобальный резерв миокардиального кровотока; стандартные полуколичественные индексы нарушения миокардиальной перфузии: SSS – сумма баллов при нагрузке, SRS – сумма баллов в покое, SDS – разница между нагрузкой и покоем.

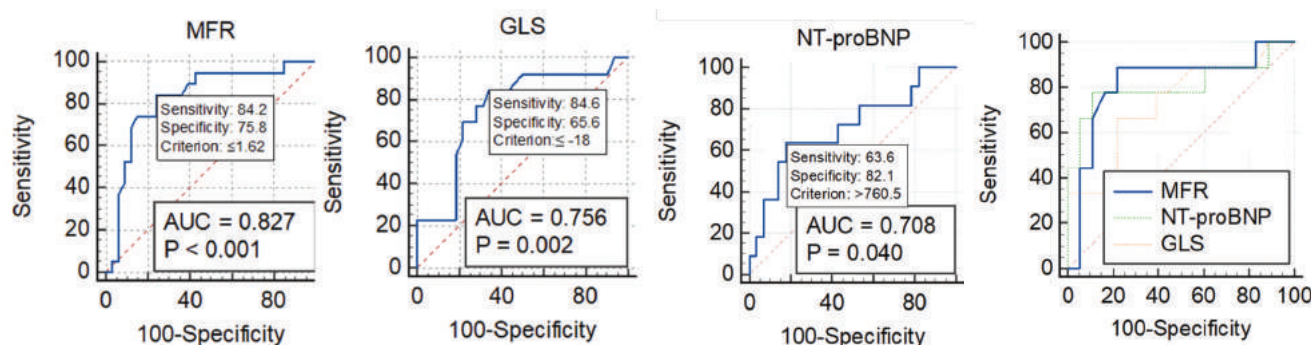


Рис. 2. Чувствительность и специфичность значений MFR, NT-proBNP и GLS в стратификации риска неблагоприятного течения СНсФВ пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий (ROC-анализ)

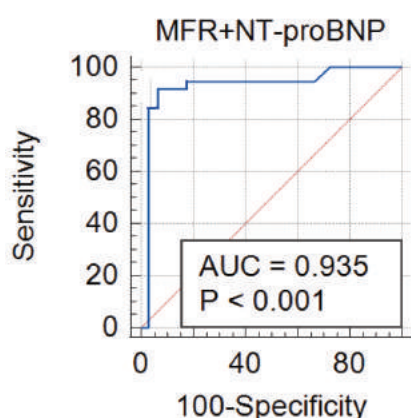


Рис. 3. Комбинированное определение MFR и NT-proBNP в стратификации риска неблагоприятного течения СНсФВ пациентов с необструктивным поражением коронарных артерий (ROC-анализ)

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты последних исследований показали, что КМД может играть важную роль в патогенезе СНсФВ [12, 20], возможно потому, что нарушение перфузии вызывает повреждение кардиомиоцитов. Это приводит к снижению функционального резерва сердца [21–24] и развитию фиброза миокарда [16]. Несмотря на убедительные доказательства в поддержку КМД, только в нескольких исследованиях оценивалась ее роль в качестве предиктора неблагоприятного течения СНсФВ [15–19, 25, 26], и только в одном исследовании было установлено, что снижение MFR, по данным динамической ОФЭКТ, было независимым предиктором высокого риска серьезных неблагоприятных сердечных событий (MACE) [27].

Результаты исследований COURAGE и ISCHEMIA показали, что реваскуляризация коро-

нарных артерий не была связана со значительным снижением частоты MACE [28, 29]. Первое международное исследование COVADIS представило новые доказательства того, что наличие КМД является важной проблемой и предвещает высокий риск MACE [30]. Позже было установлено, что нарушение MFR связано с повышенным риском смертности от всех причин и развитием MACE [31]. J. Schroder и соавт. показали, что КМД, оцененная с помощью доплер-эхокардиографии как резерв скорости коронарного кровотока в передней нисходящей артерии, также была связана с повышенным риском повторной госпитализации по поводу стенокардии и смертности от всех причин [32]. S. Kato и соавт. получили и проанализировали данные MFR, оцененные с помощью магнитно-резонансной томографии, у 163 пациентов с СНсФВ (73 ± 9 лет; 86 [53%] женщин). Значения MFR были значительно ниже у больных с СНсФВ и неблагоприятными сердечно-сосудистыми событиями, чем у пациентов без них ($1,93 \pm 0,38$ против $2,67 \pm 0,52$; $p < 0,001$) и являлись предиктором сердечно-сосудистой смерти и госпитализаций по поводу СН [33]. При этом были обнаружены значимые отрицательные корреляции между MFR и глобальной окружной деформацией ($r = -0,29$; $p < 0,001$), глобальной продольной деформацией ($r = -0,33$; $p < 0,001$), продольной деформацией правого желудочка ($r = -0,26$; $p < 0,001$) и уровнями BNP в сыворотке ($r = -0,32$; $p < 0,001$) [34].

A. Ahmad и соавт. показали, что выраженность микроциркуляторных нарушений обратно пропорциональна давлению наполнения ЛЖ, в особенности при физической нагрузке [22]. В другом исследовании, включавшем пациентов с подозрением на ишемическую болезнь сердца с сохраненной ФВ ЛЖ, которым была проведена ПЭТ, снижение MFR было связано с наличием диастолической дисфункцией (ОШ 2,58; 95%-й ДИ 1,22–5,48) и высоким риском госпитализации по причине декомпенсации СНсФВ (ОШ 2,47; 95%-й ДИ 1,09–5,48) [17]. Пациенты со сниженными уровнями MFR, по данным ПЭТ, и диастолической дисфункцией продемонстрировали более чем пятикратное увеличение риска госпитализации по причине декомпенсации СНсФВ ($p < 0,001$). Однако J.H. Lam и соавт. не обнаружили связи между эхокардиографическими показателями диастолической функции левого желудочка и КМД, оцененной с помощью контрастной эхокардиографии миокарда в покое [34]. Еще в одном исследовании, включавшем пациентов с систолической дисфункцией (ФВ ЛЖ $< 35\%$) и необструктивной ишемической болезнью сердца, параметры MFR были связаны со значениями E/e' [35].

Мы впервые продемонстрировали, что пациенты с неблагоприятным течением СНсФВ имели более низкие значения MFR по данным динамической однокфотонной эмиссионной компьютерной томографии, вероятно, обусловленные более выраженными изменениями микрососудистого русла. Уровни MFR и rest-MBF коррелировали с уровнем NT-proBNP ($r = -0,368$; $p = 0,007$ и $r = 0,354$; $p = 0,042$ соответственно). Значения MFR также коррелировали с индексированным объемом левого предсердия ($r = -0,464$; $p = 0,001$) и ранней диастолической скоростью движения боковой стенки левого желудочка e' ($r = 0,314$; $p = 0,012$) и GLS ($r = 0,504$; $p = 0,009$), а rest-MBF в покое коррелировало с E/e' ($r = 0,512$; $p = 0,002$).

Это говорит о том, что факторы, склоняющие чашу весов в сторону повреждения кардиомиоцитов у пациентов с имеющейся КМД, могут ухудшать миокардиальную механику и повышать риск прогрессирования СНсФВ даже при необструктивном поражении КА. В частности, КМД приводит к снижению биодоступности оксида азота, а усиление передачи сигналов профибротических цитокинов может способствовать уменьшению коронарного микрососудистого разрежения и усилению миокардиального фиброза, наблюдаемому при СНсФВ [17]. Такое взаимодействие нарушений может синергизировать ригидность сосудов и желудочков при КМД [36].

С одной стороны, у больных с КМД диффузный фиброз миокарда приводит к эндотелий-зависимому повышению периферического сосудистого сопротивления и увеличению кровотока в покое. С другой стороны, КМД, связанная с хроническим системным воспалением, может способствовать периартериальному фиброзу и микрососудистому разрежению, приводя к снижению stress-MBF [37]. Корреляция динамических показателей ОФЭКТ с биомаркером объемной перегрузки – NT-proBNP и показателями диастолической функции свидетельствует о более тесной связи между этими процессами, в частности, о патогенезе СНсФВ [8]. К тому же нами установлено, что уровни NT-proBNP (ОШ 3,23; $p = 0,008$), GLS (ОШ 2,27; $p = 0,012$) и MFR (ОШ 8,09; $p < 0,001$) являлись независимыми предикторами неблагоприятного течения СНсФВ. По данным ROC-анализа, уровни MFR $\leq 1,62$ (AUC = 0,827; $p < 0,001$), GLS ≤ -18 (AUC = 0,756; $p = 0,002$) и NT-proBNP $\geq 760,5$ пг/мл (AUC = 0,708; $p = 0,040$) можно рассматривать в качестве маркеров неблагоприятных исходов. Однако комбинированное определение NT-proBNP с MFR обладало большей значимостью (AUC 0,935; $p < 0,001$) в стратификации риска по сравнению с мономаркерной моделью, тогда как добавление GLS

(AUC = 0,885; $p = 0,570$) значимо не увеличивало прогностическую ценность анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уровни NT-proBNP, GLS и MFR могут использоваться в качестве неинвазивных маркеров неблагоприятного течения СНсФВ у пациентов с необструктивным поражением КА, при этом комбинированное определение NT-proBNP и MBF обладает большей прогностической значимостью в стратификации риска неблагоприятного течения данной патологии в течение 12 мес наблюдения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Roger V.L. Epidemiology of heart failure. a contemporary perspective. *Circulation Research*. 2021;128(10):1421–1434. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318172.
2. Clark K.A.A., Velazquez E.J. Heart failure with preserved ejection fraction: Time for a reset. *JAMA*. 2020;324(15):1506–1508. DOI: 10.1001/jama.2020.15566.
3. Chan D.Z.L., Kerr A.J., Rob N. Doughty. Temporal trends in the burden of heart failure. *Intern. Med. J.* 2021;51(8):1212–1218. DOI: 10.1111/imj.15253.
4. Mamas M.A., Sperrin M., Watson M.C., Coutts A., Wilde K., Burton C. et al. Do patients have worse outcomes in heart failure than in cancer? A primary care-based cohort study with 10-year follow-up in Scotland. *Eur. J. Heart Fail.* 2017;19(9):1095–1004. DOI: 10.1002/ehf.822.
5. Lesyuk W., Kriza C., Kolominsky-Rabas P. Cost-of-illness studies in heart failure: a systematic review 2004–2016. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2018;18(1):74. DOI: 10.1186/s12872-018-0815-3.
6. Wintrich J., Kindermann I., Ukena C., Selejan S., Werner C., Maack C. et al. Therapeutic approaches in heart failure with preserved ejection fraction: past, present, and future. *Clin. Res. Cardiol.* 2021;109(9):1079–1098. DOI: 10.1007/s00392-020-01633-w.
7. McDonagh T.A., Metra M., Adamo M., Gardner R.S., Baumbach A., Böhm M. et al. ESC Scientific Document Group. 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/ehab368.
8. Tona F., Montisci R., Iop L., Civieri G. Role of coronary microvascular dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2021;22(1):97–104. DOI: 10.31083/j.rcm.2021.01.277.
9. Mileva N., Nagumo S., Mizukami T., Sonck J., Berry C., Gallinoro E. et al. Prevalence of Coronary Microvascular Disease and Coronary Vasospasm in Patients With Nonobstructive Coronary Artery Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Heart Association*. 2022;11(7):e023207. DOI: 10.1161/JAHA.121.023207.
10. Murthy V.L., Naya M., Taqueti V.R., Foster C.R., Gaber M., Hainer J. et al. Effects of sex on coronary microvascular dysfunction and cardiac outcomes. *Circulation*. 2014;129(24):2518–2527. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.008507.
11. Rush C.J., Berry C., Oldroyd K.G. et al. Prevalence of coronary artery disease and coronary microvascular dysfunction in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *JAMA Cardiol.* 2021;6(10):1130–1143. DOI: 10.1001/jamacardio.2021.1825.
12. Shah S.J., Lam C.S.P., Svedlund S., Saraste A., Hage C., Tan R.S. et al. Prevalence and correlates of coronary microvascular dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction: PROMIS-HFpEF. *European Heart Journal*. 2018;39(37):3439–3450. DOI: 10.1093/eurheartj/ehy531.
13. Taqueti V.R., Di Carli M.F. Clinical significance of noninvasive coronary flow reserve assessment in patients with ischemic heart disease. *Curr. Opin. Cardiol.* 2016;31(6):662–669. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000339.
14. Ong P., Safdar B., Seitz A., Hubert A., Beltrame J.F., Prescott E. Diagnosis of coronary microvascular dysfunction in the clinic. *Cardiovasc. Res.* 2020;116(4):841–855. DOI: 10.1093/cvr/cvz339.
15. Driessen R.S., Raijmakers P.G., Stuijzand W.J., Knaapen P. Myocardial perfusion imaging with PET. *Int. J. Cardiovasc. Imaging*. 2017;33(7):1021–1031. DOI: 10.1007/s10554-017-1084-4.
16. Zavadovsky K.V., Mochula A.V., Boshchenko A.A., Vrublevsky A.V., Baev A.E., Krylov A.L. et al. Absolute myocardial blood flows derived by dynamic CZT scan vs invasive fractional flow reserve: correlation and accuracy. *J. Nucl. Cardiol.* 2021;28(1):249–259. DOI: 10.1007/s12350-019-01678-z.
17. Zavadovsky K.V., Mochula A.V., Maltseva A.N., Boshchenko A.A., Baev A.E., Andreev S.L. et al. The diagnostic value of SPECT CZT quantitative myocardial blood flow in high-risk patients. *J. Nucl. Cardiol.* 2022June;29(3):1051–1063. DOI: 10.1007/s12350-020-02395-8
18. Austen W.G., Edwards J.E., Frye R.L., Gensini G.G., Gott V.L., Griffith L.S. et al. A reporting system on patients evaluated for coronary artery disease. Report of the Ad Hoc Committee for Grading of Coronary Artery Disease, Council on Cardiovascular Surgery. American Heart Association. *Circulation*. 1975;51(4):5–40. DOI: 10.1161/01.cir.51.4.5
19. Nagueh S.F., Smiseth O.A., Appleton C.P. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging*. 2016;17(12):1321–1360. DOI: 10.1093/ehjci/jew082.
20. Yang J.H., Obokata M., Reddy Y.N., Redfield M.M., Lerman A., Borlaug B.A. Endothelium-dependent and independent coronary microvascular dysfunction in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Eur. J. Heart Fail.* 2020;22(3):432–441. DOI: 10.1002/ehf.1671.
21. Obokata M., Reddy Y.N., Melenovsky V., Kane G.C., Olson T.P., Jarolim P. et al. Myocardial injury and cardiac reserve in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2018;72(1):29–40. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.04.039.
22. Ahmad A., Corban M.T., Toya T., Verbrugge F.H., Sara J.D., Lerman L.O. et al. Coronary microvascular dysfunction is as-

- sociated with exertional haemodynamic abnormalities in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(5):765–772. DOI: 10.1002/ehf.2010.
23. Sinha A., Rahman H., Webb A., Shah A.M., Perera D. Untangling the pathophysiologic link between coronary microvascular dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction. *European Heart Journal.* 2021;42(43):4431–4441. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab653.
 24. Mohammed S.F., Hussain S., Mirzoyev S.A., Edwards W.D., Maleszewski J.J., Redfield M.M. Coronary microvascular rarefaction and myocardial fibrosis in heart failure with preserved ejection fraction. *Circulation.* 2015;131(6):550–559. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.009625.
 25. Bairey Merz C.N., Pepine C.J., Shimokawa H., Berry C. Treatment of coronary microvascular dysfunction. *Cardiovasc. Research.* 2022;116(4):856–870. DOI: 10.1093/cvr/cvaa006.
 26. Zhou W., Lee J.C.Y., Leung S.T., Lai A., Lee T.F., Chiang J.B. et al. Long-term prognosis of patients with coronary microvascular disease using stress perfusion cardiac magnetic resonance. *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2021;14(3):602–611. DOI: 10.1016/j.jcmg.2020.09.034.
 27. Liga R., Neglia D., Kusch A., Favilli B., Giorgetti A., Gimelli A. Prognostic role of dynamic CZT imaging in CAD patients: interaction between absolute flow and CAD burden. *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2022;15(3):540–542. DOI: 10.1016/j.jcmg.2021.09.030.
 28. Boden W.E., O'Rourke R.A., Teo K.K., Hartigan P.M., Maron D.J., Kostuk W.J. et al. COURAGE Trial Research Group. Optimal medical therapy with or without PCI for stable coronary disease. *N. Engl. J. Med.* 2007;356(15):1503–1516. DOI: 10.1056/NEJMoa070829.
 29. Maron D.J., Hochman J.S., Reynolds H.R., Bangalore S., O'Brien S.M., Boden W.E. et al. ISCHEMIA Research Group. Initial invasive or conservative strategy for stable coronary disease. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(15):1395–1407. DOI: 10.1056/NEJMoa1915922.
 30. Shimokawa H., Suda A., Takahashi J., Berry C., Camici P.G., Crea F. et al. Clinical characteristics and prognosis of patients with microvascular angina: an international and prospective cohort study by the Coronary Vasomotor Disorders International Study (COVADIS) Group. *Eur. Heart J.* 2021;42(44):4592–4600. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab282.
 31. Schroder J., Michelsen M.M., Mygind N.D., Suhrs H.E., Bove K.B., Bechsgaard D.F. et al. Coronary flow velocity reserve predicts adverse prognosis in women with angina and no obstructive coronary artery disease: results from the iPOWER study. *Eur. Heart J.* 2021;42(3):228–239. DOI: 10.1093/eurheartj/ehaa944.
 32. Kato S., Fukui K., Kodama S., Azuma M., Nakayama N., Iwasawa T. et al. Cardiovascular magnetic resonance assessment of coronary flow reserve improves risk stratification in heart failure with preserved ejection fraction. *J. Cardiovasc. Magn. Reson.* 2021;23(1):112. DOI: 10.1186/s12968-021-00807-3.
 33. Lam J.H., Quah J.X., Davies T., Boos C.J., Nel K., Anstey C.M. et al. Relationship between coronary microvascular dysfunction and left ventricular diastolic function in patients with chest pain and unobstructed coronary arteries. *Echocardiography.* 2020;37(8):1199–1204. DOI: 10.1111/echo.14794.
 34. Snoer M., Monk-Hansen T., Olsen R.H., Pedersen L.R., Nielsen O.W., Rasmussen H. et al. Coronary flow reserve as a link between diastolic and systolic function and exercise capacity in heart failure. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2013;14(7):677–683. DOI: 10.1093/ehjci/jes269.
 35. Crea F., Bairey Merz C.N., Beltrame J.F., Kaski J.C., Ogasawa H., Ong P., Sechtem U., Shimokawa H., Camici P.G. The parallel tales of microvascular angina and heart failure with preserved ejection fraction: a paradigm shift. *Eur. Heart J.* 2017;38(7):473–477. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw461.
 36. Filali Y., Kesäniemi A., Ukkola O. Soluble ST2, a biomarker of fibrosis, is associated with multiple risk factors, chronic diseases and total mortality in the OPERA study. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2021;81(4):324–331. DOI: 10.1080/00365513.2021.1904518.

Информация об авторах

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>

Мальцева Алина Николаевна – аспирант, лаборатория радионуклидных методов исследования, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, maltseva.alina.93@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-1311-0378>

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>

Мочула Андрей Викторович – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория радионуклидных методов исследования, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, mochula.andrew@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-0883-466X>

Солдатенко Михаил Владимирович – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение ультразвуковой и функциональной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, able99@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9886-0695>

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>

Завадовский Константин Валерьевич – д-р мед. наук, зав. отделом лучевой диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ РАН, г. Томск, konstzav@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-1513-8614>

✉ **Копьева Кристина Васильевна**, kristin-kop@inbox.ru

Поступила в редакцию 08.09.2022;
одобрена после рецензирования 10.10.2022;
принята к публикации 11.10.2022

УДК 616.12-008.46:611.018.63]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-51-56>

Активность дыхания изолированных кардиомиоцитов и микровязкость их мембран у крыс разных возрастов при сердечной недостаточности

Корепанов В.А.¹, Реброва Т.Ю.¹, Афанасьев С.А.¹

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

РЕЗЮМЕ

Актуальность. По последним эпидемиологическим данным, сердечная недостаточность (СН) диагностирована у 10% взрослого населения старше 70 лет, при этом все чаще данный диагноз ставят лицам молодого и среднего возраста. В основе патогенеза СН может лежать снижение дыхания в кардиомиоцитах с возрастом, что отражается на работе энергозависимых процессов в клетках.

Цель. Изучить дыхательную активность и микровязкость мембран кардиомиоцитов (КМ) крыс в возрасте 2 и 15 мес при сердечной недостаточности.

Материалы и методы. Исследование проведено на самцах крыс линии Wistar. Сформировано четыре группы животных: две группы интактных крыс в возрасте 2 и 15 мес ($n = 12$) и две группы животных аналогичных возрастов ($n = 10$), у которых моделировали развитие СН, формировавшуюся к 28-м сут после двукратного подкожного введения изадрина гидрохлорида в дозе 170 мг/кг с интервалом 24 ч. Изолированные кардиомиоциты получали из промытого ферментами сердца. Изучение активности дыхания клеток проводили в термостатируемой камере в инкубационной среде с добавлением субстратов фосфорилирования (АДФ) и окисления (сукцинат). Рассчитывали коэффициент дыхательного контроля (ДК) как отношение скоростей убыли кислорода в метаболических состояниях V3 и V4. Микровязкостные характеристики мембран оценивали по коэффициенту эксимеризации флуоресцентного зонда пирен в зонах белок-липидных и липид-липидных контактов.

Результаты. Дыхательный контроль в КМ интактных животных с возрастом не претерпевал изменений. При СН у 2-месячных крыс ДК не изменялся относительно интактного возрастного контроля. У 15-месячных крыс с СН происходит значимое снижение ДК в КМ как относительно интактных животных этого возраста, так и относительно 2-месячных крыс с СН. Отмечено возраст-зависимое снижение микровязкости мембран КМ в зонах липид-липидных взаимодействий без значимых изменений показателя в местах белок-липидных контактов. При СН у 2-месячных животных микровязкость мембран КМ в зонах белок-липидных взаимодействий существенно понижается, а у 15-месячных повышается относительно интактного контроля в группе. Межгрупповое сравнение выявило возраст-зависимое увеличение микровязкости мембран КМ в области белок-липидных контактов и отсутствие различий в фазе общих липидов.

Заключение. Выявлено отсутствие значимых изменений дыхания с возрастом у интактных крыс. При СН у 15-месячных животных дыхание КМ значительно ниже интактного контроля и 2-месячных животных с СН. Данные изменения могут быть обусловлены различием микровязкостных характеристик мембран клеток в разные периоды онтогенеза.

Ключевые слова: дыхание кардиомиоцитов, микровязкость мембран, возраст-зависимые изменения, крысы

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

✉ Корепанов Вячеслав Андреевич, e-mail: vakorep41811@gmail.com

Источники финансирования. Исследование проведено в рамках темы фундаментальных научных исследований НИИ кардиологии Томского НИМЦ (№ АААА-А15-115123110026-3).

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 192 от 18.12.2019).

Для цитирования: Корепанов В.А., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А. Активность дыхания изолированных кардиомиоцитов и микровязкость их мембран у крыс разных возрастов при сердечной недостаточности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):51–56. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-51-56>.

Respiration in isolated cardiomyocytes and microviscosity of their membranes in rats of different ages with heart failure

Korepanov V.A.¹, Rebrova T.Yu.¹, Afanasiev S.A.¹

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences (RAS) 111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

ABSTRACT

Background. According to the latest epidemiological data, heart failure (HF) is diagnosed in 10% of adult population over 70 years old. However, currently this diagnosis is being increasingly made in young and middle-aged people. The pathogenesis of HF may be based on a decrease in respiration in cardiomyocytes with age, which affects the function of energy-dependent processes in cells.

Aim. To study respiration in cardiomyocytes and microviscosity of their membranes in rats aged 2 and 15 months with heart failure.

Materials and methods. The study was carried out on male Wistar rats. The animals were divided into 4 groups: 2 groups of intact rats aged 2 and 15 months ($n = 12$) and 2 groups of animals of similar ages ($n = 10$) with a model of HF. In the latter, HF formed by day 28 after a double subcutaneous injection of isoproterenol hydrochloride at a dose of 170 mg / kg with an interval of 24 hours. Isolated cardiomyocytes were obtained from enzyme-washed rat hearts. Cell respiration was studied in a thermostated chamber in an incubation medium supplemented with phosphorylation (ADP) and oxidation (succinate) substrates. The respiratory control (RC) ratio was calculated by dividing V3 respiration state to V4. Membrane microviscosity characteristics were assessed by the eximerization coefficient of pyrene fluorescence in the areas of protein – lipid and lipid – lipid interactions.

Results. RC in cardiomyocyte membranes of intact animals did not change with age. In 2-month-old rats with HF, respiratory control ratio (RCR) did not change compared with the intact age-matched controls. In 15-month-old rats with HF, there was a significant decrease in RC of cardiomyocytes (CM) compared with the intact animals of this age and 2-month-old rats with HF. An age-dependent decrease in the microviscosity of CM membranes in the areas of lipid – lipid interactions and no significant changes in the parameter at the sites of protein – lipid interactions were noted. In 2-month-old animals with HF, the microviscosity of CM membranes in the areas of protein – lipid interactions significantly decreased, and in 15-month-old rats it increased, compared with the intact controls. When carrying out an intergroup comparison, an age-dependent increase in the microviscosity of CM membranes in the areas of protein – lipid interactions and no differences in the parameter in the areas of lipid – lipid interactions were revealed.

Conclusion. In the intact rats, the absence of significant changes in respiration with age was revealed. In the 15-month-old animals with HF, respiration in CM was significantly lower than in the intact controls and 2-month-old animals with HF. These changes may be due to the differences in the membrane microviscosity characteristics in different periods of ontogenesis.

Keywords: cardiomyocyte respiration, membrane microviscosity, age-dependent changes, rats

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 research was carried out within the fundamental research topic of the Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС (No. АААА-А15-115123110026-3).

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the Bioethics Committee at the Cardiology Research Institute, Tomsk NRMС (Protocol No. 192 of 18.12.2019).

For citation: Korepanov V.A., Rebrova T.Yu., Afanasiev S.A. Respiration in isolated cardiomyocytes and microviscosity of their membranes in rats of different ages with heart failure. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):51–56. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-51-56>.

ВВЕДЕНИЕ

Сердечная недостаточность (СН) является частым исходом большинства заболеваний сердечно-сосудистой системы. По данным эпидемиологических исследований, с возрастом частота встречаемости СН увеличивается с 3% в возрастной группе 46–64 лет до 10% в возрастной группе 70 лет и старше [1]. В последнее время прослеживается тренд омоложения данной патологии: результаты европейских исследований показали увеличение процента пациентов моложе 50 лет с впервые диагностированной СН [2, 3]. Одним из возможных патогенетических факторов развития СН является снижение на поздних этапах онтогенеза активности дыхательных процессов в кардиомиоцитах (КМ) [4]. Известно, что состояние липидного бислоя биологических мембран отражается на их функционировании, а также влияет на работу мембран-ассоциированных ферментов [5].

Целью проведенного исследования стало сравнительное исследование активности дыхательных процессов и микровязкостных характеристик мембран кардиомиоцитов при сердечной недостаточности у крыс разных возрастных групп.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на самцах белых крыс линии Wistar. Сформировано четыре группы животных: две группы интактных крыс в возрасте 2 и 15 мес ($n = 12$) и две группы животных аналогичных возрастов ($n = 10$), у которых моделировали развитие СН. В работе использовали изадриновую модель сердечной недостаточности. Инъекции раствора изопроterenола гидрохлорида (Isadrin, Sigma, США) выполняли двукратно подкожно с интервалом 24 ч (170 мг/кг массы крысы). СН развивалась к 28-м сут после второй инъекции [6]. К моменту формирования групп масса двухмесячных и пятнадцатимесячных крыс составила в среднем, соответственно, 199 (198; 203) и 528 (500; 563) г. Все манипуляции над крысами осуществляли на основании положения приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 1 99н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Исследование проведено в рамках темы № ААА-

А-А15-115123110026-3 фундаментальных научных исследований НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 192 от 18.12.2019).

Кардиомиоциты выделяли из изолированного сердца. Наркотизированной крысе производили торакотомию, получая доступ к сердцу. Иссеченное сердце переносили в ледяной раствор Кребса – Ханзеляйта (в мМ) ($\text{NaCl} - 118$; $\text{KCl} - 4,7$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 1,25$; $\text{MgSO}_4 - 1,3$; $\text{CaCl}_2 - 1,2$; глюкоза – 10) ($\text{pH} = 7,35 - 7,40$) (Sigma, США), удаляли соединительную ткань, выделяли аорту и отмывали орган от крови. Затем его переносили в перфузионную камеру и через аорту перфузировали оксигенированными ($\text{O}_2 - 95\%$, $\text{CO}_2 - 5\%$) растворами Кребса – Ханзеляйта с различным содержанием ионов Ca^{2+} и протеолитическими ферментами (коллагеназа II типа (ПанЭко, Россия) – 0,2 мг/мл и проназа (Roche Diagnostics, США) – 0,1 мг/мл). По окончании процедуры перфузии промытое ферментами сердце помещали в раствор Кребса – Ханзеляйта, удаляли восходящий отдел аорты и измельчали до фрагментов размерами 1–2 мм³. Затем мягким пипетированием получали суспензию изолированных кардиомиоцитов [4].

Определение концентрации общего белка в полученной суспензии клеток проводили методом микро-Лоури набором реактивов фирмы Sigma (США). Оптическую плотность в исследованных пробах измеряли на спектрофотометре NanoDrop (США) против холостой пробы при $\lambda = 630$ нм.

Измерения дыхательной активности кардиомиоцитов проводили на анализаторе жидкостей «Эксперт 001» (Эконикс, Россия) с использованием датчика Кларка ДКТП – 02.4 непосредственно сразу после выделения. Аликвоту суспензии клеток (содержание белка 0,5–1 мг) вносили в термостатируемую камеру ($t = 25 - 27$ °C) объемом 1 мл с предварительно оксигенированной средой инкубации (в мМ) (сахароза – 0,25; $\text{KCl} - 10$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 5$; $\text{MgCl}_2 - 1,2$; янтарная кислота – 5). Показания концентрации кислорода в среде после стабилизации и «согревания» кардиомиоцитов соответствовали метаболическому состоянию V2 – свободное дыхание (достаточное количество кислорода, субстрата окисления в среде, но отсутствие субстрата фосфорилирования – АДФ).

Далее производили измерение скорости убыли кислорода в среде после добавления в нее 100 мкл 0,2 мМ раствора АДФ – метаболическое состояние V3, и после его израсходования (метаболическое состояние V4). Потребление кислорода КМ рассчитывали в нМ O_2 /мин/мг белка в пробе. Коэффициент дыхательного контроля (ДК) вычисляли как отношение скоростей потребления кислорода в метаболических состояниях V3 и V4 [4].

Микровязкость мембран КМ изучали методом оценки латеральной диффузии гидрофобного флуоресцентного зонда пирен и вычисления коэффициентов его эксимеризации (K_E) $K_E = I_{470}/I_{390}$ при длинах волн возбуждения 340 и 285 нм для липид-липидных и белок-липидных контактов соответственно [7]. Интенсивность образования димеров пирена, характеризующаяся значениями K_E , находится в обратной зависимости от микровязкости мембран. Максимум свечения регистрировали при длине волны 390 нм для мономеров зонда, 470 нм – для димеров (эксимеров) зонда. Флуоресценцию флуорофора измеряли на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Varian, США).

Анализ полученного массива данных проводили в пакете статистических программ Statistica 10.0. Проверка соответствия распределения количественных данных нормальному закону производилась тестом Шапиро – Уилка. Сравнение независимых групп количественных данных, распределение которых отлично от нормального, проводили непараметрическим тестом Манна – Уитни. Результаты приведены в виде медианы и межквартильного интервала $Me (Q_1; Q_3)$. Статистически значимыми считались различия при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 представлены результаты, полученные при оценке дыхательной активности КМ рассматриваемых групп животных. Видно, что по коэффициенту ДК группы intactных 2- и 15-месячных животных не имели значимых различий ($p = 0,05$). Величина этого показателя составляла у двухмесячных крыс 3,57 (3,32; 3,93), а у пятнадцатимесячных особей – 3,36 (3,27; 3,40).

На фоне развившейся СН рассматриваемые группы животных статистически значимо ($p < 0,01$) различались по величине коэффициента ДК. При этом оказалось, что у 2-месячных животных этот показатель остался практически без изменения – 3,50 (3,19; 4,34) ($p = 0,86$). Напротив, у 15-месячных животных при СН величина коэффициента ДК была значимо ниже intactных значений своей

возрастной группы и составляла только 2,77 (2,71; 2,78) ($p < 0,05$) (рис. 1).

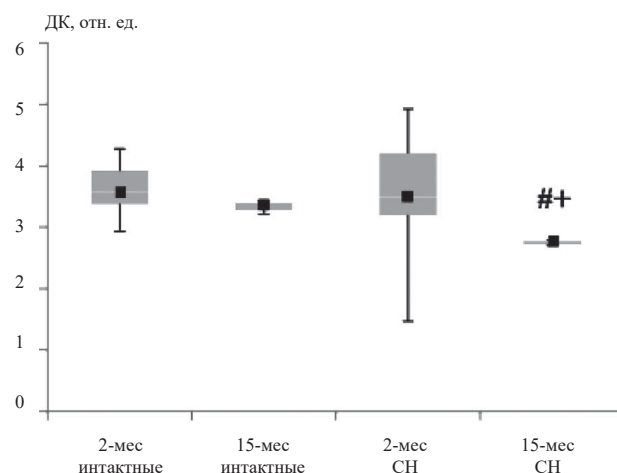


Рис. 1. Коэффициент дыхательного контроля (отн. ед.) кардиомиоцитов крыс; $Me (Q_1; Q_3)$. ДК – дыхательный контроль; СН – сердечная недостаточность. Значимые различия: # между возрастными группами животных с СН $p < 0,01$; + между intactными и опытными животными в возрастной группе $p < 0,05$

При сопоставлении K_E зонда пирен в зонах белок-липидных контактов мембран кардиомиоцитов intactных животных не было выявлено значимых ($p = 0,11$) возраст-зависимых различий (рис. 2). Однако при сравнении коэффициентов микровязкости мембран в зонах липид-липидных контактов была установлена его явная возрастная зависимость (рис. 3). В нашем исследовании величина данного коэффициента у 2-месячных особей составила 1,25 (1,01; 1,48), а у 15-месячных – 1,73 (1,37; 1,87) ($p < 0,001$).

При сравнении K_E пирена в областях белок-липидных взаимодействий мембран клеток сердечной мышцы животных с СН наблюдается значимое возраст-зависимое снижение данного показателя ($p < 0,05$). При этом у 2-месячных крыс на фоне СН данный показатель, в сравнении с intactными особями, существенно больше и составляет 1,21 (1,06; 1,54) ($p < 0,01$). Напротив, у 15-месячных животных на фоне СН этот коэффициент оказался статистически значимо более низким – 0,88 (0,70; 0,90) ($p < 0,05$) (рис. 2). В зонах липидных контактов значимых различий коэффициентов микровязкости между intactными и опытными животными в обеих возрастных группах не выявлено. Также не установлено статистически значимой разницы данных коэффициентов между возрастными группами как в подгруппе intactных крыс, так и особей с модельной СН (см. рис. 3).

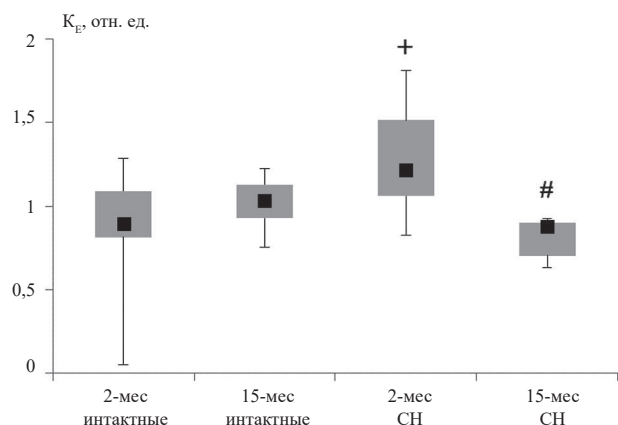


Рис. 2. Коэффициент эксимеризации мембран кардиомиоцитов в зонах белок-липидных контактов, отн. ед., $Me(Q_1; Q_3)$: K_E – коэффициент эксимеризации зонда пирен; СН – сердечная недостаточность (здесь и на рис. 3); # значимые различия между возрастными группами животных с СН, $p < 0,05$; + значимые различия между интактными и опытными животными в возрастной группе, $p < 0,01$

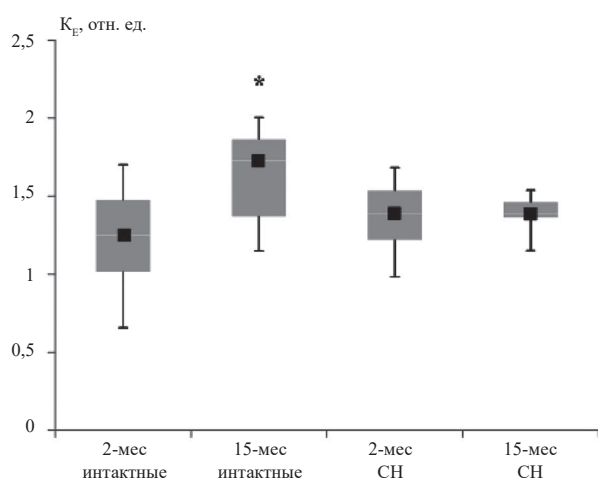


Рис. 3. Коэффициент эксимеризации мембранкардиомиоцитов в зонах липид-липидных контактов, отн. ед., $Me(Q_1; Q_3)$: * значимые различия между интактными группами 2- и 15-месячных животных, $p < 0,001$

ОБСУЖДЕНИЕ

Отсутствие значимых различий в дыхательной активности КМ между интактными животными обеих возрастных групп может быть обусловлено подключением адаптационных резервов КМ взрослых особей. При этом значения ДК в обеих группах попадают в пределы референсных значений нормы согласно литературным данным (3–5 отн. ед.) [8]. Стоит отметить, что на фоне СН у молодых животных не наблюдалось значимого изменения в ДК, что может говорить об их большем адаптационном резерве КМ. У взрослых крыс с СН данный показатель существенно снижался как относительно молодых особей с СН, так и относительно интактных особей

того же возраста, что, вполне вероятно, обусловлено срывом компенсаторно-приспособительных реакций клеток и снижением функции с возрастом. Также можно предположить, что при введении токсических доз изадрина в клетке в ответ на воздействие данного агента повышается синтез активных форм кислорода ввиду интенсификации процессов энергообразования и вероятного повышения утечки электронов из электрон-транспортной цепи. Это согласуется с результатами наших ранее проведенных исследований, показавших, что с возрастом снижается активность антиоксидантных ферментов в ткани миокарда [9].

Выдвинутое выше предположение об изменении компенсаторно-приспособительных резервов клеток миокарда вполне согласуется с данными, полученными при сравнительном анализе микровязкости мембран кардиомиоцитов тех же групп животных. Различия K_E в группах интактных животных разного возраста можно связать с возраст-зависимым изменением обмена холестерина. Одной из главных функций данного нейтрального липида является регуляция вязкости биологических мембран за счет изменения латеральной подвижности жирнокислотных остатков фосфолипидов [10]. С возрастом в организме уровень холестерина повышается [11], что может отражаться на его увеличении его содержания в пределах липидного бислоя мембран. Последнее ведет к увеличению вязкости мембран, что делает их жесткими.

Данные, полученные нами в группах животных с СН, могут говорить о разнонаправленных возраст-зависимых изменениях фосфолипидного состава аннулярных липидов, что отражается на показателях K_E . Такие различия могут отражаться на активности ферментных систем клеток, обеспечивающих энергетический обмен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявлено, что дыхание изолированных КМ интактных животных не подвержено значимым возрастным изменениям, однако начинает проследиваться тренд к его снижению, что может говорить об истощении компенсаторных механизмов клетки по поддержанию его оптимального уровня. При развитии СН данные различия становятся более явными, что проявляется в значимом снижении активности дыхания у возрастных крыс (15 мес) относительно интактных животных той же возрастной группы. Одним из факторов, обуславливающих такие различия, могут выступать микровязкостные характеристики мембран кардиомиоцитов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Choi H., Park M., Youn J. Update on heart failure management and future directions. *Korean J. Intern. Med.* 2019;34(1):11–43. DOI: 10.3904/kjim.2018.428.
2. Barasa A., Schaufelberger M., Lappas G., Swedberg K., Dellborg M., Rosengren A. Heart failure in young adults: 20-year trends in hospitalization, aetiology, and case fatality in Sweden. *Eur. Heart J.* 2014;35(1):25–32. DOI: 10.1093/eurheartj/ehd278.
3. Christiansen M., Kober L., Weeke P., Vasan R., Jeppesen J., Smith J. et al. Age-specific trends in incidence, mortality, and comorbidities of heart failure in Denmark, 1995 to 2012. *Circulation.* 2017;135(13):1214–1223. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.025941.
4. Rebrova T.Y., Korepanov V.A., Afanasiev S.A. Age peculiarities of respiratory activity and membrane microviscosity of mitochondria from rat cardiomyocytes. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;170(3):368–370. DOI: 10.1007/s10517-021-05069-8.
5. Casares D., Escribá P.V., Rosselló C.A. Membrane lipid composition: effect on membrane and organelle structure, function and compartmentalization and therapeutic avenues. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(9):2167. DOI: 10.3390/ijms20092167.
6. Teerlink J., Pfeffer J., Pfeffer M. Progressive ventricular remodeling in response to diffuse isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats. *Circ. Res.* 1994;75(1):105–113. DOI: 10.1161/01.res.75.1.105.
7. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М.: Наука, 1989:277.
8. Еремеев С.А., Ягужинский Л.С. О локальном сопряжении систем электронного транспорта и синтеза АТФ в митохондриях. *Биохимия.* 2015;80(5):682–688.
9. Rebrova T.Y., Afanasiev S.A. State of the antioxidant system and the severity of lipid- peroxidation processes in the myocardium and blood plasma of rats of different ages with postinfarction cardiosclerosis. *Advances in Gerontology.* 2021;11(2):152–157. DOI: 10.1134/S2079057021020132.
10. Yang S., Kreutzberger A., Lee J. The role of cholesterol in membrane fusion. *Chem. Phys. Lipids.* 2016;199(1):136–143. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2016.05.003.
11. Yi S., Yi J., Ohrr H. Total cholesterol and all-cause mortality by sex and age: a prospective cohort study among 12.8 million adults. *Sci. Rep.* 2019;9(1):1596. DOI: 10.1038/s41598-018-38461-y.

Информация об авторах

Корепанов Вячеслав Андреевич – аспирант, мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, Россия, vakorep41811@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2818-1419>

Реброва Татьяна Юрьевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск, rebrova@cardio-tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3667-9599>

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>

✉) **Корепанов Вячеслав Андреевич**, e-mail: vakorep41811@gmail.com

Поступила в редакцию 08.09.2022;
одобрена после рецензирования 10.10.2022;
принята к публикации 11.10.2022

Статья посвящается светлой памяти и 75-летию профессора Н.А. Корнетова, основоположника интегративной биомедицинской (клинической) антропологии, связавшей морфологические и клинические науки в аспекте развития, клинической картины, течения и исходов патологического процесса

УДК 577.121:616-008.9:616.895.8

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-57-64>

Конституционально-морфологические основы метаболического синдрома у пациентов с шизофренией и лиц без психических расстройств

Корнетова Е.Г.¹, Гончарова А.А.¹, Меднова И.А.¹, Корнетов А.Н.², Саприна Т.В.², Перчаткина О.Э.¹, Семке А.В.¹

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

² Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель: выявить различия или сопоставимость конституционально-морфологических характеристик и показателей жировой конституции между пациентами с шизофренией и лицами с метаболическим синдромом (МС) без психических расстройств.

Материалы и методы. Обследованы 63 пациента с шизофренией и МС (25 женщин, 38 мужчин) в возрасте 30 [33; 52] лет и 50 психически здоровых лиц с МС (28 женщин, 22 мужчины) в возрасте 57 [49; 60] лет. Основным критерием включения в исследование являлось наличие верифицированного МС по критериям Международной федерации диабета (IDF). Антропометрическое обследование выполнено по методике В.В. Бунака (1941) с последующим вычислением интегральных индексов. Измерение жировой компоненты включало: проведение измерения окружности талии; неинвазивную биоимпедансометрию – масса тела, индекс массы тела (ИМТ), содержание общего и висцерального жира; определение суммарной жировой складки (электронный калипер). В сыворотке крови определена концентрация глюкозы, общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП), триглицеридов (ТГ) с использованием стандартных коммерческих наборов, расчет показателей ХС-ЛПНП и индекса атерогенности.

Результаты. Различия в частоте встречаемости конституционально-морфологического типа и типа соматической половой дифференциации не были установлены в группах сравнения. Уровень висцерального жира и ИМТ были значительно выше у психически здоровых лиц с МС, чем больных шизофренией с МС ($p = 0,005$ и $p = 0,0001$ соответственно). Пациенты с шизофренией и МС имели низкий уровень концентрации глюкозы в сыворотке крови по сравнению с лицами без психических расстройств ($p = 0,0001$). Обнаружено повышение уровня ТГ и индекса атерогенности у больных шизофренией с МС ($p = 0,026$ и $p = 0,03$ соответственно), а уровень ХС-ЛПВП был снижен ($p = 0,022$).

Заключение. Конституционально-морфологическая основа формирования МС у больных шизофренией и лиц без психических расстройств является одинаковой, однако изменения в жировой конституции были определены для психически здоровых лиц. Изменения в липидном профиле и концентрации глюкозы могут быть связаны с наличием специфических для больных шизофренией факторов риска МС.

Ключевые слова: шизофрения, метаболический синдром, конституция, ИМТ, висцеральное ожирение, липидный спектр

✉ Гончарова Анастасия Александровна, goncharanastasya@gmail.com

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научно-го проекта № 18–15–00011.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 99 от 17.04.2017).

Для цитирования: Корнетова Е.Г., Гончарова А.А., Меднова И.А., Корнетов А.Н., Саприна Т.В., Перчаткина О.Э., Семке А.В. Конституционально-морфологические основы метаболического синдрома у пациентов с шизофренией и лиц без психических расстройств. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):57–64. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-57-64>.

Somatotype and morphological characteristics of metabolic syndrome in patients with schizophrenia and persons without mental disorders

Kornetova E.G.¹, Goncharova A.A.¹, Mednova I.A.¹, Kornetov A.N.², Saprina T.V.², Perchatkina O.E.¹, Semke A.V.¹

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 4 Aleutskaya street, 634014, Tomsk, Russian Federation

² Siberian State Medical University,
2 Moskovsky trakt, 634055, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

Objective: identify differences or comparability of constitutional-morphological characteristics and indicators of the fatty constitution between patients with schizophrenia and people with MetS and without mental disorders.

Materials and methods. We examined 63 patients with schizophrenia and MetS (25 women, 38 men), aged 30 [33;52], and 50 mentally healthy individuals with MetS (28 women, 22 men) aged 57 [49; 60]. The main criterion for inclusion in the study was the presence of a verified MetS according to the criteria of the International Diabetes Federation. Anthropometric examination was performed according to the method of V.V. Bunak (1941) with the underlying calculation of integral indices. The determination of the fat component included: measuring waist circumference; non-invasive bioimpedancemetry – body weight, BMI, total and visceral fat content; determination of the total fat fold (electronic caliper). In the blood serum, the concentration of glucose, total cholesterol, HDL, TG was determined using standard commercial kits, the calculation of LDL and the Atherogenic Index.

Results. Differences in the prevalence of the constitutional-morphological type and the type of somatic sexual differentiation were not established in the groups. The level of visceral fat and BMI were higher in mentally healthy individuals with MetS than in schizophrenic patients with MetS ($p = 0.005$ and $p = 0.0001$, respectively). Patients with schizophrenia and MetS had low serum glucose levels compared with individuals without mental disorders ($p = 0.0001$). An increase in the level of TG and the Atherogenic Index was found in patients with schizophrenia with MetS ($p = 0.026$ and $p = 0.03$, respectively), and the level of HDL was reduced ($p = 0.022$).

Conclusion. The constitutional and morphological basis of MetS in patients with schizophrenia and persons without mental disorders is the same, however, changes in the fat constitution were determined for mentally healthy individuals. Changes in the lipid profile and glucose concentration may be associated with the presence of MetS-specific risk factors for patients with schizophrenia.

Keywords: schizophrenia, metabolic syndrome, constitution, BMI, visceral obesity, lipid spectrum.

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 supported by the Russian Science Foundation within the research project No. 18–15–00011.

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 Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 99 of 17.04.2017).

For citation: Kornetova E.G., Goncharova A.A., Mednova I.A., Kornetov A.N., Saprina T.V., Perchatkina O.E., Semke A.V. Somatotype and morphological characteristics of metabolic syndrome in patients with schizophrenia and persons without mental disorders. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):57–64. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-57-64>.

ВВЕДЕНИЕ

Формирование метаболического синдрома (МС) повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, инсулинорезистентности, сахарного диабета, а также сосудистых и неврологических осложнений [1]. Метаболический синдром ассоциирован с риском смерти для психически здоровых лиц [2], для пациентов с шизофренией он повышен практически в 2–4 раза [3].

Прием антипсихотической терапии выступает фактором формирования МС у больных шизофренией, нарастанием ухудшения метаболического профиля в первые два года терапии, особенно для молодых пациентов и для лиц с первым эпизодом [4]. Несмотря на использования разных оценочных критериев для выявления МС, его частота встречаемости увеличивается с течением времени в возрастной группе 20–29 лет, по критериям АТР III А – от 38,9 до 53,0%, Международной федерации диабета (IDF) – с 43,6 до 55,7% [5].

Назначение конвенциональных или атипичных антипсихотиков в разной степени связано с частотой встречаемости метаболических нарушений. В этом ряду можно выделить кветиапин, оланзапин и клозапин как нейролептики с самым высоким риском развития МС и арипипразол, галоперидол – с низким [6].

Отдельные компоненты жировой конституции, а именно увеличение в динамике параметров обхвата талии, индекса массы тела (ИМТ), связывают с риском развития МС у больных шизофренией [7]. Также отмечается увеличение подкожной и висцеральной жировой ткани при лечении препаратами из группы антипсихотиков, но не общего процента жира в организме у больных шизофренией в сравнении с соматически и психически здоровой контрольной группой [8].

Ранее для больных шизофренией была показана фундаментальная роль конституции как структурного биомаркера в развитии висцерального ожирения на фоне приема антипсихотической терапии [9], где конституционально-морфологическая принадлежность к астеническому типу была выделена как фактор риска его развития при назначении рисперидона,

а тип соматической половой дифференциации – для кветиапина. Это явилось расширением применения антропологического метода в психиатрии. Данный метод традиционно использовался применительно к клинической картине и течению психических расстройств [10] в сторону оценки ответа на терапию и ее безопасности. Отдельные работы также демонстрируют связь антропометрических параметров, таких как увеличение ИМТ и соотношения талии и бедер, с риском внезапной сердечной смертности, что объясняется развитием метаболических нарушений в психически здоровой популяции [11].

Изучение взаимосвязи между эпикардальным жиром, ожирением, висцеральной жировой тканью и компонентами метаболического синдрома показывает вклад последних в риск развития ишемической болезни сердца [12]. Для пациентов с шизофренией выявлена более высокая частота встречаемости абдоминального ожирения, гипертриглицеридемии и снижения уровня липопротеинов высокой плотности на фоне некоторого снижения частоты гипергликемии при сравнении с психически здоровыми лицами [13]. Прогностическая способность холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП) в отношении МС была признана наиболее высокой у больных шизофренией, получавших антипсихотическую терапию [14]. Следует отметить, что МС имеет сложный и системный патогенез развития, однако наряду с другими возможными предикторами малоподвижный образ жизни и несбалансированное питание играют основополагающую роль в его развитии [15].

Несмотря на наличие работ, демонстрирующих вклад отдельных антропометрических показателей в развитии МС как у пациентов с шизофренией, так и лиц без психических расстройств, ранее не было проведено исследований, направленных на сопоставление факторов конституции в формировании МС между этими двумя группами.

Цель исследования: выявить различия или сопоставимость конституционально-морфологических характеристик и показателей жировой конституции между пациентами с шизофренией и лицами с МС без психических расстройств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе клиник Научно-исследовательского института психического здоровья (второе клиническое отделение) Томского НИМЦ и Сибирского государственного медицинского университета (эндокринологическое отделение). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 99 от 17.04.2017).

Были сформированы две группы исследования: больные с шизофренией и психически здоровые лица с МС. Основой для включения в исследование являлось наличие верифицированного МС по критериям Международной федерации диабета (International Diabetes Federation, IDF) (2005) [16]. Они включают наличие абдоминального ожирения (объем талии ≥ 94 см у мужчин и ≥ 80 см у женщин) плюс два или более из следующих факторов: повышение триглицеридов $\geq 1,7$ ммоль/л или факт специфического лечения данной дислипидемии; холестерина $\leq 1,03$ ммоль/л у мужчин и $1,29$ ммоль/л у женщин; снижение липопротеидов высокой плотности или факт специфического лечения данной дислипидемии; повышение артериального давления $\geq 130/85$ мм рт. ст. или факт антигипертензивной терапии; повышение глюкозы крови натощак $\geq 5,6$ ммоль/л или факт ранее диагностированного сахарного диабета 2-го типа. Критерии включения в исследование: возраст пациентов 18–60 лет, верифицированный диагноз шизофрении по критериям для исследований Международной классификации болезней 10-го пересмотра [17] (для пациентов из психиатрического стационара), принадлежность к европеоидной расе, способность дать письменное информированное согласие. Критерии исключения – наличие нарушений органических, неврологических и тяжелых соматических расстройств, приводящих к органической недостаточности, отказ от участия в исследовании. Все пациенты с шизофренией на момент включения в исследование получали базисную антипсихотическую терапию в терапевтических дозировках, одобренных Минздравом России.

Антропометрическое обследование выполнено по методике В.В. Бунака (1941) [18], принятой в Научно-исследовательском институте и Музее антропологии им. Д.Н. Анучина Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Определение конституционально-морфологических типов и соматической половой дифференциации проведено с помощью вычисления индекса Rees – Eysenck [19] и Tanner [20].

Определение жировой компоненты включало измерение окружности талии (сантиметровая лента); суммарной жировой складки (электронный калипер) – складывалась из суммы показателей жировых складок плеча, спины, живота и голени; неинвазивную биоимпедансометрию (медицинский прибор Omron BF508, Япония) – масса тела, ИМТ, содержание общего и висцерального жира.

Забор крови осуществлялся после 12-часового ночного голодания путем антекубитальной венопункции в пробирки (BD Vacutainer) с активатором свертывания крови (КАТ). Для выделения образцов сыворотки пробирки центрифугировали 30 мин при 2 000 g при 4 °С. Сыворотку хранили при –20 °С (или –80 °С) до анализа. Концентрацию общего холестерина (ОХС), ЛПВП, триглицеридов (ТГ) и глюкозы в сыворотке крови определяли колориметрическим ферментативным методом с использованием стандартных коммерческих наборов (Corma, Польша). Концентрации липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) рассчитывали по формуле W.T. Friedewald (1972) [21]. Индекс атерогенности рассчитывали по формуле, предложенной А.Н. Климовым (1977) [22].

Полученные данные прошли проверку на согласие распределения с нормальным законом с помощью критериев Колмогорова – Смирнова (с поправкой Лиллиефорса) и критерия Шапиро – Уилка. Количественные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1; Q_3]$, качественные данные – частотными показателями (n (%)). Статистический анализ выполнен с использованием программного обеспечения Statistica for Windows 12.0. Для сопоставления частот использован критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения двух независимых выборок количественных данных применялся U -критерий Манна – Уитни. Пороговое значение достигнутого уровня значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обследованы 63 больных шизофренией с МС (25 женщин, 38 мужчин) в возрасте 30 [33; 52] лет и 50 психически здоровых лиц с МС (28 женщин, 22 мужчин) в возрасте 57 [49; 60] лет. По половому распределению группы исследования были сопоставимы ($p = 0,084$), однако значимо психически здоровые лица с МС были старше, чем больные шизофренией ($p = 0,0001$).

Проведено сопоставление групп сравнения по частоте встречаемости конституционально-морфологического типа, не были установлены статистически значимые различия между больными шизофренией и психически здоровыми лицами с МС (табл. 1).

В обеих группах преобладали лица с андроморфным типом – 65,1 и 56,0% соответственно.

Таблица 1

Конституционально-морфологические типы в группах сравнения					
Показатель	Пациенты с шизофренией и МС		Психически здоровые лица с МС		<i>p</i>
	Абс.	%	Абс.	%	
Астенический	7	11,1	0	0,0	–
Мезоморфный	35	55,6	24	48,0	0,453
Гиперстенический	21	33,3	26	52,0	0,055
Всего	63	100,0	50	100,0	–

В отношении типа соматической половой дифференциации различия не были установлены в группах исследования ($p = 0,565$), так же, как и при попарном сравнении (табл. 2).

Таблица 2

Тип соматической половой дифференциации в группах сравнения					
Показатель	Абс.	%	Абс.	%	<i>p</i>
Андроморфный	41	65,1	28	56,0	0,339
Мезоморфный	9	30,2	18	36,0	0,549
Гинекоморфный	3	4,8	4	8,0	0,697
Всего	63	100,0	50	100,0	–

Сравнение показателей жировой компоненты состава тела представлено в табл. 3. Обнаружено, что ИМТ и уровень висцерального жира были значительно выше у психически здоровых лиц с МС, чем у пациентов с шизофренией и МС ($p = 0,005$ и $p = 0,0001$ соответственно). Это может быть связано с их более старшим возрастом и, как следствие, с более длительным сроком ожирения, риском развития инсулинорезистентности и преддиабетическим состоянием.

Таблица 3

Показатели жировой компоненты состава тела у больных шизофренией и психически здоровых с метаболическим синдромом, <i>Me [Q₁; Q₃]</i>			
Параметр	Пациенты с шизофренией и МС	Психически здоровые лица с МС	<i>p</i>
Масса тела, кг	95,0 [84,2; 105,7]	95,7 [89,1; 106,5]	0,164
Обхват талии, см	105,0 [96,5; 114,0]	109 [101; 115]	0,205
ИМТ	31,2 [27,5; 35,9]	33,7 [31,5; 38,3]	0,005
Общий процент жира	36,4 [30,5; 47,5]	40,8 [33,7; 48,4]	0,176
Уровень висцерального жира	11 [9; 14]	13 [11; 17]	0,0001
Суммарная жировая складка	116 [86; 135]	121 [101; 143]	0,167

Выявлено, что пациенты с шизофренией и МС статистически значимо имели низкий уровень концентрации глюкозы в сыворотке крови по сравнению с психически здоровыми лицами с МС ($p = 0,0001$). В отношении показателей липидного спектра для уровня ТГ и индекса атерогенности выявлено их повышение у больных шизофренией с МС ($p = 0,026$ и $p = 0,03$ соответственно), а уровень ХС-ЛПВП был снижен ($p = 0,022$) (табл. 4).

Таблица 4

Показатели глюкозы и липидного спектра у больных шизофренией и психически здоровых с метаболическим синдромом, ммоль/л, <i>Me [Q₁; Q₃]</i>			
Параметр	Пациенты с шизофренией и МС	Психически здоровые лица с МС	<i>p</i>
Глюкоза	5,20 [4,70; 5,85]	5,70 [5,40; 6,40]	0,0001
ОХС	5,00 [4,04; 5,61]	4,66 [3,83; 5,62]	0,783
ТГ	2,00 [1,74; 2,41]	1,85 [1,50; 2,10]	0,026
ХС-ЛПВП	0,90 [0,70; 1,10]	1,00 [0,90; 1,20]	0,022
ХС-ЛПНП	2,92 [2,05; 3,72]	2,90 [2,10; 3,92]	0,804
Индекс атерогенности	4,26 [3,42; 5,98]	3,67 [2,67; 4,50]	0,030

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты позволяют предположить, что конституционально-морфологическая основа формирования МС у больных шизофренией и у психически здоровых лиц является одинаковой. Они имеют принципиальное значение, поскольку подтверждают общую патофизиологию МС [23] у разных групп пациентов и роль костной компоненты конституции как стабильного во времени структурного маркера в механизмах развития МС. Это показывает, что общее телосложение влияет на риск МС больше, чем антипсихотические препараты, и сама шизофрения как патологический процесс, сопровождающийся иммуновоспалением. Хотя их значимый вклад в МС хорошо известен [24, 25].

Однако в отношении жировой конституции были установлены различия, где для психически здоровых лиц с МС обнаружено увеличение таких показателей, как ИМТ и уровень висцерального жира, в сравнении с больными шизофренией с МС. Ранее было показано, что определение ИМТ имеет прогностическую ценность для проведения клинического скрининга метаболических нарушений для больных шизофренией, а именно лица с ИМТ 28 кг/м² и выше имели высокий риск формирования МС, чем лица с

показателем ниже этого порогового значения [26]. Также в литературе представлены данные о том, что для психически здоровых лиц уровень ИМТ не определяется как возможный маркер прогноза метаболических нарушений [27].

На современном этапе одним из ключевых патофизиологических факторов возникновения МС выступает увеличение содержания висцеральной жировой ткани [15]. Считается, что данный параметр может выступать надежным предиктором риска развития метаболических нарушений [28]. Существует и противоположная точка зрения, где в ходе исследования не были установлены различия в распределении висцерального жира у лиц с шизофренией, получающих антипсихотическую терапию, и группой контроля по данным магнитно-резонансной томографии [29].

Изменения в метаболизме глюкозы и липидов у больных шизофренией отмечаются спустя 2 нед и достигают максимума через 3 мес на фоне приема антипсихотической терапии [30]. Было показано увеличение уровня глюкозы в плазме натощак, инсулина, глюкозы в пероральном глюкозотолерантном тесте и формирование инсулинорезистентности у лиц с первым эпизодом шизофрении, ранее не получавших нейролептик, в сравнении с психически здоровым контролем, что может демонстрировать развитие нарушения метаболизма глюкозы у больных до начала приема терапии [31].

В данном исследовании лица с шизофренией и МС имели низкий уровень концентрации глюкозы в сыворотке крови. Психически здоровые добровольцы с МС – повышение концентрации глюкозы, что согласуется с увеличением таких показателей, как ИМТ и уровень висцерального жира в этой группе. Нарушение метаболизма глюкозы отражает такое явление, как формирование инсулинорезистентности, что приводит к развитию висцерального ожирения, появлению и нарастанию дислипидемии [32].

В первые 6 мес приема антипсихотической терапии у больных шизофренией прослеживается связь развития метаболических нарушений в виде дислипидемии с низким уровнем ЛПВП и увеличение окружности талии [33]. Влияние фармакологического агента на нейрогуморальные системы, а именно метаболизм лептина, адипонектина, грелина, орексина и холецистокинина, дофаминергическую, серотонинергическую, адренергическую функции, гистаминовые рецепторы, которые считаются биомаркерами метаболических нарушений, связывают с формированием МС [34], а также с повышением уровня ОХС и ТГ, ХС-ЛПНП, снижением величины ХС-ЛПВП [35] у больных шизофренией.

Обнаруженные различия в возрасте пациентов в группах сравнения могут быть объяснены тем, что пациенты были включены в исследование одновременно и параллельно. Это было определено дизайном исследования. Можно предположить, что более старший возраст стационарных пациентов больницы общего профиля с МС отражает общую картину развития МС в общей популяции, где общая распространенность МС увеличивается с возрастом: 15–39 лет – 13,9%; 40–59 лет – 26,4%, >60 лет – 32,4% [36]. Ранее также были показаны половозрастные различия для больных шизофренией, а именно женщины с МС были старше, болели дольше и заболевали позже, чем мужчины с МС [37].

Новые результаты, полученные в настоящем исследовании, рассмотрены с междисциплинарных позиций, которые, как известно, широко применяются для оценки психического здоровья [38]. В данном случае применение антропологического подхода в психонейроэндокринологии дало возможность найти клинические и биологические сходства и различия в особенностях МС у пациентов с шизофренией и лиц без психических расстройств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ морфофункциональных характеристик в группах больных шизофренией и МС и психически здоровых лиц с МС не показал значимых различий в принадлежности к конституционально-морфологическому типу или типу соматической половой дифференциации. В отношении жировой конституции установлено, что параметры ИМТ и уровня висцерального жира были выше у психически здоровых добровольцев с МС, чем у больных шизофренией. В ходе анализа уровня концентрации глюкозы и липидного спектра в группах исследования выявлено, что уровень концентрации глюкозы в сыворотке крови, ХС-ЛПВП был снижен, а уровень ТГ и индекса атерогенности – повышен у лиц с шизофренией и МС. Выявленные изменения, вероятно, могут быть связаны с наличием специфичных для больных шизофренией факторов риска МС.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Swarup S., Goyal A., Grigорова Y., Zeltser R. Metabolic Syndrome. 2021 In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. PMID: 29083742.
2. Симонова Г.И., Мустафина С.В., Рымар О.Д., Щербакowa Л.В., Никитенко Т.М., Бобак М. и др. Метаболический синдром, риск общей и сердечно-сосудистой смертности по данным четырнадцатилетнего проспективного когортного исследования в Сибири. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(6):86–94. DOI: 10.15829/1560-4071-2020-3821.

3. Grajales D., Ferreira V., Valverde Á.M. Second-generation antipsychotics and dysregulation of glucose metabolism: beyond weight gain. *Cells*. 2019;8(11):1336. DOI: 10.3390/cells8111336.
4. Bioque M., García-Portilla M.A.P., García-Rizo C., Cabrera B., Lobo A., González-Pinto A. et al. PEPs GROUP. Evolution of metabolic risk factors over a two-year period in a cohort of first episodes of psychosis. *Schizophr. Res.* 2018;193:188–196. DOI: 10.1016/j.schres.2017.06.032.
5. Yoca G., Anıl Yağcıoğlu A.E., Eni N., Karahan S., Türkoğlu İ., Akal Yıldız E. et al. A follow-up study of metabolic syndrome in schizophrenia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 2020;270(5):611–618. DOI: 10.1007/s00406-019-01016-x.
6. Huhn M., Nikolakopoulou A., Schneider-Thoma J., Krause M., Samara M., Peter N. et al. Comparative efficacy and tolerability of 32 oral antipsychotics for the acute treatment of adults with multi-episode schizophrenia: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet*. 2019;394(10202):939–951. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31135-3.
7. Lang X., Liu Q., Fang H., Zhou Y., Forster M.T., Li Z. et al. The prevalence and clinical correlates of metabolic syndrome and cardiometabolic alterations in 430 drug-naïve patients in their first episode of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2021;238(12):3643–3652. DOI: 10.1007/s00213-021-05983-9.
8. Smith E., Singh R., Lee J., Colucci L., Graff-Guerrero A., Remington G. et al. Adiposity in schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Acta Psychiatr. Scand.* 2021;144(6):524–536. DOI: 10.1111/acps.13365.
9. Корнетова Е.Г., Дубровская В.В., Корнетов А.Н., Лобачева О.А., Иванова С.А., Семке А.В. Морфофенотипический предиктор развития висцерального ожирения у больных шизофренией, получающих антипсихотическую терапию. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018;17(4):54–64. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-54-64.
10. Корнетов Н.А. Концепция клинической антропологии в медицине. *Бюллетень сибирской медицины*. 2008;7(1):7–31. DOI: 10.20538/1682-0363-2008-1-7-31.
11. Aune D., Schlesinger S., Norat T., Riboli E. Body mass index, abdominal fatness, and the risk of sudden cardiac death: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Eur. J. Epidemiol.* 2018;33(8):711–722. DOI: 10.1007/s10654-017-0353-9.
12. Rabkin S.W. The relationship between epicardial fat and indices of obesity and the metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* 2014;12(1):31–42. DOI: 10.1089/met.2013.0107.
13. Незнанов Н.Г., Мартынихин И.А., Таянский Д.А., Ротарь О.П., Солнцев В.Н., Соколян Н.А. и др. Шизофрения – фактор, увеличивающий риск развития метаболического синдрома. Результаты исследования с использованием метода подбора пар. *Медицинский академический журнал*. 2013;13(3):90–96.
14. Suzuki Y., Sugai T., Fukui N., Watanabe J., Ono S., Tsuneyama N. et al. Low prevalence of metabolic syndrome and its prediction in Japanese inpatients with schizophrenia. *Hum. Psychopharmacol.* 2013;28(2):188–191. DOI: 10.1002/hup.2295.
15. Bovolini A., Garcia J., Andrade M.A., Duarte J.A. Metabolic syndrome pathophysiology and predisposing factors. *Int. J. Sports Med.* 2021;42(3):199–214. DOI: 10.1055/a-1263-0898.
16. International Diabetes Federation. Clinical Guidelines Task Force. Global guideline for type 2 diabetes. Brussels: International Diabetes Federation, 2005.
17. World Health Organization: The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders – Diagnostic Criteria for Research. Geneva: WHO, 1993.
18. Бунак В.В. Антропометрия. Практический курс. М.: Учпедгиз, 1941:367.
19. Rees W.L., Eysenk H.J. A factorial study of some morphological aspects of human constitution. *The Journal of Mental Science*. 1945;91(382):8–21.
20. Brooksbank B.W., MacSweeney D.A., Johnson A.L., Cunningham A.E., Wilson D.A., Coppen A. Androgen excretion and physique in schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry*. 1970;117(539):413–420. DOI: 10.1192/BJP.117.539.413.
21. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972;18(6):499–502.
22. Климов А.Н. Превентивная кардиология; под ред. Г.И. Косицкого. М.: Медицина, 1977:321.
23. Huang P.L. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Dis. Model. Mech.* 2009;2(5–6):231–237. DOI: 10.1242/dmm.001180.
24. Leonard B., Schwarz M., Myint A. The metabolic syndrome in schizophrenia: Is inflammation a contributing cause? *J. Psychopharmacol.* 2012;26(5):33–41. DOI: 10.1177/0269881111431622.
25. Ijaz S., Bolea B., Davies S., Savović J., Richards A., Sullivan S. et al. Antipsychotic polypharmacy and metabolic syndrome in schizophrenia: a review of systematic reviews. *BMC Psychiatry*. 2018;18(1):275. DOI: 10.1186/s12888-018-1848-y.
26. Sugawara N., Yasui-Furukori N., Yamazaki M., Shimoda K., Mori T., Sugai T. et al. Predictive utility of body mass index for metabolic syndrome among patients with schizophrenia in Japan. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2020;16:2229–2236. DOI: 10.2147/NDT.S269619.
27. Shuey M.M., Huang S., Levinson R.T., Farber-Eger E., Cahill K.N., Beckman J.A. et al. Exploration of an alternative to body mass index to characterize the relationship between height and weight for prediction of metabolic phenotypes and cardiovascular outcomes. *Obes. Sci. Pract.* 2021;8(1):124–130. DOI: 10.1002/osp4.543.
28. Ruiz-Castell M., Samouda H., Bocquet V., Fagherazzi G., Stranges S., Huiart L. Estimated visceral adiposity is associated with risk of cardiometabolic conditions in a population based study. *Sci. Rep.* 2021;11(1):9121. DOI: 10.1038/s41598-021-88587-9.
29. Osimo E.F., Brugger S.P., Thomas E.L., Howes O.D. A cross-sectional MR study of body fat volumes and distribution in chronic schizophrenia. *NPJ Schizophr.* 2022;8(1):24. DOI: 10.1038/s41537-022-00233-z.
30. Chadda R.K., Ramshankar P., Deb K.S., Sood M. Metabolic syndrome in schizophrenia: Differences between antipsycho-

- tic-naïve and treated patients. *J. Pharmacol. Pharmacother.* 2013;4(3):176–186. DOI: 10.4103/0976-500X.114596.
31. Yang W., Zheng L., Zheng B., Zeng S., Li J., Liang B. et al. A Meta-Analysis of Abnormal Glucose Metabolism in First-Episode Drug-Naïve Schizophrenia. *Psychiatr. Danub.* 2020;32(1):46–54. DOI: 10.24869/psyd.2020.46.
32. Freeman A.M., Pennings N. Insulin Resistance. 2021. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. PMID: 29939616.
33. Jaber N., Faramarzi E., Farahbakhsh M., Ostadrahimi A., Asghari Jafarabadi M., Fakhari A. Prevalence of metabolic syndrome in schizophrenia patients treated with antipsychotic medications. *Caspian J. Intern. Med.* 2020;11(3):310–314. DOI: 10.22088/cjim.11.3.310.
34. Chang S.C., Goh K.K., Lu M.L. Metabolic disturbances associated with antipsychotic drug treatment in patients with schizophrenia: State-of-the-art and future perspectives. *World J. Psychiatry.* 2021;11(10):696–710. DOI: 10.5498/wjp.v11.i10.696.
35. Pillinger T., McCutcheon R.A., Vano L., Mizuno Y., Arumham A., Hindley G. et al. Comparative effects of 18 antipsychotics on metabolic function in patients with schizophrenia, predictors of metabolic dysregulation, and association with psychopathology: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Psychiatry.* 2020;7(1):64–77. DOI: 10.1016/S2215-0366(19)30416-X.
36. Li R., Li W., Lun Z., Zhang H., Sun Z., Kanu J.S. et al. Prevalence of metabolic syndrome in Mainland China: a meta-analysis of published studies. *BMC Public Health.* 2016;16:296. DOI: 10.1186/s12889-016-2870-y.
37. Корнетова Е.Г., Герасимова В.И., Гончарова А.А., Хамина В.В., Меднова И.А., Корнетов А.Н. и др. Метаболический синдром в госпитальной популяции больных шизофренией в регионе Западной Сибири. *Психиатрия.* 2021;19(4):52–60. DOI: 10.30629/2618-6667-2021-19-4-52-60.
38. Торчинов А.М., Барденштейн Л.М., Умаханова М.М., Хархарова М.А. Современные аспекты депрессивных расстройств у женщин в перименопаузе. *Журнал Российского общества акушеров-гинекологов.* 2006;3:34–38. DOI: 10.20538/1682-0363-2008-1-7-31.

Вклад авторов

Корнетова Е.Г. – разработка дизайна и концепции исследования, написание статьи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Гончарова А.А. – клинико-психопатологическое и антропометрическое обследование выборки, статистическая обработка данных, анализ литературы по теме исследования, написание статьи. Меднова И.А. – биохимическое обследование, анализ литературы по теме исследования, написание статьи. Корнетов А.Н. – написание статьи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Саприна Т.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Перчаткина О.Э. – клинико-психопатологическое и антропометрическое обследование выборки. Семке А.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Корнетова Елена Георгиевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, kornetova@sibmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-5179-9727>

Гончарова Анастасия Александровна – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, goncharanastasya@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5260-5245>

Меднова Ирина Андреевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, irinka145@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-80573305>

Корнетов Александр Николаевич – д-р мед. наук, зав. кафедрой фундаментальной психологии и поведенческой медицины, СибГМУ, г. Томск, lkornetov@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2342-7504>

Саприна Татьяна Владимировна – д-р мед. наук, профессор кафедры факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, tanja.v.saprina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-9011-8720>

Перчаткина Ольга Эрнстовна – канд. мед. наук, зав. отделом координации научных исследований, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, roa@antline.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5538-1304>

Семке Аркадий Валентинович – д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной и лечебной работе, зав. отделением эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск, asemke@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8698-0251>

(✉) Гончарова Анастасия Александровна, goncharanastasya@gmail.com

Поступила в редакцию 12.08.2022;
одобрена после рецензирования 06.09.2022;
принята к публикации 08.09.2022

УДК 616.22-006.6:616.428-073.916

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-65-72>

Диагностика сторожевых лимфатических узлов у больных раком гортани и гортаноглотки с применением нового отечественного радиофармацевтического лекарственного препарата на основе меченного технецием-99m гамма-оксида алюминия

Медведева А.А., Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Чойнзонов Е.Л.,
Чижевская С.Ю., Рыбина А.Н., Гольдберг А.В., Черемисина О.В.

Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить возможность использования радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП) на основе оксида алюминия, меченного ^{99m}Tc ($[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$), для диагностики сторожевых лимфатических узлов (СЛУ) при опухолях гортани и гортаноглотки в сравнении с фитатным коллоидом ($[^{99m}\text{Tc}]\text{-фитатный коллоид}$).

Материалы и методы. В исследование вошли больные раком гортани и гортаноглотки стадий $T_{2-4}N_0M_0$ ($n = 54$). В проспективной группе ($n = 30$) в качестве диагностического РФЛП использовался $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$, в ретроспективной группе ($n = 24$) – $[^{99m}\text{Tc}]\text{-фитатный коллоид}$. Все РФЛП вводились эндоскопически в подслизистое пространство по периферии опухоли, через 18 ч проводилась однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) и интраоперационная детекция СЛУ.

Результаты. В ретроспективной группе СЛУ были выявлены у 20 пациентов из 24. Всего в ретроспективной группе было обнаружено 32 лимфатических узла. Количество выявленных лимфатических узлов у одного больного составило 1,3 [0–3], интенсивность накопления РФЛП на томосцинтиграммах – 2,2 [0,7–8,1], интраоперационно – 4 [1,6–9,0]. В проспективной группе аккумуляция $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ в лимфатических узлах шеи определялась у 27 пациентов (90%), у 3 пациентов СЛУ не визуализировались. Всего было выявлено 57 лимфоузлов (у 27 пациентов). Количества визуализируемых СЛУ составила 1,5 [0–5], интенсивность накопления $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ по данным ОФЭКТ и интраоперационной детекции составила 4,8 [0,7–19,4] и 6 [1,1–22,0] соответственно.

Заключение. Существенным достоинством использования в качестве РФЛП $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ является его высокая аккумуляция в сторожевых лимфатических узлах при опухолях гортани и гортаноглотки, что приводит к увеличению чувствительности метода в целом до 90 против 83% при применении $[^{99m}\text{Tc}]\text{-фитатного коллоида}$.

Ключевые слова: радионуклидный, коллоид, рак гортани, рак гортаноглотки, сторожевой лимфатический узел, однофотонная эмиссионная компьютерная томография, гамма-зонд

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 по биомедицинской этике НИИ онкологии Томского НИМЦ.

✉ Медведева Анна Александровна, medvedeva@mail.ru

Для цитирования: Медведева А.А., Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Чойнзоннов Е.Л., Чижевская С.Ю., Рыбина А.Н., Гольдберг А.В., Черемисина О.В. Диагностика сторожевых лимфатических узлов у больных раком гортани и гортаноглотки с применением нового отечественного радиофармацевтического лекарственного препарата на основе меченного технецием-99m гамма-оксида алюминия. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):65–72. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-65-72>.

Diagnosis of sentinel lymph nodes in patients with cancer of the larynx and laryngopharynx using a new radiopharmaceutical based on technetium-99m-labeled gamma aluminum oxide

Medvedeva A.A., Chernov V.I., Bragina O.D., Zeltchan R.V., Choynzonov E.L., Chizhevskaya S.Yu., Rybina A.N., Gol'dberg A.V., Cheremisina O.V.

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the possibility of using a radiopharmaceutical based on aluminum oxide labeled with ^{99m}Tc ($[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$) for the diagnosis of sentinel lymph nodes (SLN) in tumors of the larynx and laryngopharynx in comparison with a phytate colloid ($[^{99m}\text{Tc}]\text{-phytate colloid}$).

Materials and methods. The study included patients with cancer of the larynx and laryngopharynx ($T_{2-4}N_0M_0$) ($n = 54$). In the prospective group ($n = 30$), $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ was used as a radiopharmaceutical, in the retrospective group ($n = 24$), $[^{99m}\text{Tc}]\text{-phytate colloid}$ was used. All radiopharmaceuticals were introduced endoscopically into the submucosal space along the periphery of the tumor. After 18 hours, single-photon emission computed tomography (SPECT) and intraoperative SLN detection were performed.

Results. In the retrospective group, SLNs were detected in 20 out of 24 patients. A total of 32 lymph nodes were identified in the retrospective group. The median number of detected lymph nodes in one patient was 1.3 [0–3], the intensity of the radiopharmaceutical uptake on scintigrams was 2.2 [0.7–8.1], intraoperatively – 4 [1.6–9.0]. In the prospective group, $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ uptake in the lymph nodes of the neck was determined in 27 patients (90%); in 3 patients, SLNs were not visualized. A total of 57 lymph nodes were identified (in 27 patients). The median number of visualized SLNs was 1.5 [0–5], the intensity of $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ uptake according to SPECT and intraoperative detection was 4.8 [0.7–19.4] and 6 [1.1–22.0], respectively.

Conclusion. The most significant advantage of using $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ as a radiopharmaceutical is its high uptake in SLNs, which leads to an increase in the sensitivity of the method as a whole up to 90 versus 83% when using $[^{99m}\text{Tc}]\text{-phytate colloid}$.

Keywords: radionuclide, colloid, laryngeal cancer, laryngopharyngeal cancer, sentinel lymph node, single-photon emission computed tomography, gamma probe

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 and the Bioethics Committee at Cancer Research Institute, Tomsk NRMС.

For citation: Medvedeva A.A., Chernov V.I., Bragina O.D., Zeltchan R.V., Choynzonov E.L., Chizhevskaya S.Yu., Rybina A.N., Gol'dberg A.V., Cheremisina O.V. Diagnosis of sentinel lymph nodes in patients with cancer of the larynx and laryngopharynx using a new radiopharmaceutical based on technetium-99m-labeled gamma aluminum oxide. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):65–72. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-65-72>.

ВВЕДЕНИЕ

Основным этапом лечения опухолей большинства локализаций является хирургический, однако часто оперативное вмешательство становится причиной снижения качества жизни и социальной адаптации пациентов. В связи с этим тема внедрения в клинику органосохраняющих и реконструктивных операций чрезвычайно актуальна. Как следствие, адекватное определение распространенности злокачественного процесса играет важную роль в выборе методов лечения онкологических больных [1–4]. На сегодняшний день статус сторожевого лимфатического узла (СЛУ) считается одним из важных прогностических факторов метастазирования некоторых опухолей [5–8]. Сторожевым (сигнальным) лимфатическим узлом считается лимфоузел, находящийся на пути прямого лимфатического оттока от первичного опухолевого узла. R.M. Cabañas был одним из первых, кто использовал название «сторожевой лимфатический узел» [9].

Радионуклидная диагностика активно используется в онкологической практике, дополняя конвенциональные методы визуализации ценной функциональной информацией [10–14]. Использование этого метода для диагностики СЛУ дает возможность точно определять локализацию сторожевого узла как интраоперационно, так и на дооперационном этапе. В 1993 г. J.C. Alex и D.N. Krag было предложено использовать интраоперационное выявление СЛУ при помощи портативного гамма-сканера путем измерения уровня излучения во всех лимфатических коллекторах после введения радиоактивного коллоида [15].

Бурное развитие ядерной медицины в последнее время связано не только с совершенствованием технической базы, но также с активным внедрением новых высокоспецифичных радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП). Идеальный РФЛП для визуализации СЛУ должен отличаться быстрым выведением из места инъекции и активной аккумуляцией в лимфатических узлах. Исследователи считают, что такие характеристики могут быть реализованы в РФЛП, в основе которых лежат механизмы связывания по типу «лиганд – рецептор» или «антиген – антитело». Одним из таких РФЛП на данный момент является $[^{99m}\text{Tc}]$ -ритуксимаб, который связывается с рецептором CD20 активно экспрессирующихся на поверхности В-клеток. Проведенные исследования показали, что $[^{99m}\text{Tc}]$ -ритуксимаб в меньшей степени перераспределяется в дистальные лимфоузлы, по сравнению с коллоидными РФЛП, и активнее уходит из места инъекции [16]. Также на сегодняшний день в США зарегистрирован и актив-

но внедряется в клинику LymphoseekTM, меченный ^{99m}Tc , который накапливается в лимфатических узлах путем связывания с CD206 на поверхности макрофагов [17].

Несмотря на появление таргетных РФЛП для картирования СЛУ, активно продолжают исследования по изучению возможностей использования коллоидных препаратов, меченных ^{99m}Tc , которые по-прежнему остаются основными индикаторами для визуализации СЛУ. Основным критерием оценки коллоидного РФЛП является размер частиц, и оптимальным считается коллоид с размером частиц 50–80 нм, что обеспечивает быструю скорость выведения РФЛП из места инъекции и высокую его ретенцию в СЛУ [18, 19].

Целью данной работы было изучение возможности использования нового отечественного РФЛП на основе оксида алюминия, меченного ^{99m}Tc ($[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$), для диагностики СЛУ при опухолях гортани и гортаноглотки, в том числе в сравнении с широко применяемым в нашей стране фитатным коллоидом ($[^{99m}\text{Tc}]$ -фитатный коллоид). Оба РФЛП являются коллоидными препаратами, однако отличаются размерами частиц: $[^{99m}\text{Tc}]$ -фитатный коллоид характеризуется достаточно большим разбросом величины частиц – 40–10 000 нм, в состав $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ входят коллоидные частицы размером 50–100 нм. Выполненные ранее доклинические и клинические исследования $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ показали безопасность его применения и функциональную пригодность для визуализации лимфатических узлов [20–25].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли больные раком гортани и гортаноглотки стадий $\text{T}_{2-4}\text{N}_0\text{M}_0$ ($n = 54$). Общим показанием для включения пациентов в данное исследование являлось отсутствие на момент обследования признаков метастатического поражения регионарных лимфатических узлов. Исследование проводилось с одобрением локального этического комитета по биомедицинской этике НИИ онкологии Томского НИМЦ, все пациенты были включены в исследование на основании информированного добровольного согласия.

В проспективной группе ($n = 30$) в качестве диагностического РФЛП использовался $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$, ретроспективная группа ($n = 24$) обследовалась с использованием $[^{99m}\text{Tc}]$ -фитатного коллоида. Референтным методом для анализа диагностической эффективности метода являлся результат гистологического исследования удаленных лимфатических узлов.

Радионуклидная диагностика СЛУ включает в себя выполнение инъекции диагностического

РФЛП, затем получение визуальной информации и интраоперационной детекции лимфоузлов с их последующим морфологическим исследованием. Все РФЛП вводились эндоскопически в подслизистое пространство по периферии опухоли в области гортани или гортаноглотки в две точки (12 и 18 ч условного циферблата), отступая 3 мм от видимого края опухоли. Общая вводимая активность РФЛП составляла 40 МБк (20 МБк на каждую точку инъекции).

Через 18–20 ч после инъекции РФЛП проводилась однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) на гамма-камере E.cam 180 (Siemens, Германия) с использованием параллельных высокоразрешающих коллиматоров для энергии 140 КэВ.

Томосцинтиграммы оценивались визуально с фиксацией количества очагов накопления РФЛП, которые соответствовали локализации регионарных лимфатических узлов и полуколичественно. При полуколичественном анализе рассчитывалось отношение количества импульсов в лимфатическом узле с

наибольшим накоплением РФЛП к количеству импульсов в месте инъекции (%).

Во время хирургического вмешательства выполнялась интраоперационная детекция СЛУ с использованием гамма-зонда Gamma Finder II (США) (рис. 1). Лимфатический узел с наибольшей активностью, по сравнению с остальными обнаруженными с помощью гамма-зонда лимфоузлами, либо единственный выявленный лимфоузел маркировался как сторожевой. После удаления СЛУ область регионарного лимфатического коллектора повторно исследовалась с помощью гамма-зонда. Удалению подвергался не только непосредственно отмаркированный СЛУ, но и остальные выявленные гамма-зондом лимфатические узлы в проекции регионарного лимфатического коллектора. По данным интраоперационной радиометрии также рассчитывался уровень аккумуляции РФЛП в проекции СЛУ (в % по отношению к месту инъекции). Удаленные СЛУ подвергались срочному цитологическому исследованию: при наличии метастазов в лимфатических узлах выполнялась лимфодиссекция.



Рис. 1. Интраоперационное исследование сторожевых лимфатических узлов гамма-зондом

Нормальность распределения данных оценивалась с использованием критерия Шапиро – Уилка, для характеристики центральной тенденции в выборке рассчитывалась медиана и интерквартильный размах $Me [Q_1-Q_3]$. Для сравнения межгрупповых различий исследуемых результатов, учитывая ненормальное распределение изучаемых количественных признаков, использовались U -критерий Манна – Уитни и критерий Краскела – Уоллиса. Оценка чувствительности метода проводилась по формуле $ИП / (ИП + ЛО) \times 100\%$, где ИП – истинно положительный результат, ЛО – ложноотрицательный результат. При этом во внимание принималось количество пациентов, у которых было зафиксировано накопле-

ние РФЛП в проекции лимфатических узлов, референтным методом для анализа являлся результат гистологического исследования послеоперационного материала (наличие в удаленном материале лимфатических узлов).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У 7 из 54 пациентов не было отмечено перераспределения РФЛП из места инъекции по лимфатическому коллектору, накопления РФЛП в проекции лимфатических узлов не было выявлено ни скинтиграфически, ни интраоперационно с помощью гамма-зонда. Чаще визуализировалась односторонняя локализация СЛУ – в 85% случаев ($n = 40$), двух-

сторонняя локализация была выявлена у 7 больных (рис. 2, 3). При этом чаще всего визуализировались лимфатические узлы, расположенные в проекции III и VA уровней шеи – 47 и 33% соответственно, реже в проекции IIА и IIВ подуровней – 14 и 12%.

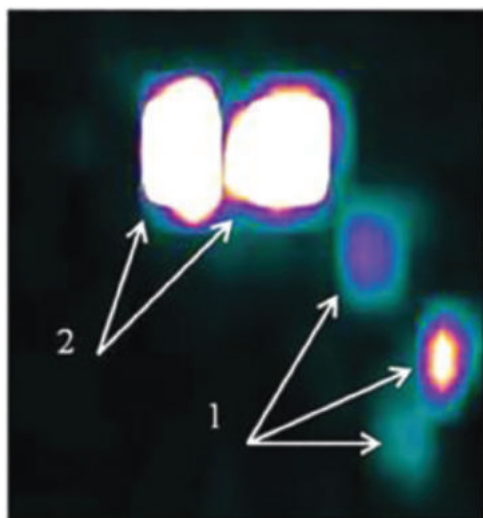


Рис. 2. Томосцинтиграмма больной раком гортани: 1 – накопление радиофармпрепарата в проекции лимфатических узлов шеи слева ($n = 3$); 2 – место инъекции

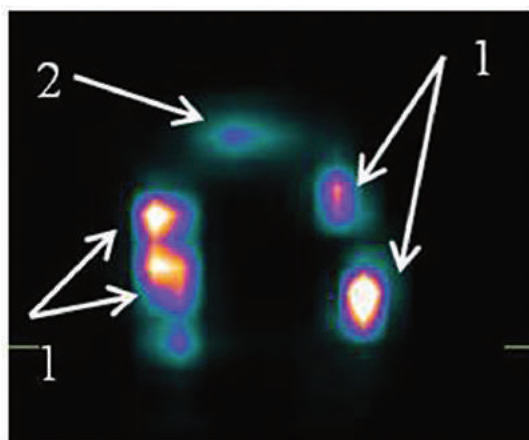


Рис. 3. Томосцинтиграмма больного раком гортаноглотки: 1 – накопление радиофармпрепарата в проекции лимфатических узлов шеи с обеих сторон ($n = 5$); 2 – место инъекции

При анализе полученных результатов в ретроспективной группе СЛУ были выявлены у 20 пациентов из 24. Результаты ОФЭКТ и интраоперационной детекции совпадали, все визуализируемые на томосцинтиграммах лимфатические узлы выявлялись гамма-зондом. У 4 пациентов не было отмечено включения ^{99m}Tc -фитатного коллоида в лимфатических узлах (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика полученных результатов в ретроспективной группе с использованием ^{99m}Tc -фитатного коллоида, $n = 24$		
Результат	ОФЭКТ, n	Интраоперационная детекция, n
Истинно положительный	20	20
Истинно отрицательный	0	0
Ложно положительный	0	0
Ложноотрицательный	4	4

Всего в ретроспективной группе было выявлено 32 лимфатических узла. Количества выявленных лимфатических узлов у одного больного составило 1,3 [0–3], интенсивность накопления РФЛП на томосцинтиграммах – 2,2 [0,7–8,1], интраоперационно – 4 [1,6–9,0] (табл. 2).

В проспективной группе аккумуляция ^{99m}Tc - Al_2O_3 в лимфатических узлах шеи определялась у 27 пациентов (90%), у 3 пациентов СЛУ не визуализировались. Идентичные результаты были получены и во время интраоперационной детекции (табл. 3). Всего было выявлено 57 лимфоузлов (у 27 пациентов). Медиана количества визуализируемых СЛУ составила 1,5 [0–5], интенсивность накопления ^{99m}Tc - Al_2O_3 по данным ОФЭКТ и интраоперационной детекции – 4,8 [0,7–19,4] и 6 [1,1–22,0] соответственно (см. табл. 2).

Таблица 2

Сравнительный анализ результатов радионуклидной диагностики сигнальных лимфатических узлов у больных раком гортани и гортаноглотки с ^{99m}Tc -фитатным коллоидом и ^{99m}Tc - Al_2O_3		
Показатель	^{99m}Tc -фитатный коллоид	^{99m}Tc - Al_2O_3
Количество визуализируемых лимфатических узлов, n , $Me [Q_1-Q_3]$	1,3 [0–3]	1,5 [0–5]
	$p < 0,2$	
Интенсивность накопления РФЛП на томосцинтиграммах, %, $Me [Q_1-Q_3]$	2,2 [0,7–8,1]	4,8 [0,7–19,4]
	$p < 0,027$	
Интенсивность накопления РФЛП интраоперационно, %, $Me [Q_1-Q_3]$	4 [1,6–9,0]	6 [1,1–22,0]
	$p < 0,034$	
Чувствительность метода, %	83	90

Таблица 3

Характеристика полученных результатов в проспективной группе с использованием ^{99m}Tc - Al_2O_3 , $n = 30$		
Результат	ОФЭКТ, n	Интраоперационная детекция, n
Истинно положительный	27	27
Истинно отрицательный	0	0
Ложноположительный	0	0
Ложноотрицательный	3	3

По результатам гистологического исследования удаленных лимфатических узлов метастатическое поражение было выявлено у трех больных из ретроспективной группы и трех из проспективной группы (все пораженные лимфоузлы соответствовали стороне локализации первичной опухоли).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ результатов указывает на значимые различия характера скинтиграфических данных, полученных после использования РФЛП с различным диаметром коллоидных частиц. Наиболее существенным достоинством метода при использовании в качестве РФЛП $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ является его высокая аккумуляция в лимфатических узлах, благодаря чему создаются оптимальные условия для визуализации СЛУ на томосцинтиграммах и облегчается их поиск во время операции с помощью гамма-зонда, что, в свою очередь, приводит к увеличению чувствительности метода в целом до 90 против 83%, когда в качестве РФЛП применяется $[^{99m}\text{Tc}]\text{-фитатный коллоид}$.

До сих пор основным методом лечения рака гортани и гортаноглотки остается оперативный, на сегодняшний день объем операции определяется с учетом клинических и морфологических особенностей опухолевого процесса. Одним из базовых факторов, который влияет на тактику лечения и прогноз заболевания, является оценка состояния регионарных лимфатических узлов. При раке гортани и гортаноглотки частота метастазирования в регионарные лимфатические узлы достигает 30% [26].

Было предпринято множество попыток определения предикторов скрытых метастазов в лимфоузлы, из которых наиболее информативным оказалась глубина инвазии опухоли, однако и этот критерий не обеспечивает абсолютной уверенности в адекватной оценке состояния зон регионарного лимфооттока [27]. Таким образом, применение концепции сторожевых лимфатических узлов при опухолях гортани и гортаноглотки может способствовать снижению неоправданных лимфодиссекций во время операции у данной категории больных и уменьшению объема проводимой лучевой терапии [28–30].

В целом следует сказать, что методика определения СЛУ при злокачественных опухолях головы и шеи в большей степени касается рака полости рта, и основная масса исследований посвящена именно этой локализации. Это связано с более агрессивным течением данной патологии, особенностями лимфодренажа и сложностями выявления метастатического поражения регионарных лимфоузлов, особенно на ранних стадиях заболевания. Рак гортани и гортано-

глотки характеризуется меньшим риском метастазирования в лимфатические узлы, однако проблема органосохранных операций при данной локализации стоит довольно остро, в связи с чем достаточно актуальным является развитие направления адекватной оценки распространенности заболевания на дооперационном этапе у таких пациентов [28, 30–32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительное исследование эффективности применения РФЛП $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ для визуализации СЛУ при опухолях гортани и гортаноглотки в сравнении с фитатным коллоидом ($[^{99m}\text{Tc}]\text{-фитатный коллоид}$) показало, что существенным достоинством использования $[^{99m}\text{Tc}]\text{-Al}_2\text{O}_3$ является его более высокая аккумуляция в сторожевых лимфатических узлах. Этот феномен приводит к увеличению чувствительности метода в целом до 90 против 83% при применении $[^{99m}\text{Tc}]\text{-фитатного коллоида}$.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гордон К.Б., Гулидов И.А., Рожнов В.А., Семенов А.В. Возможность химиолучевого лечения первичных местнораспространенных опухолей органов головы и шеи. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2018;7(3):68–74.
2. Красавина Е.А., Балацкая Л.Н., Чойнзонов Е.Л. Биологическая обратная связь в голосовой реабилитации больных после ларингэктомии. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация*. 2019;3(3):32–36. DOI: 10.36425/2658-6843-2019-3-32-36.
3. Трофимов Е.И., Сивкович О.О., Дайхес Н.А., Виноградов В.В., Решульский С.С. Оптимизация диагностики и хирургического лечения метастатического рака гортани и гортаноглотки. *Опухоли головы и шеи*. 2019;9(2):29–34. DOI: 10.17650/2222-1468-2019-9-2-29-34.
4. Jones T.M., De M., Foran B., Harrington K., Mortimore S. Laryngeal cancer: United Kingdom National Multidisciplinary guidelines. *The Journal of Laryngology & Otology*. 2016;130(S2):75–82. DOI: 10.1017/S0022215116000487.
5. Boada A., Tejera-Vaquerizo A., Ribero S., Puig S., Moreno-Ramírez D., Quaglini P. et al. Factors associated with sentinel lymph node status and prognostic role of completion lymph node dissection for thick melanoma. *Eur. J. Surg. Oncol.* 2020;46(2):263–271. DOI: 10.1016/j.ejso.2019.09.189.
6. Lafuente-Sanchis A., Olmo A., Carretero J., Alcacer Fernandez-Coronado J., Estors-Guerrero M., Martínez-Hernández N.J. et al. Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition-related markers expression in the micrometastatic sentinel lymph node of NSCLC. *Clin. Transl. Oncol.* 2020;22(3):381–391. DOI: 10.1007/s12094-019-02138-3.
7. Ni J.S., Janz T.A., Nguyen S.A., Lentsch E.J. Predictors of occult lymph node metastasis in cutaneous head and neck melanoma. *World J. Otorhinolaryngol. Head Neck Surg.* 2019;5(4):200–206. DOI: 10.1016/j.wjorl.2019.02.003.
8. Touhami O., Grégoire J., Renaud M.C., Sebastianelli A., Planete M. Performance of sentinel lymph node (SLN) map-

- ping in high-risk endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 2017;147(3):549–553. DOI: 10.1016/j.ygyno.2017.09.014.
9. Cabañas R.M. An approach for the treatment of penile cancer. *Cancer.* 1977;39:456–466.
 10. Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Ларькина М.С. и др. Меченные аналоги соматостатина в тераностике нейроэндокринных опухолей. *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* 2017;62(3):42–49.
 11. Тицкая А.А., Чернов В.И., Слонимская Е.М., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В. Маммосцинтиграфия с ^{99m}Tc -МИ-БИ в диагностике рака молочной железы. *Сибирский медицинский журнал (г. Томск).* 2010;25(4–1):92–95.
 12. Bragina O., Zelchan R., Medvedeva A., Chernov V., Orlova A., Vorobyeva A. et al. Phase I study of ^{99m}Tc -ADAPT6, a scaffold protein-based probe for visualization of her2 expression in breast cancer. *Journal of Nuclear Medicine.* 2021;62(4):493–499. DOI: 10.2967/jnumed.120.248799.
 13. Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Ларькина М.С. Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных образований. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019;18(3):125–133. DOI:10.20538/1682-0363-2019-3-125-133.
 14. Чернов В.И., Дудникова Е.А., Зельчан Р.В., Кравчук Т.Л., Данилова А.В., Медведева А.А. и др. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография с ^{99m}Tc -1-ТНО-Д-глюкозой в диагностике и стадировании злокачественных лимфом: первый опыт использования. *Сибирский онкологический журнал.* 2018;17(4):81–87. DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-4-81-87.
 15. Alex J.C., Krag D.N. The gamma-probe-guided resection of radiolabeled primary lymph nodes. *Surg. Oncol. Clin. N. Am.* 1996;5(1):33–41.
 16. Zhang J.J., Zhang W.C., An C.X., Li X.M., Ma L. Comparative research on ^{99m}Tc -Rituximab and ^{99m}Tc -sulfur colloid in sentinel lymph node imaging of breast cancer. *BMC Cancer.* 2019;19(1):956. DOI: 10.1186/s12885-019-6197-9.
 17. Unkart J.T., Hosseini A., Wallace A.M. Tc-99m tilmanocept versus Tc-99m sulfur colloid in breast cancer sentinel lymph node identification: Results from a randomized, blinded clinical trial. *J. Surg. Oncol.* 2017;116(7):819–823.
 18. Кузнецов С.А., Шубина И.Ж., Мамедова Л.Т., Грицай А.Н., Киселевский М.В. Методы идентификации микрометастазов при злокачественных новообразованиях. *Онкогематология.* 2016;1:75–79. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-1-75-79.
 19. Jimenez I.R., Roca M., Vega E., García M.L., Benitez A., Bajén M. et al. Particle sizes of colloids to be used in sentinel lymph node radio localization. *Nucl. Med. Commun.* 2008;29(2):166–172. DOI: 10.1097/MNM.0b013e3282f258d9.
 20. Варламова Н.В., Скуридин В.С., Нестеров Е.А., Ларионова Л.А., Чернов В.И. Исследование кумулятивных свойств радиофармпрепарата «Нанокolloид, ^{99m}Tc - Al_2O_3 » на крысах. *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина.* 2015;13(2):40–44.
 21. Варламова Н.В., Стасюк Е.С., Тицкая А.А., Синилкин И.Г., Ларионова Л.А., Шерстобоев Е.Ю. и др. Изучение аллери-зирующих свойств радиофармпрепарата «Нанокolloид, ^{99m}Tc - Al_2O_3 » в эксперименте. *Современные технологии в медицине.* 2015;4:72–77. DOI: 10.17691/stm2015.7.4.09.
 22. Скуридин В.С., Стасюк Е.С., Варламова Н.В., Рогов А.С., Садкин В.Л., Нестеров Е.А. Получение нового нанокolloидного радиофармпрепарата на основе оксида алюминия. *Известия Томского политехнического университета.* 2013;323(3):33–37.
 23. Chernov V.I., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Medvedeva A.A., Lyapunov A.Yu., Bragina O.D. et al. Experimental study of ^{99m}Tc -aluminum oxide use for sentinel lymph nodes detection. *AIP Conference Proceedings.* 2016;020012.
 24. Chernov V., Sinilkin I., Choyzonov E., Chijevskaya S., Titskaya A., Zelchan R. et al. Comparative evaluation of ^{99m}Tc - Al_2O_3 and ^{99m}Tc -fitat nanocolloids for sentinel lymph nodes visualization in patients with cancer of larynx and hypopharynx. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* 2015;42:704.
 25. Синилкин И.Г., Чернов В.И., Коломиец Л.А., Слонимская Е.М., Медведева А.А., Зельчан Р.В. и др. Первый опыт клинического применения нового отечественного радиофармпрепарата ^{99m}Tc -гамма-оксид алюминия для визуализации сторожевых лимфатических узлов при злокачественных новообразованиях. *Медицинская визуализация.* 2016;2:57–62.
 26. Рожнов В.А., Андреев В.Г., Мардынский Ю.С., Панкратов В.А., Барышев В.В., Буякова М.Е. и др. Сравнительные результаты хирургического и комбинированного лечения местно-распространенного рецидивного рака гортани (T3N0M0). *Сибирский онкологический журнал.* 2008;5(29):23–26.
 27. Alkureishi L.W., Ross G.L., Shoaib T., Soutar D.S., Robertson A.G., Sorensen J.A. et al. Does tumor depth affect nodal upstaging in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope.* 2008;118: 629–634. DOI: 10.1097/MLG.0b013e31815e8bf0.
 28. Sharma D., Koshy G., Grover S., Sharma B. Sentinel Lymph Node Biopsy: A new approach in the management of head and neck cancers. *Sultan Qaboos Univ. Med. J.* 2017;17(1):e3–e10. DOI: 10.18295/squmj.2016.17.01.002.
 29. De Veij Mestdagh P.D., Janssen T., Lamers E., Carbaat C., Hamming-Vrieze O., Vogel W.V. et al. SPECT/CT-guided elective nodal irradiation for head and neck cancer: estimation of clinical benefits using NTCP models. *Radiother. Oncol.* 2019;130:18–24. DOI: 10.1016/j.radonc.2018.07.023.
 30. De Veij Mestdagh P.D., Schreuder W.H., Vogel W.V., Donswijk M.L., van Werkhoven E., van der Wal J.E. et al. Mapping of sentinel lymph node drainage using SPECT/CT to tailor elective nodal irradiation in head and neck cancer patients (SUSPECT-2): a single-center prospective trial. *BMC Cancer.* 2019;19(1):1110. DOI: 10.1186/s12885-019-6331-8.
 31. Lawson G., Matar N., Nolleaux M.C., Jamart J., Krug B., Delos M. et al. Reliability of sentinel node technique in the treatment of N0 supraglottic laryngeal cancer. *Laryngoscope.* 2010;120:2213–2217. DOI: 10.1002/lary.21131.
 32. Yoshimoto S., Hasegawa Y., Matsuzuka T., Shiotani A., Takahashi K., Kohno N. et al. Sentinel node biopsy for oral and laryngopharyngeal squamous cell carcinoma: a retrospective study of 177 patients in Japan. *Auris Nasus Larynx.* 2012;39(1):65–70. DOI: 10.1016/j.anl.2011.03.002.

Вклад авторов

Медведева А.А., Чернов В.И., Чойнзонов Е.Л. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи. Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Рыбина А.Н., Чижевская С.Ю., Гольдберг А.В., Черемисина О.В. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания.

Информация об авторах

Медведева Анна Александровна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, medvedeva@tnimc.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5840-3625>

Чернов Владимир Иванович – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, руководитель отделения радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, chernov@tnimc.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5524-9546>

Брагина Ольга Дмитриевна – д-р мед. наук, врач-онколог, ст. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, bragina_od@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5281-7758>

Зельчан Роман Владимирович – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, r.zelchan@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4568-1781>

Чойнзонов Евгений Лхамцыренович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, choynzonov@tnimc.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3651-0665>

Чижевская Светлана Юрьевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение опухолей головы и шеи, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, sch@oncology.tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2974-4778>

Рыбина Анастасия Николаевна – канд. мед. наук, врач, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, pankovaan@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6488-0647>

Гольдберг Алексей Викторович – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, отделение лучевой диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, agoldyuy@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-7829-2515>

Черемисина Ольга Владимировна – д-р мед. наук, зав. эндоскопическим отделением, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, cheremisinaov@oncology.tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7234-4708>

(✉) **Медведева Анна Александровна**, medvedeva@mail.ru

Поступила в редакцию 04.04.2022;
одобрена после рецензирования 29.04.2022;
принята к публикации 12.05.2022



УДК 613.81-099-036.12-085:547.466:611.127]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-73-80>

Морфологические изменения миокарда крыс после хронической алкогольной интоксикации на фоне лечения новыми производными ГАМК и глутаминовой кислоты

Нестерова А.А.¹, Прокофьев И.И.¹, Перфилова В.Н.¹, Евсюков О.Ю.², Кустова М.В.¹, Тюренков И.Н.¹

¹ Волгоградский государственный медицинский университет (ВолгГМУ)
Россия, 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

² Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение патоморфологических изменений миокарда крыс после хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) на фоне лечения новыми производными глутаминовой кислоты – глюфиметом (соединение РГПУ-238), гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) – соединением РГПУ-260.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на самках крыс линии Wistar, в возрасте 10 мес, разделенных на группы: 1 – intactные самки; 2 – контрольная группа, животные после ХАИ, которая моделировалась заменой питьевой воды на 10%-й раствор этанола в течение 24 нед; 3 и 4 – экспериментальные группы, в которых самкам вводили, соответственно, глюфимет в дозе 28,7 мг/кг и РГПУ-260 в дозе 25 мг/кг внутривентрикулярно, однократно в течение 14 сут после прекращения алкоголизации. Животные группы 5 получали препарат сравнения милдронат в дозе 50 мг/кг в аналогичном с исследуемыми соединениями режиме. Оценивали изменение микроструктурных и морфометрических параметров миокарда левого желудочка с использованием световой микроскопии.

Результаты. У животных после ХАИ выявлены уменьшение объемной доли кардиомиоцитов с увеличением таковой интерстиция и сосудов, а также деструктивные изменения кардиомиоцитов в виде их волнообразной деформации, потери поперечной исчерченности, очагов плазмолиза и фрагментации мышечных волокон. У крыс с терапией глюфиметом после ХАИ структурные изменения мышечных клеток были минимальны, сопровождались незначительным отеком, сосуды менее полнокровны с единичными стазами и сладжами, объемная доля кардиомиоцитов была на 9,7% выше, а интерстиция и сосудов – на 66,0 и 70,0% соответственно ниже. У животных, получавших соединение РГПУ-260 после алкоголизации, отсутствовали выраженные дегенеративные изменения кардиомиоцитов и нарушения микроциркуляции в миокарде аналогично самкам, которым вводили глюфимет. Милдронат оказывал менее выраженное кардиопротекторное действие.

Заключение. Введение животным с моделированной хронической алкогольной интоксикацией новых производных ГАМК и глутаминовой кислоты вызвало улучшение микроструктурных и морфометрических характеристик миокарда по сравнению с контрольными крысами, что свидетельствует о выраженных кардиопротекторных эффектах изучаемых производных нейрoактивных аминокислот.

Ключевые слова: хроническая алкогольная интоксикация, кардиопротекторное действие, производные ГАМК и глутаминовой кислоты

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.

✉ Прокофьев Игорь Игоревич, igor.prokofiev@mail.ru

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено Региональным исследовательским этическим комитетом Волгоградской области (протокол № 2034-2017 от 15.09.2017).

Для цитирования: Нестерова А.А., Прокофьев И.И., Перфилова В.Н., Евсюков О.Ю., Кустова М.В., Тюренков И.Н. Морфологические изменения миокарда крыс после хронической алкогольной интоксикации на фоне лечения новыми производными ГАМК и глутаминовой кислоты. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):73–80. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-73-80>.

Morphological changes in the myocardium of rats with chronic alcohol intoxication after treatment with new GABA- and glutamic acid derivatives

Nesterova A.A.¹, Prokofiev I.I.¹, Perfilova V.N.¹, Evsyukov O.Yu.², Kustova M.V.¹, Tyurenkov I.N.¹

¹ *Volgograd State Medical University (VolgSMU)*

1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russian Federation

² *Pirogov Russian National Research Medical University*

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

ABSTRACT

Aim. To study pathohistological changes in the myocardium of rats with chronic alcohol intoxication (CAI) after treatment with a new glutamic acid derivative glufimet (compound RSPU-238) and a new gamma-aminobutyric acid (GABA) derivative (compound RSPU-260).

Materials and methods. Experiments were performed on female Wistar rats aged 10 months. The rats were divided into the following groups: group 1 – intact females; group 2 – a control group which included animals after CAI simulated by replacing drinking water with 10% ethanol solution for 24 weeks; groups 3 and 4 – experimental groups, in which females were intraperitoneally administered with glufimet at a dose of 28.7 mg / kg and RSPU-260 at a dose of 25 mg / kg once a day for 14 days after cessation of alcohol solution consumption; group 5 – a group of animals receiving a reference listed drug mildronate at a dose of 50 mg / kg according to a regimen similar to that of the studied compounds. Changes in microstructural and morphometric parameters of the left ventricular myocardium were assessed using light microscopy.

Results. In animals after CAI, the cardiomyocyte volume fraction decreased, while the interstitial and vascular volume fractions increased. Degeneration of cardiomyocytes, such as their wave-like deformation, loss of transverse striation, foci of plasmolysis, and fragmentation of muscle fibers were revealed. In rats treated with glufimet, the structural changes in cardiomyocytes were minimal. Lower vascular plethora was observed; blood vessels were characterized by single stasis and sludge. The cardiomyocyte volume fraction was 9.7% greater than in control animals, while the interstitial and vascular volume fractions were 66.0 and 70.0% smaller, respectively. The animals treated with the RSPU-260 compound had no significant degenerative changes in cardiomyocytes and small vessels similar to the experimental animals injected with glufimet. Mildronate had a less pronounced cardioprotective effect.

Conclusion. Administration of new GABA and glutamic acid derivatives to animals with simulated chronic alcohol intoxication leads to improvement of the microstructure in cardiomyocytes compared with control rats. This indicates pronounced cardioprotective effects of the studied neuroactive amino acid derivatives.

Keywords: chronic alcohol intoxication, cardioprotective effect, GABA and glutamic acid derivatives

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 Volgograd Regional Research Ethics Review Committee (Protocol No. 2034-2017 of 15.09.2017).

For citation: Nesterova A.A., Prokofiev I.I., Perfilova V.N., Evsyukov O.Yu., Kustova M.V., Tyurenkov I.N. Morphological changes in the myocardium of rats with chronic alcohol intoxication after treatment with new GABA- and glutamic acid derivatives. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):73–80. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-73-80>.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания, связанные с употреблением алкоголя, остаются одними из самых изучаемых современной медицинской наукой в связи с высокой социальной значимостью. По данным Всемирной организации здравоохранения, употребление алкогольсодержащей продукции является ведущим фактором риска преждевременной смертности и инвалидности среди людей среднего и молодого возраста [1]. В последнее время регистрируется увеличение употребления этилового алкоголя, что связано с особенностями организации жизни общества в условиях пандемии, вызванной новой коронавирусной инфекцией COVID-19 [2].

Последствия употребления алкоголя ассоциированы с многочисленными сердечно-сосудистыми, психоневрологическими, онкологическими заболеваниями, нарушениями работы печени, почек, эндокринных органов [3]. Как показывают многочисленные исследования, наиболее выраженное повреждающее действие этанол оказывает на сердце. Алкогольная кардиомиопатия является наиболее частым осложнением хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) организма и составляет треть всех случаев неишемической кардиомиопатии [4].

Этанол оказывает негативное воздействие на кардиомиоциты (КМЦ), повреждая их мембрану, рецепторы, митохондрии, рибосомы, сарколемму, ДНК и элементы цитоскелета. Это связано с небольшими размерами молекулы этилового спирта, ее высокой реакционной способностью и большим объемом распределения в организме, что вызывает множество патофизиологических эффектов: изменение состава и проницаемости плазматической мембраны, активацию перекисного окисления липидов и стимуляцию апоптоза, нарушение сигнальных механизмов и активности ионных каналов [5]. Этанол влияет на элементы цитоскелета миоцитов, связь коннексонов, десмосомальные контакты, вызывая таким образом структурную нестабильность клеток [6].

Вследствие описанных выше событий происходит набухание и деструкция митохондрий кардио-

миоцитов и развитие энергетического дефицита в клетках сердца. Сопровождающее эти процессы изменение липидного обмена способствует развитию жировой дистрофии миокарда. Нарушения ионного обмена обуславливают фрагментацию миофибрилл. Гипоксия, энергодифицит, электролитный дисбаланс, оксидативный стресс приводят к выраженной атрофии и гибели мышечных клеток, замещению их соединительной тканью [7]. Уменьшение объема сократительных кардиомиоцитов и изменение их миофибриллярной структуры, нарушение связи «возбуждение – сокращение», синтеза сократительных белков вызывают снижение силы сокращения сердца и развитие сердечной недостаточности.

Важно отметить, что в настоящее время принципы лечения алкогольного повреждения миокарда в основном включают метаболическую терапию (милдронат, мексидол и др.), что направлено на лечение уже развившейся сердечной недостаточности. Однако до сих пор отсутствует патогенетическая коррекция морфофункциональных нарушений миокарда. В связи с этим важной остается задача поиска лекарственных средств, оказывающих кардиопротекторное действие в условиях хронической алкогольной интоксикации.

Среди таких средств могут рассматриваться новые производные нейроактивных аминокислот – глутаминовой и гамма-аминомасляной (ГАМК). В ранее проведенных исследованиях было выявлено, что производное глутаминовой кислоты – глүфимет (диметилловый эфир гидрохлорида 3-фенилглүтаминово́й кислоты, соединение с шифром РГПУ-238, рис. 1, *a*) и производное ГАМК – соединение РГПУ-260 (двухкомпонентная композиция гидрохлорида метил-4-амино-3-фенилбутаноата (мефебут) и L-аргинина гидрохлорида в соотношении 1 : 1, рис. 1, *b*) оказывают выраженное кардиопротекторное действие в условиях хронической алкогольной интоксикации, что выражалось в повышении инотропных резервов сердца, улучшении эндотелий-зависимой вазодилатации, снижении интенсивности процессов перекисного окисления липидов, мембраностабилизирующем и антигипоксическом действии [8, 9].

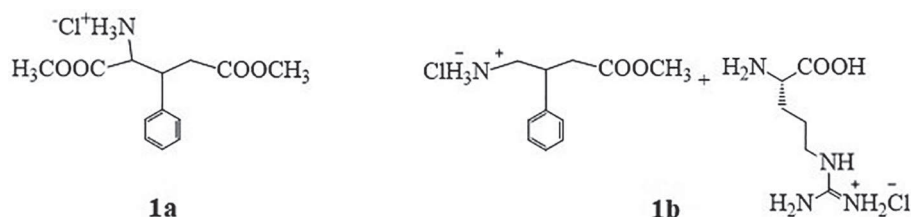


Рис. 1. Структурные формулы: *a* – глүфимета, *b* – соединения РГПУ-260

В связи с этим представлялось необходимым проведение оценки патоморфологических изменений миокарда крыс после хронической алкогольной интоксикации на фоне лечения глүфиметом и соединением РГПУ-260.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были проведены на белых самках крыс линии Wistar, массой 280–320 г, в возрасте 10 мес, полученных из питомника «Столбовая» (Московская обл.). Животных содержали в условиях вивария со свободным доступом к воде и пище, с 12-часовым световым днем согласно рекомендациям национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р-33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», международных рекомендаций «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (1986) и директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Хроническую алкогольную интоксикацию моделировали на протяжении 24 нед путем замены питьевой воды на 10%-й по объему раствор этанола (ЗАО «РФК», Россия), подслащенный сахарозой (50 г/л) [10].

Все крысы были разделены на группы по 7 животных в каждой: 1 – интактные самки, не подвергавшиеся ХАИ; 2 – контрольная группа, в которой алкоголизированные животные получали после отмены алкоголя физиологический раствор (0,1 мл на 100 г веса); 3 и 4 – экспериментальные группы, в которых самкам после ХАИ вводили глүфимет в дозе 28,7 мг/кг и РГПУ-260 в дозе 25 мг/кг соответственно; 5 – группа животных, получавших препарат сравнения милдронат в дозе 50 мг/кг. Глүфимет и соединение РГПУ-260 были синтезированы на кафедре органической химии РГПУ им. А.И. Герцена, г. Санкт-Петербург; милдронат (действующее вещество – мельдоний) использовали в виде готового раствора для инъекций 100 мг/мл (Grindex, Латвия). Физиологический раствор, исследуемые соединения и препарат сравнения вводили внутривентрально, один раз в день, в течение 14 сут, начиная со следующего дня после прекращения ХАИ.

У наркотизированных животных (хлоралгидрат, 400 мг/кг) проводили забор сердца, вырезали блоки миокарда левого желудочка размером 0,5 × 0,8 см с последующей фиксацией в течение 24 ч в 10%-м забуференном нейтральном формалине. После промывки в проточной воде в течение 6 ч биоматериал проводили через серию спиртов возрастающей

концентрации с последующей обработкой в ксилоле и заключением в гистомикс (BioVitrum, Россия). Микротомирование блоков осуществляли ротационным микротомом (ThermoFisher HM340E, США), после чего срезы толщиной 5,0 мкм монтировали на предметные стекла (Thermo scientific, Polysine slides, США). После депарафинизации и проводки через серию спиртов нисходящей концентрации микропрепараты миокарда окрашивали гематоксилином (НПФ «Абрис+», Россия) и 0,5%-м водно-спиртовым раствором эозина (ООО «Labiko», Россия). Покрытие окрашенных срезов осуществляли покровными стеклами с использованием монтирующей среды «Витрогель» (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) [11].

Для морфометрического исследования были использованы оцифрованные микрофотограммы миокарда крыс, обработанные с помощью программного обеспечения MCview (ЛОМО-microsystems, Россия). С целью количественной оценки изменений в срезах определяли объемные доли кардиомиоцитов, сосудов и интерстиция, толщину кардиомиоцитов и площадь их ядер в продольном сечении, а также площадь поперечного сечения кардиомиоцитов на уровне расположения их ядер. Для соблюдения репрезентативности морфометрические измерения проводили в 10 произвольно выбранных полях зрения каждого среза. Качественный анализ микроструктурных изменений включал оценку следующих патогистологических признаков: наличие очагового, мелкоочагового, периваскулярного склероза, атрофии (гипертрофии) отдельных мышечных волокон или их групп, волнообразной деформации кардиомиоцитов, очагов их глыбчатого распада, интерстициальных скоплений лимфоидных и лимфоцититарных инфильтратов, микрогеморрагий, стазов и сладжей в артериолах и венах, неравномерность окраски кардиомиоцитов и их ядер. Патогистологические изменения оценивали полуколичественным методом по системе баллов от 1 до 4 [12].

Статистическую обработку проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики пакета программ Statistica 12,5. Данные были проверены на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка. При парном сравнении применяли *t*-критерий Стьюдента, критерий Ньюмена – Кейлса – при множественном сравнении параметров. Количественные характеристики исследуемых признаков представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение. Достоверными считали различия при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При микроскопическом исследовании миокарда левого желудочка интактных крыс не было выявлено значительных патологических изменений: поперечная исчерченность саркоплазмы мышечных волокон хорошо выражена, ядра со слабым полиморфизмом, располагаются в центральной части кардиомиоцитов, окруженных тонкой прослойкой рыхлой волокнистой соединительной ткани и единичными эритростазами (рис. 2, а).

Хроническая алкогольная интоксикация приводила к значительным дегенеративным изменениям миокарда. Наблюдался периваскулярный и межмышечный отек с умеренной гипертрофией и волнообразной деформацией кардиомиоцитов, потерей их поперечной исчерченности, очагами плазмоллиза и фрагментаций мышечных волокон. Ядра с диффузной гиперхромией, округлой и овальной формы, которые расположены как в центральных, так и периферических отделах цитоплазмы кардиомиоцитов (рис. 2, б). Нарушение микроциркуляции выражалось в виде полнокровия сосудов, стазов и сладжей эритроцитов, петехиальных кровоизлияний. В мышечной ткани определялась выраженная лейкоцитарная инфильтрация. При морфометрическом анализе выявлено увеличение площади поперечного сечения кардиомиоцитов по сравнению с интактными крысами на 9,2% ($p < 0,05$), а также достоверное уменьшение объемной доли кардиомиоцитов наряду с увеличением таковой интерстиция (на 98,0%, $p < 0,05$) и сосудов (на 11,1%) у самок с ХАИ по сравнению со здоровыми животными (таблица).

У животных после хронической алкогольной интоксикации, получавших производное глутаминовой кислоты – глутимет, патоморфологические изменения миокарда были менее выражены по сравнению с контрольной группой крыс (рис. 2, в). Поперечная исчерченность мышечных волокон сохранена, регистрируется отсутствие отека и волнообразной деформации кардиомиоцитов, разделенных тонкой прослойкой рыхлой волокнистой соединительной

ткани, сосуды менее полнокровны, фиксируются незначительные явления стаза и сладжа эритроцитов в микроциркуляторном русле. Средняя площадь поперечного сечения кардиомиоцитов левого желудочка животных данной группы близка к аналогичному показателю интактных крыс и на 9,5% меньше по сравнению с самками контрольной группы ($p < 0,05$) (см. табл.). Также стоит отметить, что лечение глутиметом после ХАИ приводило к увеличению объемной доли кардиомиоцитов на 9,7% ($p < 0,05$) и снижению объемных долей интерстиция и сосудов на 66,0 и 70,0% соответственно ($p < 0,05$). Кроме того, средняя площадь ядер кардиомиоцитов была достоверно выше на 26,2% ($p < 0,05$) относительно таковой самок после ХАИ.

Новое производное ГАМК – соединение РГПУ-260, оказывало выраженные кардиопротекторные эффекты. В миокарде крыс после лечения РГПУ-260 отсутствовали дегенеративные изменения кардиомиоцитов и нарушение микроциркуляции. Наблюдались незначительные петехиальные кровоизлияния и эритростаз (рис. 2, д). Объемная доля интерстиция была на 42,3% ($p < 0,05$) меньше и достоверно увеличена объемная доля кардиомиоцитов по сравнению с контрольной группой.

У животных, получавших препарат сравнения милдронат после 24-недельной алкоголизации, патоморфологические изменения были более выражены, чем в группах, которым вводили изучаемые производные нейроактивных аминокислот (рис. 2, е). При микроскопическом исследовании миокарда наблюдалась атрофия мышечных волокон, что подтверждается данными морфометрического анализа – средняя площадь поперечного сечения кардиомиоцитов меньше на 17,8% по сравнению с крысами после ХАИ и на 10,2% ниже, чем у интактных самок. В сосудах микроциркуляторного русла определялись явления стаза и сладжа эритроцитов, периваскулярно – незначительное количество петехиальных кровоизлияний. Однако удельный объем кардиомиоцитов был достоверно выше, а интерстиция – ниже относительно таковых животных контрольной группы ($p < 0,05$) (см. таблицу).

Таблица

Изменение морфометрических параметров миокарда левого желудочка крыс после ХАИ на фоне лечения новыми производными ГАМК и глутамата, $M \pm SD$						
Группа животных	Площадь поперечного сечения КМЦ, $\mu\text{м}^2$	Площадь ядер КМЦ, $\mu\text{м}^2$	Толщина КМЦ, $\mu\text{м}$	Объемная доля КМЦ, %	Объемная доля сосудов, %	Объемная доля интерстиция, %
Интактная группа	241,4 $\pm$ 11,2	32,1 $\pm$ 2,7	12,8 $\pm$ 1,6	92,4 $\pm$ 1,4	2,7 $\pm$ 1,1	4,9 $\pm$ 0,8
ХАИ + физ. раствор	263,6 $\pm$ 14,3 *	33,6 $\pm$ 1,6	12,5 $\pm$ 1,3	87,3 $\pm$ 1,2 *	3,0 $\pm$ 0,9	9,7 $\pm$ 1,1 *
ХАИ + глутимет	238,5 $\pm$ 9,2 #	42,4 $\pm$ 4,6 #	12,7 $\pm$ 0,9	95,8 $\pm$ 0,9 #	0,9 $\pm$ 0,5 #	3,3 $\pm$ 0,7 #
ХАИ + РГПУ-260	245,3 $\pm$ 13,3 #	30,7 $\pm$ 5,0	11,6 $\pm$ 0,7	92,2 $\pm$ 1,4 #	2,2 $\pm$ 0,9	5,6 $\pm$ 1,1 #
ХАИ + милдронат	216,7 $\pm$ 13,6 #	28,7 $\pm$ 2,3 #	11,1 $\pm$ 1,2 #	92,5 $\pm$ 2,7 #	2,4 $\pm$ 0,6	5,1 $\pm$ 1,1 #

* $p < 0,05$ относительно животных интактной группы (t -критерий Стьюдента);

$p < 0,05$ относительно крыс контрольной группы после ХАИ, получавших физиологический раствор (критерий Ньюмена – Кейлса).

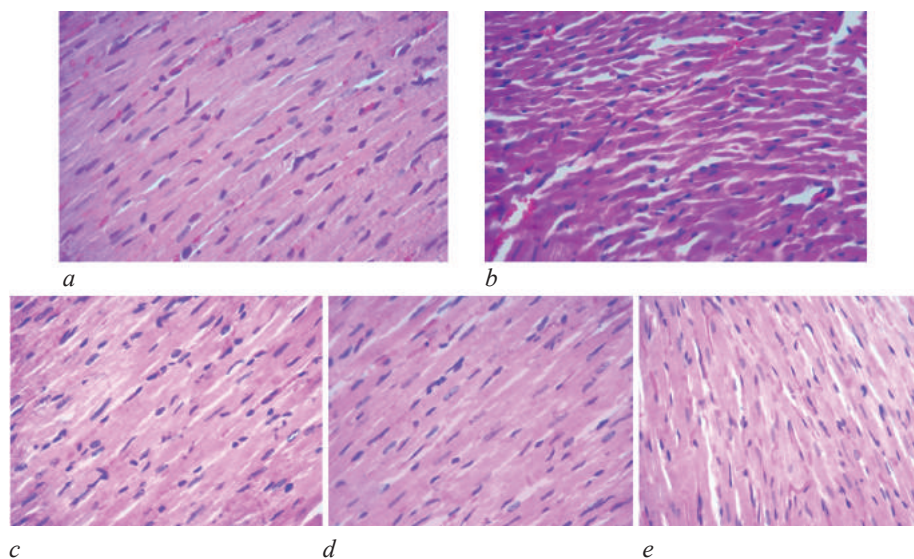


Рис. 2. Микроскопическая картина миокарда левого желудочка: *a* – intactных крыс, *b* – животных контрольной группы после ХАИ, *c* – на фоне лечения глүфиметом, *d* – соединением РГПУ-260, *e* – препаратом сравнения милдронатом; окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

ОБСУЖДЕНИЕ

Замена питьевой воды на 10%-й раствор этанола на протяжении 24 нед приводит к выраженным патоморфологическим изменениям миокарда левого желудочка крыс. Морфометрически выявлено уменьшение объемной доли кардиомиоцитов, свидетельствующее о снижении числа активно функционирующих мышечных клеток с увеличением объемной доли интерстиция за счет пролиферации фибробластов и скопления отечной жидкости периваскулярно и в межмышечных пространствах. Кроме того, были выявлены деструктивные изменения самих мышечных клеток: в контрольной группе животных с хронической алкогольной интоксикацией наблюдались изменения кардиомиоцитов в виде их волнообразной деформации, потери поперечной исчерченности, очагов плазмоллиза и фрагментации мышечных волокон. Этанол реализует свои повреждающие эффекты как путем прямого воздействия на различные клеточные структуры, так и через продукцию активных форм кислорода, нарушение липидного обмена и внутриклеточного гомеостаза кальция [13].

Этиловый спирт оказывает значительное влияние на биофизическую структуру мембран кардиомиоцитов, увеличивая подвижность и проницаемость липидного бислоя. Подобные изменения приводят к нарушению структуры и функции белков, ассоциированных с мембраной, в результате чего нарушаются ее транспортная и сигнальная функции. Этанол легко диффундирует через биомембраны и негативно воздействует на все органеллы кардиомиоцитов, наи-

более воздействуя на митохондрии. Этиловый алкоголь снижает их мембранный потенциал, активность комплексов дыхательной цепи, а также повреждает мтДНК. Описанные изменения способствуют развитию гипоксии и дефициту АТФ в клетке. В подтверждение этому в представленном исследовании показана тенденция к увеличению объемной доли сосудов, которую можно объяснить усиленным ангиогенезом в условиях гипоксии, а также выявлено увеличение площади поперечного сечения кардиомиоцитов, свидетельствующее о компенсаторной гипертрофии миокарда. Кроме того, митохондриальная дисфункция приводит к усиленному образованию свободных радикалов, участвующих в процессе апоптоза кардиомиоцитов [14], вызывающих фрагментацию сократительных белков, дисфункцию саркоплазматического ретикулума [15, 16].

При хронической алкогольной интоксикации изменяется синтез структурных белков КМЦ, снижается сопряжение возбуждения и сокращения [17]. Хроническое употребление алкоголя усиливает экспрессию коллагена I и III типа в миокарде, приводя к фиброзу ткани сердца [18]. Кроме того, этанол индуцирует утечку Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума, а также снижает чувствительность миофиламентов к кальцию [19, 20]. Описанные процессы усугубляют гипоксию, индуцируют развитие жировой дистрофии миокарда, происходит фрагментация миофибрилл, миоцитоллиз, компенсаторная гипертрофия кардиомиоцитов, а также некроз и апоптоз с замещением соединительной тканью. В результате снижается сократительная функция миокарда, раз-

вивается сердечная недостаточность, приводящая к глубокой инвалидизации и летальным исходам.

Введение животным после хронической алкогольной интоксикации нового производного глутаминовой кислоты – глүфимета – ограничивало кардионегативные влияния этанола. У крыс, получавших после ХАИ глүфимет, дегенеративные изменения кардиомиоцитов были минимальны, сопровождались незначительным отеком, сосуды были менее полнокровны с единичными стазами и сладжами. Средняя площадь поперечного сечения КМЦ достоверно ниже таковой у крыс с ХАИ контрольной группы и близка по значению к показателям у интактных самок. Выраженное кардиопротекторное действие глүфимета, вероятно, связано с наличием в его химической структуре фрагментов глутамата и глицина.

Глутаминовая кислота обладает широким спектром метаболических эффектов. Данная аминокислота может улучшать толерантность миокарда к гипоксии вследствие интенсификации анаэробного гликолиза в цитозоле за счет регенерации НАД⁺, участия в малатно-аспартатном челноке и активации функционирования электрон-транспортной цепи в митохондриях. Кроме того, глутамат, вероятно, способствует восстановлению окислительного метаболизма в кардиомиоцитах при гипоксии за счет восполнения промежуточных продуктов цикла Кребса, например α -кетоглутарата [21]. Известно, что глицин участвует в реакциях детоксикации и снижает интенсивность процессов липопероксидации, входя в состав глутатиона – трипептида с выраженной антиоксидантной активностью, а также обладает цитопротекторным и противовоспалительным действием [22].

Новое производное ГАМК – соединение РГПУ-260 – не уступало по эффективности глүфимету. У животных, получавших данное вещество после 24-недельной алкоголизации, отсутствовали выраженные дегенеративные изменения кардиомиоцитов и нарушения микроциркуляции в миокарде. ГАМК, как и глутаминовая кислота, обладает метаболическим действием, являясь предшественником янтарной кислоты (сукцината) – интермедиата цикла Кребса. Помимо этого, увеличение количества сукцината – субстрата второго комплекса цепи переноса электронов в митохондриях, стимулирует АТФ-синтазу и образование АТФ в клетке [23]. В дополнение к улучшению энергообеспечения в кардиомиоцитах, ГАМК ограничивает избыточные симпатические влияния на сердце, сохраняя функциональные резервы миокарда. Соединение РГПУ-260, являясь композицией, содержит в своем составе L-аргинин – субстрат для синтеза оксида азота – биоактивной молекулы, обладающей рядом кардио- и эндотелиопротекторных эффектов.

Милдронат оказывал менее выраженное кардиопротекторное действие. У крыс, получавших препарат сравнения, наблюдалась атрофия мышечных волокон и нарушения со стороны микроциркуляции. Милдронат является цитопротектором, регулирует энергетический обмен посредством снижения синтеза и биологической активности L-карнитина, стимулируя метаболизм глюкозы [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые производные ГАМК и глутаминовой кислоты улучшали микроструктурные и морфометрические характеристики миокарда животных с моделированной хронической алкогольной интоксикацией, что свидетельствует о выраженных кардиопротекторных эффектах изучаемых производных нейроактивных аминокислот. Полученные результаты могут служить основой для дальнейшего исследования и разработки новых лекарственных препаратов на основе изучаемых соединений для оптимизации фармакотерапии заболеваний сердца, ассоциированных с хронической алкогольной интоксикацией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. World Health Organization. Global status report on alcohol and health 2018 [Online]. 2018. URL: https://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/
2. Grossman E.R., Benjamin-Neelon S.E., Sonnenschein S. Alcohol consumption during the COVID-19 Pandemic: a cross-sectional survey of US adults. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020;17(24):9189. DOI: 10.3390/ijerph17249189.
3. Iranpour A., Nakhaee N. A review of alcohol-related harms: a recent update. *Addict. Health*. 2019;11(2):129–137. DOI: 10.22122/ahj.v11i2.225.
4. Day E., Rudd J.H.F. Alcohol use disorders and the heart. *Addiction*. 2019;114(9):1670–1678. DOI: 10.1111/add.14703.
5. Fernández-Solà J. The Effects of ethanol on the heart: alcoholic cardiomyopathy. *Nutrients*. 2020;12(2):572. DOI: 10.3390/nu12020572.
6. Noritake K., Aki T., Funakoshi T., Unuma K., Uemura K. Direct exposure to ethanol disrupts junctional cell-cell contact and hippo-YAP signaling in HL-1 murine atrial cardiomyocytes. *PLoS One*. 2015;10(8):e0136952. DOI: 10.1371/journal.pone.0136952.
7. Paukov V.S., Kirillov Yu.A., Erokhin Yu.A., Chernov I.A. Cardiac and vascular changes in the patho- and morphogenesis of alcohol use disorder. *Cardiovasc. Ther. Prevention*. 2020;19(5):2436. DOI: 10.15829/1728-8800-2020-2436.
8. Perfilova V.N., Kustova M.V., Popova T.A., Khusainova G.H., Prokofiev I.I., Nesterova K.I. et al. Cardioprotective effects of a new glutamic acid derivative in chronic alcohol intoxication. *Alcohol*. 2021;93:1–10. DOI: 10.1016/j.alcohol.2021.01.006.
9. Kustova M.V., Perfilova V.N., Prokofiev I.I., Tyurenkov I.N. Effect of RGPU-260, a novel GABA derivative, on functional reserves of rat heart after chronic alcohol intoxication. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;170(5):631–635. DOI: 10.1007/s10517-021-05121-7.

10. Крыжановский С.А., Цорин И.Б., Колик Л.Г., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Ионова Е.О. и др. Трансляционная модель алкогольной кардиомиопатии. *Молекулярная медицина*. 2015;3:40–47.
11. Mondal S.K. Manual of histological techniques; 2nd ed. Delhi: JP Brothers, 2019: 296.
12. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина, 1990:384.
13. Li S., Korkmaz S., Loganathan S., Weymann A., Radovits T., Barnucz E. et al. Acute ethanol exposure increases the susceptibility of the donor hearts to ischemia/reperfusion injury after transplantation in rats. *PLoS One*. 2012;7(11):e49237. DOI: 10.1371/journal.pone.0049237.
14. Rodriguez A., Chawla K., Umoh N.A., Cousins V.M., Ketegou A., Reddy M.G. et al. Alcohol and apoptosis: friends or foes? *Biomolecules*. 2015;5(4):3193–3203. DOI: 10.3390/biom5043193.
15. Steiner J.L., Lang C.H. Etiology of alcoholic cardiomyopathy: mitochondria, oxidative stress and apoptosis. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2017;89:125–135. DOI: 10.1016/j.biocel.2017.06.009.
16. Piano M.R. Alcohol's effects on the cardiovascular system. *Alcohol Res.* 2017;38(2):219–241.
17. Fernández-Solà J., Porta A.P. New treatment strategies for alcohol-induced heart damage. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17(10):1651. DOI: 10.3390/ijms17101651.
18. McCalister A., Mouton A., Kay Mc., Gardner J. Excess alcohol consumption and cardiac fibrosis. *FASEB Journal*. 2015;29(S1). DOI: 10.1096/fasebj.29.1_supplement.1b604.
19. Mustroph J., Wagemann O., Lebek S., Tarnowski D., Ackermann J., Drzymalski M. et al. SR Ca²⁺-leak and disordered excitation-contraction coupling as the basis for arrhythmogenic and negative inotropic effects of acute ethanol exposure. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2018;116:81–90. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2018.02.002.
20. Alleyne J., Dopico A.M. Alcohol use disorders and their harmful effects on the contractility of skeletal, cardiac and smooth muscles. *Adv. Drug Alcohol. Res.* 2021;1:10011. DOI: 10.3389/adar.2021.10011.
21. Jiang H., Holm J., Vidlund M., Vanky F., Friberg Ö., Yang Y. et al. The impact of glutamate infusion on postoperative NT-proBNP in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a randomized study. *J. Transl. Med.* 2020;18:193. DOI: 10.1186/s12967-020-02351-7.
22. Pérez-Torres I., Zuniga-Munoz A.M., Guarner-Lans V. Beneficial effects of the amino acid glycine. *Mini Rev. Med. Chem.* 2017;17(1):15–32. DOI: 10.2174/1389557516666160609081602.
23. Cavalcanti-de-Albuquerque J.P., de-Souza-Ferreira E., de Carvalho D.P., Galina A. Coupling of GABA metabolism to mitochondrial glucose phosphorylation. *Neurochem Res.* 2022;47(2):470–480. DOI: 10.1007/s11064-021-03463-2.
24. Dambrova M., Makrecka-Kuka M., Vilskersts R., Makarova E., Kuka J., Liepinsh E. Pharmacological effects of meldonium: Biochemical mechanisms and biomarkers of cardiometabolic activity. *Pharmacol. Res.* 2016;113:771–780. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.01.019.

Вклад авторов

Нестерова А.А., Прокофьев И.И. – сбор, обработка, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи. Перфилова В.Н. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных. Евсюков О.Ю. – анализ и интерпретация данных. Кустова М.В. – сбор, обработка и анализ данных. Тюренков И.Н. – разработка концепции и дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации.

Информация об авторах

Нестерова Алла Анатольевна – канд. мед. наук, доцент кафедры теоретической биохимии с курсом клинической биохимии, ВолГМУ, г. Волгоград, aanesterova2013@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7249-3906>

Прокофьев Игорь Игоревич – канд. мед. наук, доцент кафедры судебной медицины, ВолГМУ, г. Волгоград, igor.prokofiev@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7939-8212>

Перфилова Валентина Николаевна – профессор, д-р биол. наук, профессор кафедры фармакологии и фармации, Институт НМФО, ВолГМУ, г. Волгоград, vperfilova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2457-8486>

Евсюков Олег Юрьевич – канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии и клинической патологической анатомии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, evs-ol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4880-7367>

Кустова Маргарита Валерьевна – ассистент, кафедра теоретической биохимии с курсом клинической биохимии, ВолГМУ, г. Волгоград, kustova13@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6287-4120>

Тюренков Иван Николаевич – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, зав. кафедрой фармакологии и фармации, Институт НМФО, ВолГМУ, г. Волгоград, fibfuv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7574-3923>

(✉) Прокофьев Игорь Игоревич, igor.prokofiev@mail.ru

Поступила в редакцию 11.08.2022;
одобрена после рецензирования 06.09.2022;
принята к публикации 08.09.2022

УДК 616.379-008.64-06:616-091.8:611.018.4-616-008.9-07

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-81-87>

Искусственные нейронные сети в прогнозировании нарушений метаболизма костной ткани при сахарном диабете

Сафарова С.С.

Азербайджанский медицинский университет

Азербайджан, Az1000, г. Баку, ул. А. Гасымзаде, 14

РЕЗЮМЕ

По мере роста заболеваемости сахарным диабетом, и учитывая существенные социально-экономические последствия, которые влекут за собой низко травматические переломы, возникает необходимость в коррекции стандартов диагностики и сведении к минимуму риска медицинских ошибок, что позволит снизить затраты и добиться лучших результатов в лечении данной категории больных.

Цель: оценка диагностических возможностей метода, основанного на применении искусственной нейронной сети (ИНС) в качестве инструмента прогнозирования изменений процессов репаративного остеогенеза при сахарном диабете.

Материалы и методы. Выборка была сформирована в ходе исследования 235 пациентов с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа и 82 лиц контрольной группы (всего 317 человек). Далее набор полученных данных был обработан программным обеспечением MATLAB для построения ИНС с обучающим (80%) и тестовым (20%) набором. Модель ИНС обучалась путем оптимизации взаимосвязи между набором входных данных (показатели: пол, возраст, индекс массы тела, длительность диабета и т.д.) с набором соответствующих выходных данных (переменных, отражающих состояние костного метаболизма: минеральную плотность кости, маркеры костного ремоделирования).

Результаты. Базируемый на ИНС алгоритм с высокой точностью способен спрогнозировать значения показателей метаболизма костной ткани обследованных пациентов, сгенерировав выходные данные с помощью глубокого обучения. Процесс машинного обучения повторялся до тех пор, пока не минимизировалась ошибка для всех переменных. Точность валидационного теста для прогнозирования изменения костного метаболизма на основе данных пациентов составила 92,86%.

Заключение. Применение аппарата искусственных нейронных сетей позволило сконструировать вспомогательный инструмент для стратификации пациентов с сахарным диабетом, имеющих нарушения репаративного остеогенеза, что может помочь сократить затраты на обследование, ускорить диагностику за счет быстрого процесса обработки данных и скорректировать процесс лечения данной категории пациентов.

Ключевые слова: сахарный диабет, остеопатия, нейронные сети

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

Источники финансирования. Автор заявляет об отсутствии финансирования исследования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информационное согласие на участие в клиническом исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Азербайджанского медицинского университета (протокол № 02/14 от 12.10.2016).

Для цитирования: Сафарова С.С. Искусственные нейронные сети в прогнозировании нарушений метаболизма костной ткани при сахарном диабете. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):81–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-81-87>.

Artificial neural networks in predicting impaired bone metabolism in diabetes mellitus

Safarova S.S.

*Azerbaijan Medical University
14, A. Gasymzade Str., Baku, Az1000, Azerbaijan*

ABSTRACT

Growing incidence of diabetes mellitus (DM), given significant socioeconomic consequences that low-trauma fractures entail, determines a need to improve diagnostic standards and minimize the risk of medical errors, which will reduce costs and contribute to better treatment outcomes in this category of patients.

Aim. To assess diagnostic capabilities of the method based on the use of an artificial neural network (ANN) for predicting changes in reparative osteogenesis in diabetes mellitus.

Materials and methods. A single-center, one-stage, cross-sectional study included 235 patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and 82 persons of the control group (the total of 317 patients). Further, the obtained data were processed using the MATLAB software to develop an ANN with a training (80%) and test (20%) set. The ANN model was trained by optimizing the relationship between a set of input data (a number of clinical and laboratory parameters: gender, age, body mass index, duration of diabetes mellitus, etc.) and a set of corresponding output data (variables reflecting the state of bone metabolism: bone mineral density, markers of bone remodeling).

Results. The ANN-based algorithm predicted estimated values of bone metabolism parameters in the examined individuals by generating output data using deep learning. Machine learning was repeated until the error was minimized for all variables. The accuracy of the validation test to predict changes in bone metabolism based on patient data was 92.86%.

Conclusion. The developed ANN-based method made it possible to design an auxiliary tool for stratification of patients with changes in bone metabolism in diabetes mellitus, which will help reduce healthcare costs, speed up the diagnosis due to fast data processing, and customize treatment for this category of patients.

Keywords: diabetes mellitus, osteopathy, neural networks

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 author states that she 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 Azerbaijan Medical University (Protocol No. 02/14 of 12.10.2016).

For citation: Safarova S.S. Artificial neural networks in predicting impaired bone metabolism in diabetes mellitus. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):81–87. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-81-87>.

ВВЕДЕНИЕ

По мере роста заболеваемости сахарным диабетом, и учитывая существенные социально-экономические последствия, которые влекут за собой низко травматические переломы, возникает необходимость в улучшении стандартов диагностики и сведении к минимуму риска медицинских ошибок, что позволит снизить затраты и добиться лучших результатов в лечении данной категории больных. Метаданные указывают на более высокую распространенность

костных переломов при сахарном диабете (СД) 1-го и 2-го типа, чем в общей когорте обследуемых [1–3]. Методы, обычно используемые для диагностики костных изменений при сахарном диабете, включают анализ гормонального и электролитного гомеостаза, костных маркеров и двухэнергетическую рентгеновскую абсорбциометрию (DXA). Все данные методы обладают некоторыми ограничениями, кроме того диагностика осложняется особенностями патогенеза СД и усугубляется нарушением заживления переломов [4].

Традиционно методы диагностики можно свести к минимуму с помощью методов интеллектуального анализа данных, применяемых для выявления и анализа скрытой информации внутри данных для лучшего прогнозирования результатов, ускорения и персонификации процессов диагностики костных изменений при диабете. Эти методы включают искусственный интеллект, статистику, машинное обучение и визуализацию [5].

Ввиду эффективности применяемых в клинической диагностике систем поддержки принятия решений (СППР) на базе искусственных нейронных сетей (ИНС) последние становятся все более востребованным инструментарием для разработки индивидуальных подходов диагностики и прогнозирования ряда заболеваний и создания оптимальной тактики лечения за счет более точного и быстрого анализа сложных взаимодействующих процессов в организме [1, 5]. Тем не менее ИНС никогда не применялась в прогнозировании риска переломов при СД на основе рутинных клинико-лабораторных анализов.

Целью исследования являлась оценка диагностических возможностей метода, основанного на применении ИНС в качестве инструмента прогнозирования изменений процессов репаративного остеогенеза при сахарном диабете.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выборка была сформирована в ходе одноцентрового, одномоментного, поперечного исследования 235 пациентов с СД 1-го и 2-го типа и 82 лиц контрольной группы. Исследование проводили в 2015–2017 гг. на базе отделения эндокринологии Учебно-терапевтической клиники при Азербайджанском медицинском университете. Оценка интересующих показателей проводилась однократно.

Критерии исключения: переломы в анамнезе, лечение остеопороза, а также другие эндокринопатии, недиабетические заболевания печени и почек, наличие терминальной диабетической нефропатии (IV–V стадии).

У всех пациентов были указаны пол, возраст, длительность диабета, измерены индекс массы тела (ИМТ) и минеральная плотность кости (МПК) по

Т- и Z-критерию в люмбальном отделе позвоночника (T-SD L1-4; Z-SD L1-4) и шейке бедренной кости (T-SD ШБ; Z-SD ШБ) методом двухэнергетической рентгеноабсорбциометрии (DXA). Определено содержание гликозилированного гемоглобина (HbA1c), сывороточных маркеров репаративного остеогенеза (щелочная фосфатаза (ALP), аминотерминальный пропептид проколлагена I типа (PINP) и C-терминальный телопептид (b-CTX)), паратирин (ПТГ), кальцитонина (КТ), витамина D₃, инсулина. Измерены индекс НОМА-IR (НОМА-IR), скорость клубочковой фильтрации (СКФ), альбумин. Установлен ионный баланс крови: кальций общий (tCa) и ионизированный (Ca²⁺), фосфор (P⁺), магний (Mg²⁺), калий (K⁺), натрий (Na⁺).

Статистический анализ. На основе предшествующего клинико-лабораторного исследования был разработан подход к прогнозированию и оценке состояния костной ткани при сахарном диабете на основе ИНС. Данные были собраны у лиц с СД 1-го и 2-го типа и обработаны вариационно-математическими методами статистического анализа с применением программы BioStatPro 6.2.2.0. Далее набор полученных данных был обработан программным обеспечением MATLAB (Attaway, 2022). Обучающий и тестовый набор используемых данных был сохранен на уровне 80 и 20% соответственно с последующей проверкой и нормализацией. Модель ИНС обучалась путем оптимизации взаимосвязи между набором входных данных (показатели: пол, возраст, ИМТ, длительность диабета, HbA1c и т.д.) с набором соответствующих выходных данных (переменных, отражающих состояние костного метаболизма: минеральную плотность кости, маркеры костного ремоделирования). Точность валидационного теста для прогнозирования изменения метаболизма костной ткани, применительно к данным, на которых проводилось обучение, составила 92,86%.

Разработка набора данных. Проведенное исследование является одноцентровым поперечным, включало результаты обследования 98 пациентов с СД 1-го типа, 137 пациентов с СД 2-го типа. Группа контроля состояла из 82 лиц. Характеристики всех 317 пациентов приведены в таблице.

Таблица

Клинические характеристики пациентов, M (95-% ДИ)			
Параметр	Группа с СД1, n = 98	Группа с СД2, n = 137	Контрольная группа, n = 82
Возраст, лет	55,8 (54,4–57,3)	58,4 (57,3–59,5)	55,9 (54,2–57,7)
Пол муж./жен.	41/57	52/85	39/43
ИМТ, кг/м ²	26,1 (25,6–26,5)	30,0 (29,4–30,6)	28,7 (27,9–29,5)
Длительность СД, лет	16,6 (15,4–17,8)	8,1 (7,2–8,8)	–

Окончание табл.

Параметр	Группа с СД1, $n = 98$	Группа с СД2, $n = 137$	Контрольная группа, $n = 82$
HbA1c, %	7,4 (7,1–7,8)	7,5 (7,2–7,8)	4,9 (4,7–5,0)
С-пептид, нг/мл	–	4,3 (1,64–7,4)	3,7 (3,1–4,7)
НОМА-IR	–	8,6 (7,5–9,6)	2,8 (2,4–3,1)
tCa, мг/дл	9,3 (9,1–9,5)	9,4 (9,3–9,5)	9,5 (9,4–9,7)
Ca ²⁺ , ммоль/л	1,09 (1,07–1,11)	1,07 (1,04–1,08)	1,13 (1,11–1,15)
P ⁺ , мг/дл	5,4 (5,2–5,6)	5,0 (4,8–5,2)	5,1 (4,9–5,2)
Mg ²⁺ , мг/дл	1,52 (0,69–2,45)	1,54 (1,45–1,63)	1,75 (1,61–1,89)
K ⁺ , мг/дл	4,4 (3,1–5,9)	4,3 (4,1–4,4)	4,3 (4,1–4,5)
Na ⁺ , ммоль/л	142,2 (140,6–143,8)	140,9 (139,6–142,3)	138,5 (137,2–139,6)
Креатинин, мг/дл	0,85 (0,81–0,89)	0,79 (0,76–0,82)	0,75 (0,72–0,78)
СКФ, мл/мин на 1,73 м ²	86,7 (83,1–90,4)	88,5 (85,4–91,5)	95,2 (91,8–98,6)
Альбумин, г/дл	4,2 (4,1–4,3)	4,3 (4,1–4,4)	4,5 (4,3–4,6)
ПТГ, пг/дл	51,16 (47,17–55,13)	51,69 (48,82–54,56)	45,09 (40,38–49,79)
Витамин D ₃ , нг/мл	24,09 (21,32–26,86)	25,12 (22,98–27,28)	30,41 (26,95–33,86)
КТ, пг/мл	12,07 (9,75–14,38)	10,23 (8,84–11,62)	5,5 (4,19–6,84)
ALP, Ед/л	118,3 (110,1–126,4)	122,2 (116,2–128,1)	123,5 (113,8–133,2)
PINP, нг/мл	40,58 (37,18–43,98)	42,08 (39,81–44,35)	47,09 (42,82–51,35)
b-CTX, нг/мл	0,525 (0,468–0,582)	0,495 (0,456–0,533)	0,424 (0,383–0,466)
Т-критерий (T-SD L1–L4)	–1,4 (–2,2; –0,9)	–1,08 (–1,3; –0,8)	–0,73 (–1,1; –0,3)
Т-критерий (T-SD ШБ)	–1,15 (–1,9; –0,7)	–1,12 (–1,3; –0,8)	–0,64 (–1,0; –0,2)

В настоящем исследовании была смоделирована ИНС, где входными данными сети являлись показатели: возраст, пол, вес, рост, ИМТ, длительность СД, длительность менопаузы, глюкоза крови, HbA1c, альбумин, креатинин, инсулин, С-пептид, индекс НОМА-

IR, tCa, Ca²⁺, P⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺, СКФ, ПТГ, КТ, витамин D₃, а выходом ИНС считались показатели: ALP, PINP, b-CTX, T-SD L1-4, Z-SD L1-4. Входное значение преобразовано в выходное в соответствии с активированными функциями, показанными на рис. 1.

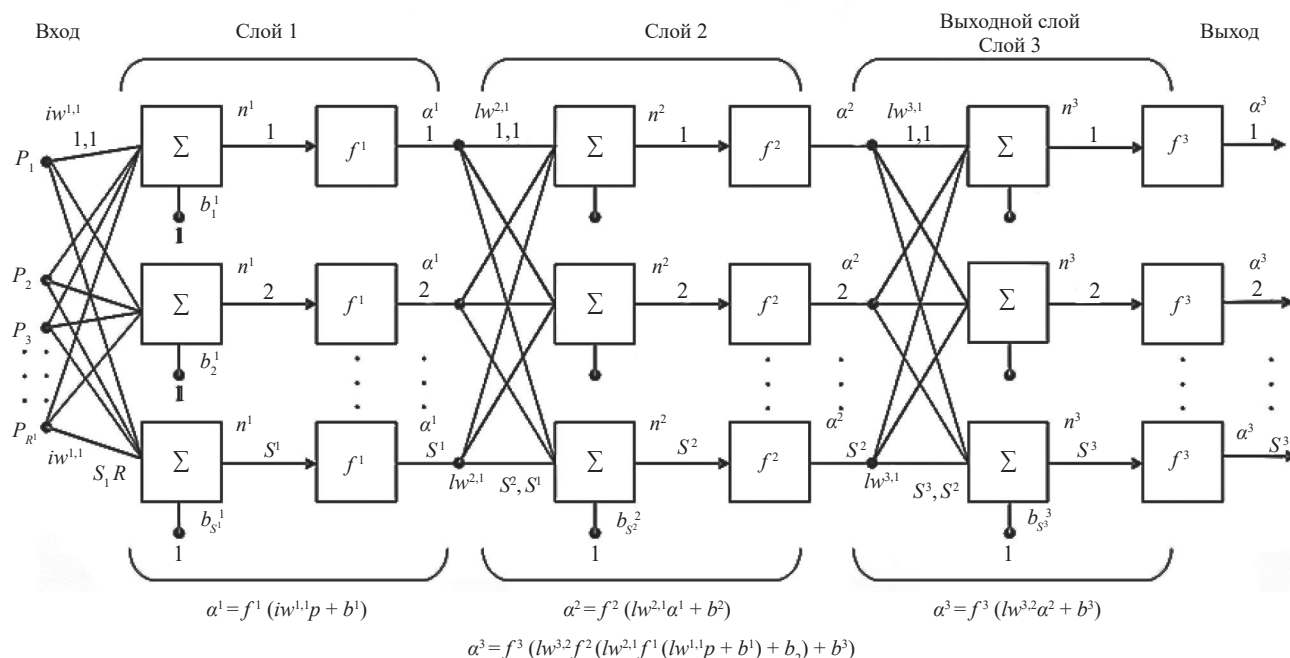


Рис. 1. Многослойная нейронная сеть

Представленный подход построения самообучающейся системы прогнозирования с применением ИНС для интеллектуальной СППР по скринингу состояния репаративного остеогенеза при СД, включал

следующие шаги: постановку задачи, подготовку входных данных, дробление данных на обучающие и тестовые наборы, выстраивание и обучение ИНС, заключающееся в определении модели многослойного

персептрона (MLP), формировании схемы подачи обучающей выборки, обуславливающей входной набор параметров и соответствующие им нейроны выходных сигналов, а также доучивание и в случае надобности перепроектирование на базе оценивания адекватности диагностирования. Осуществлялось нормирование элементов входных сигналов сети (с диапазоном от -1 до 1), где на входной синапс вместо величины переменной выводился ее эквивалент, пересчитанный по формуле

$$NX_i(t) = \frac{X_i(t) - X_i^{\min}}{X_i^{\max} - X_i^{\min}},$$

где $X_i(t)$ – исходный сигнал, $NX_i(t)$ – получаемый нормированный сигнал, $X_i^{\min}$ и $X_i^{\max}$ – соответственно минимальное и максимальное значения интервала входных параметров в поле, подаваемом на синапс i .

Для обучения ИНС использован байесовский регуляризационный алгоритм (Bayesian Regularization (trainer)). Алгоритм обучения с обратным распространением был основан на алгоритмах поиска по градиентному спуску, которые позволяют изменять вес корреляции для оптимизации модели. Тестовый

набор использовался для проверочного оценивания в конце каждого этапа обучения и тестирования в конце обучения, чтобы получить представление о том, насколько хорошо модель усвоила задачу. Первичное обучение модели проводилось на данных лабораторно-инструментального обследования 317 пациентов, указанных выше (см. табл.). После реализации указанных выше этапов приступали к последнему этапу моделирования ИНС – прогнозированию следующих параметров: биомаркеров репаративного остеогенеза, МПК, позволяющих производить раннюю диагностику нарушений процессов репаративного остеогенеза при СД, т.е. показателей, используемых для мониторингирования диагностических процессов.

Практическая реализация нейросетевой модели развития риска остеопоротических изменений в костной ткани при сахарном диабете. Построение ИНС осуществлялось с использованием MATLAB (Attaway, 2022) [6], для удобства пользования клиницистами был разработан визуальный интерфейс с помощью инструмента GUIDE, показанный на рис. 2.

The screenshot shows a software window titled 'modelGUI'. It is divided into two main sections: 'INPUTS' and 'OUTPUTS'. The 'INPUTS' section contains two columns of input fields. The first column lists various clinical parameters: sex, age, weight, height, BMI, DM, Menopaus, Glukoza, HbA1c, Album, Xolesterol, Kreatinin, Insulin, C_pep, and HOMA_IR. The second column lists laboratory parameters: tCa, iCa, P, Mg, K, Na, GFR, PTH, CT, and VitD3. Each parameter has a corresponding numerical input field. The 'OUTPUTS' section displays the calculated results for six parameters: ALP, P1NP, bCTX, T_L1_4, and Z_L1_4, each with a numerical value. At the bottom right of the interface is a 'Predict' button.

INPUTS		OUTPUTS	
sex	1	tCa	9.5
age	42	iCa	1.11
weight	89	P	6.2
height	176	Mg	1.55
BMI	28.7	K	3.1
DM	12	Na	144
Menopaus	0	GFR	107
Glukoza	13.8	PTH	45
HbA1c	8.2	CT	7
Album	4.2	VitD3	17.4
Xolesterol	283		
Kreatinin	0.89		
Insulin	3.4		
C_pep	0.6		
HOMA_IR	6		
		ALP	204.4865
		P1NP	75.3808
		bCTX	0.40841
		T_L1_4	-0.97737
		Z_L1_4	-1.4717

Рис. 2. Пример расчета, проводимого нейронной сетью

РЕЗУЛЬТАТЫ

При СД 1-го типа биохимические маркеры костного ремоделирования и рентгеновская абсорбциометрия являются информативными показателями,

отражающими состояние костного метаболизма. Биомаркеры костного ремоделирования могут иметь большую значимость в отдельных случаях, для оценки состояния костной ткани, когда измерение МПК недостаточно информативно, в частности, на начальных

этапах СД 2-го типа, данные приведены в табл. В связи с текущей ситуацией мы применили ИНС к данным пациентов, чтобы определить точность прогнозов. Были проанализированы данные обследования 317 пациентов, из которых 80 и 20% использовались в качестве обучающих и тестовых наборов соответственно. Была создана модель СППР на основе ИНС для прогнозирования состояния репаративного остеогенеза у конкретного больного диабетом и следующих данных: длительность диабета, уровень HbA_{1c}, витамина D₃ и пр. В процессе разработки СППР в настройки модели были внесены некоторые поправки, повышающие ее адекватность. Последующее до-

обучение обеспечивалось в процессе практической эксплуатации. Процесс обучения продолжался до минимизации ошибки во всех переменных и оставался с начала возрастания ошибки в контрольном образце. Точность валидационного теста для прогнозирования изменения метаболизма костной ткани, применительно к данным, на которых проводилось обучение, составила 92,86%.

Основанный на ИНС алгоритм с высокой точностью спрогнозировал значения показателей костного метаболизма обследованных, сгенерировав выходные данные с помощью реализации скрытого уровня (рис. 3).

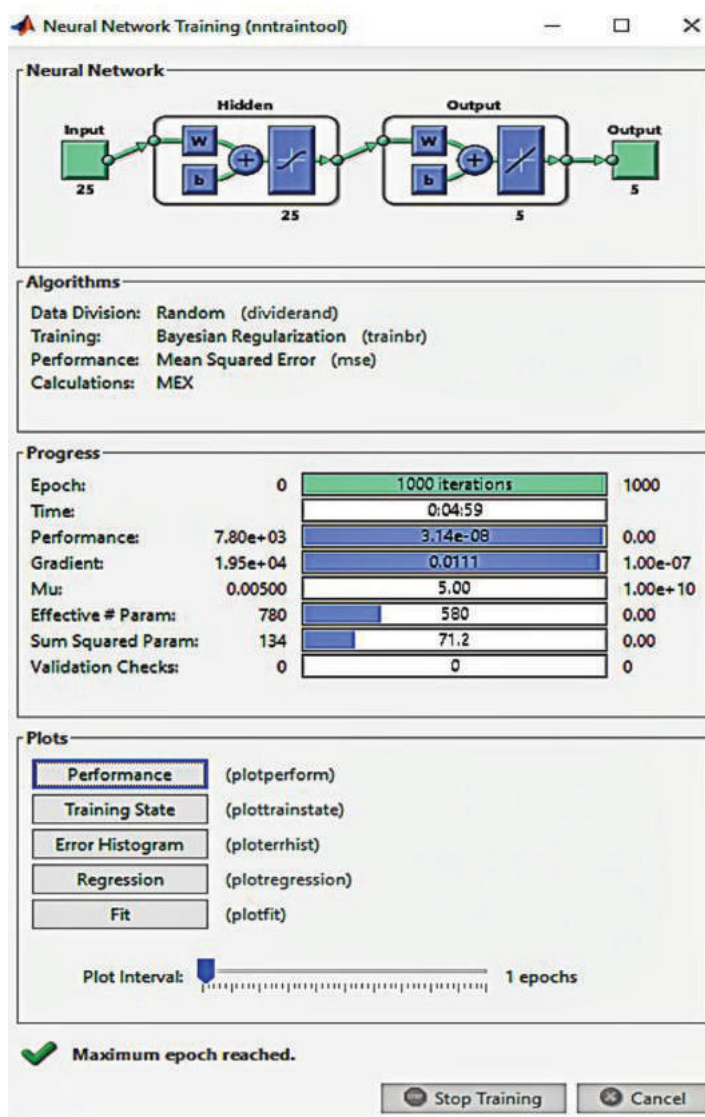


Рис. 3. Схема работы нейронной сети

Итоги анализа продемонстрировали результативность разработанной методики на основе построения интеллектуальной СППР в выявлении

взаимосвязей между параметрами репаративного остеогенеза и группой показателей, связанных с сахарным диабетом.

ОБСУЖДЕНИЕ

Метаболические нарушения, вызванные СД, могут отрицательно влиять МПК, увеличивая вероятность низкотравматических переломов, исходом которых может стать инвалидность или летальный исход [1, 2]. Прогнозирование риска переломов при сахарном диабете является более сложной задачей, поскольку метод DXA и калькулятор риска переломов FRAX недооценивают риск переломов у лиц с диабетом из-за более высокой МПК [4]. В данных условиях маркеры репаративного остеогенеза могут показать качественное состояние костной ткани. Однако высокая затратность данных методов и низкая оснащенность надлежащим оборудованием в регионах могут затруднить процесс ранней диагностики. Решение данного вопроса возможно с помощью внедрения передовых вычислительных технологий, которые возможно интегрировать в диагностику и прогнозирование изменений репаративного остеогенеза. При этом надо помнить, что в каждом отдельном случае врач имеет дело с патологическим процессом с индивидуальными особенностями, как с известными, так и неизвестными [1]. Использование методов искусственного интеллекта выявляет их широкие возможности и высокую эффективность в установлении связей между данными клинических, инструментальных исследований и симптоматикой заболевания в комплексе, что позволяет считать подобные системы практическим инструментом для врача при анализе и обработке комплексных клинических данных.

Результативность применения математического аппарата ИНС в клинической практике обоснована широким спектром их возможностей в прогнозировании на базе обработки больших, взаимосвязанных, мультипараметрических массивов медицинских данных, что позволяет исключить необходимость дорогостоящей диагностики и избежать выбора ошибочной методики лечения [1, 7]. Смоделированные в этом исследовании алгоритмы классификации и кластеризации данных с использованием ИНС показали

эффективность и с хорошую способность спрогнозировать наличие или отсутствие риска низкотравматических переломов при сахарном диабете.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение аппарата искусственных нейронных сетей позволило сконструировать вспомогательный инструмент для стратификации пациентов с сахарным диабетом, имеющих нарушения репаративного остеогенеза, что может помочь сократить затраты на обследование, ускорить диагностику за счет быстрого процесса обработки данных и скорректировать процесс лечения данной категории пациентов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Li H.J., Wen Y.H., Liu P.P., Zhang L., Zhang X., Liu Y. et al. Characteristics of bone metabolism in postmenopausal women with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Clinical Endocrinology*. 2021;95(3):430–438. DOI: 10.1111/cen.14501.
2. Никитина К.И., Абрамова Т.Ф., Никитина Т.М. Минеральная плотность костной ткани и показатели костного ремоделирования у спортсменов высокой квалификации на этапах годичного цикла подготовки. *Человек. Спорт. Медицина*. 2019;19(4):43–49. DOI: 10.14529/hsm190406.
3. Prozorova N., Fadeev R., Weber V., Chibisova M., Robakidze N., Prozorova I. et al. Evaluating optical density of alveolar bone in patients with diabetes mellitus using cone-beam computed tomography. *Archiv. Euromedica*. 2021;11(2):108–117. DOI: 10.35630/2199-885X/2021/11/2/28.
4. Kim M., Bak J., Kim S., Son H., Kang S.-S., Hue J. et al. Effect of lumbar epidural steroid injections on osteoporotic fracture and bone mineral density in elderly women with diabetes mellitus. *Pain Research and Management*. 2020;2020:1538029:1–7. DOI: 10.1155/2020/1538029.
5. Ibrahim F., Thio T.H., Faisal T., Neuman M. The application of biomedical engineering techniques to the diagnosis and management of tropical diseases: a review. *Sensors (Basel)*. 2015;15(3):6947–6995. DOI: 10.3390/s150306947.
6. MathWorks. MATLAB (Attaway, 2022). URL: www.mathworks.com
7. Yoon A.P., Chung K.C. Application of deep learning: detection of obsolete scaphoid fractures with artificial neural networks. *Journal of Hand Surgery (European Volume)*. 2021;46(8):914–916. DOI: 10.1177/17531934211026139.

Информация об авторе

Сафарова Саин Сагтар – д-р мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней II, Азербайджанский медицинский университет, г. Баку, Азербайджан, sainsafarova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7131-3878>

(✉) **Сафарова Саин Сагтар**, sainsafarova@gmail.com

Поступила в редакцию 12.04.2022;
одобрена после рецензирования 26.04.2022;
принята к публикации 12.05.2022

УДК 618.19-006.6:616.155.32
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-88-95>

Субпопуляции В-лимфоцитов у больных раком молочной железы в зависимости от статуса PD-L1

Таширева Л.А., Калинин А.Ю., Геращенко Т.С., Савельева О.Е., Перельмутер В.М.

Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить, насколько функциональные потенции и степень зрелости В-лимфоцитов сопряжены со статусом экспрессии PD-L1 опухоли у больных раком молочной железы.

Материалы и методы. В исследование вошли 37 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа (ИКНТ). Статус PD-L1 определялся иммуногистохимическим тестом Ventana SP142 (Roche, США). С использованием методов мультиплексной проточной цитофлуориметрии и высокопроизводительного секвенирования микроокружения были определены субпопуляции В-лимфоцитов, их профиль экспрессии CD27 и PD1 с учетом статуса PD-L1 опухоли.

Результаты. В микроокружении опухоли у пациентов независимо от статуса PD-L1 определяются экспрессионные сигнатуры пяти субпопуляций лимфоцитов. Однако у больных с позитивным статусом в микроокружении первичной опухоли уровни В-лимфоцитов и В-лимфоцитов с переключаемым классом Ig выше по сравнению с пациентами, имеющими негативный статус PD-L1. Оценка количества различных субпопуляций В-лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии показала, что у больных с PD-L1-позитивным статусом опухоли в микроокружении преобладают PD-1-позитивные В-лимфоциты независимо от степени их зрелости.

Заключение. Результаты исследования показывают преобладание зрелых коммитированных В-лимфоцитов и В-лимфоцитов памяти, способных к синтезу иммуноглобулинов разных классов и цитокинов, относящихся к спектру иммуновоспалительных реакций Th2 типа в микроокружении PD-L1-позитивных опухолей. Это может являться неблагоприятным признаком при планировании иммунотерапии анти-PD-L1 ингибиторами, поскольку с высокой вероятностью ее применение может активировать клетки микроокружения с проопухолевыми потенциями, что в конечном итоге будет способствовать прогрессии карцином.

Ключевые слова: рак молочной железы, микроокружение, В-лимфоциты, PD-L1

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

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 20-75-10033).

Соответствие принципам этики. Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 7 от 25.08.2020).

Для цитирования: Таширева Л.А., Калинин А.Ю., Геращенко Т.С., Савельева О.Е., Перельмутер В.М. Субпопуляции В-лимфоцитов у больных раком молочной железы в зависимости от статуса PD-L1. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):88–95. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-88-95>.

Subpopulations of B lymphocytes in patients with breast cancer depending on the PD-L1 status

Tashireva L.A., Kalinchuk A.Yu., Gerashchenko T.S., Savelyeva O.E., Perelmuter V.M.

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the association between the functional potency and degree of maturity of B lymphocytes and PD-L1 expression in breast cancer patients.

Materials and methods. The study included 37 patients with the morphologically verified diagnosis of invasive breast cancer of no special type (IBC NST). The PD-L1 status was determined immunohistochemically using the Ventana SP142 assay (Roche, USA). Using the multiplex flow cytometry-based assay and high-throughput sequencing of the tumor microenvironment, subpopulations of B lymphocytes and their CD27 and PD1 expression profiles were determined, taking into account the PD-L1 status.

Results. In the tumor microenvironment, regardless of the PD-L1 status, expression signatures of five lymphocyte subpopulations were determined. However, in PD-L1-positive patients, the levels of B lymphocytes and immunoglobulin class-switched B lymphocytes were higher compared with PD-L1-negative patients. Evaluation of the number of different B lymphocyte subpopulations by flow cytometry showed that PD-L1-positive B lymphocytes predominated in the tumor microenvironment in PD-L1-positive patients, regardless of the degree of lymphocyte maturity.

Conclusion. The results of the study showed predominance of mature committed B lymphocytes and memory B lymphocytes capable of synthesizing immunoglobulins of different classes and Th2 cytokines involved in type 2 immune response in PD-L1-positive tumor microenvironment. It suggests that immunotherapy with PD-L1 inhibitors is highly likely to activate cells with protumor potential and can ultimately contribute to breast cancer progression.

Keywords: breast cancer, tumor microenvironment, B lymphocytes, PD-L1

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 supported by the Russian Science Foundation (project No. 20-75-10033).

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 Cancer Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 7 of 25.08.2020).

For citation: Tashireva L.A., Kalinchuk A.Yu., Gerashchenko T.S., Savelyeva O.E., Perelmuter V.M. Subpopulations of B lymphocytes in patients with breast cancer depending on the PD-L1 status. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):88–95. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-88-95>.

ВВЕДЕНИЕ

Прошрое десятилетие было ознаменовано началом активного применения нового класса иммунотерапевтических препаратов – ингибиторов контрольных иммунных точек (ИКИТ), препаратов, блокирующих PD-1/PD-L1-зависимый механизм супрессии иммунного ответа в опухоли. У врачей химиотерапевтов появлялись новые опции, а у пациентов – года жизни. Однако результаты анализа соотношения показаний к назначению и пользы от применения данных препаратов в когорте американских пациентов ярко продемонстрировали рост показаний, но должного роста эффективности не

отмечалось [1]. Более того, оценка эффективности терапии ИКИТ свидетельствует, что продолжительный ответ действительно отмечается только у части пациентов. Другая часть пациентов в лучшем случае имеют стабилизацию процесса, в худшем – прогрессию и гиперпрогрессию [2].

Известно, что тип иммунновоспалительной реакции в микроокружении рака молочной железы может определять ответ на терапию, течение заболевания и прогноз. Однако на сегодняшний день, несмотря на многочисленные исследования, нет приемлемых предикторов ответа на ИКИТ кроме оценки экспрессии PD-L1 и наличия дефицита MMR [3].

Роль В-лимфоцитов в опухоли довольно противоречива. Хорошо известно, что В-лимфоциты способствуют опухолевой прогрессии. Это показано, в частности, при раке яичника человека [4]. Будучи одним из клеточных элементов иммуновоспалительных реакций Th2 типа, В-лимфоциты являются источником соответствующих цитокинов, которые снижают противоопухолевый ответ [5]. В-лимфоциты, синтезируя трансформирующий фактор роста (TGF) β и интерлейкин (IL) 10, могут способствовать дифференцировке и рекрутированию Т-регуляторных лимфоцитов, вследствие чего в опухоли усиливается иммуносупрессорное микроокружение и стимулируется метастазирование рака молочной железы [6]. Противоопухолевые антитела, синтезируемые плазматическими клетками – потомками В-лимфоцитов, могут активировать макрофаги и способствовать инвазивному росту опухоли и ангиогенезу [7].

Однако текущие данные свидетельствуют о том, что инфильтрирующие опухоль В-клетки являются благоприятным прогностическим маркером при раке молочной железы [8]. Кроме того, имеются наблюдения, свидетельствующие о противоопухолевых эффектах субпопуляции В-лимфоцитов с фенотипом CD27 клеток памяти. Наличие в микроокружении таких клеток вместе с CD8⁺ Т-лимфоцитами ассоциировано с благоприятным прогнозом при раке яичников [9]. Известно, что наличие в опухоли В-лимфоцитов в составе третичных лимфоидных структур связано с более благоприятным течением опухолевой болезни [10]. Относительно значения экспрессии PD1 на В-лимфоцитах известно, что это скорее признак зрелости и меньшей способности к пролиферации и переключения класса изотипа антител [11]. Таким образом, в контексте иммунотерапии большое значение имеют проопухолевые или противоопухолевые функциональные характеристики В-лимфоцитов. Важно понять, насколько функциональные потенции и степень зрелости В-лимфоцитов сопряжены со статусом экспрессии PD-L1 и наличием рецептора PD1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 37 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа (ИКНТ). Средний возраст составил $52,7 \pm 9,3$ лет, проходивших лечение на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ с эстроген-позитивным (люминальными А и В-1, -2) и трижды негативным подтипами ($T_{1-3}N_{0-3}M_0$). Пациенты не получали неоадьювантную химиотерапию до хирургического этапа

лечения. Свежие образцы первичной опухоли были получены в ходе оперативного вмешательства, затем хранились при температуре -80°C . Исследование выполнено в соответствии с этическими стандартами (Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правила клинической практики в Российской Федерации», утвержденные Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266). Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 7 от 25.08.2020).

Оценка плотности опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) в первичной опухоли. Плотность TILs в первичной опухоли проводили согласно рекомендациям Международной рабочей группы по оценке опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов [12]. Для этого репрезентативный образец опухоли окрашивали гематоксилином и эозином в соответствии со стандартной операционной процедурой. Далее проводили подсчет доли стромы, занимаемой мононуклеарными лейкоцитами (AxioScoreA1 (Carl Zeiss, Германия)). Зоны с артефактами, зоны некроза и выраженного гиалиноза были исключены из оценки. Количество выражали в процентах от занимаемой площади стромы.

Определение статуса PD-L1. Оценка экспрессии PD-L1 проводилась с помощью теста PD-L1 (SP142, Ventana) в иммуноштейнере BenchMark ULTRA. Оценивали окрашивание инфильтрирующих опухоль иммунных клеток (IC) – иммунных клеток, присутствующих в интратуморальной и прилегающей перитуморальной строме. В это понятие включались лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки и полиморфно-ядерные лейкоциты. IC оценивали как долю области опухоли, которую занимают иммунные клетки с окрашиванием PD-L1 любой интенсивности. В качестве контроля использовалась ткань миндалин человека. Тест считался положительным при значении $IC \geq 1\%$.

Проточная цитофлуориметрия. В качестве материала исследования использовали свежемороженные образцы первичной опухоли. Для получения суспензии клеток первичной опухоли ее фрагмент помещали в Medicon (50 мкм, BD Biosciences) и гомогенизировали в 1 мл фосфатно-солевого буфера (BD Biosciences) в течение 1 мин дважды. Затем полученную суспензию фильтровали через сеточки для разделения клеток (70 мкм, Falcon, Япония). Далее клетки дважды отмывали и ресуспендиро-

вали в 100 мкл Stain buffer (Sony Biotechnology) и окрашивали коктейлем моноклональных антител: BV570-анти-CD45 (клон HI30, мышинные IgG1, Sony Biotechnology, Япония), PerCP/Cy5.5-анти-CD3 (клон UCHT1, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония), APC/Cy7-анти-CD20 (клон 2H7, Mouse IgG2b, Sony Biotechnology, Япония), BV785-анти-CD27 (клон O323, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония), BV510-анти-CD28 (клон CD28.2, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония), BV605-анти-CD279 (PD-1) (клон EH12.2H7, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония), BV421-анти-CD274 (PD-L1) (клон MIH3, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония) и AF647-анти-CD326 (EPCAM) (клон 9C4, Mouse IgG2b, Sony Biotechnology, Япония). Использовали неокрашенный и изотипический контроль. В соответствующий изотипический контроль добавляли изотипические антитела в аналогичной концентрации. Анализ проводили на проточном цитометре NovoCyte 3000 (ACEA Biosciences, Agilent, США). Гейтирование популяций клеток проводили на основе определения параметров малого углового светорассеяния (FSC) и бокового светорассеяния (SSC). Затем клетки анализировали на наличие флуоресценции в режимах Density Plot и Dot Plot. Количество клеток представляли в виде доли от всех лимфоцитов.

Секвенирование микроокружения опухолевых клеток первичной опухоли. Были взяты образцы замороженной опухоли восьми пациентов (PD-L1 негативный статус – четыре пациента, PD-L1 позитивный статус – четыре пациента). Готовились срезы толщиной семь микрон на предметные стекла PEN-frame (Carl Zeiss, Oberkochen, Германия), предварительно обработанные RNAsap (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США) и окрашивались гематоксилином и эозином. Микродиссекция с лазерным захватом (PALM, Carl Zeiss, Oberkochen, Германия) использовалась для выделения клеток из микроокружения опухоли. Из каждой опухоли было выделено четыре образца прилегающей к опухолевым клеткам фрагментов стромы. Всего было собрано 32 образца. Выделение РНК проводили с помощью набора Single Cell RNA Purification Kit (Norgen, Канада). кДНК-библиотеки готовили с помощью набора SMARTER Stranded Total RNA-Seq kit v. 2 (Takara, США). Размер кДНК-библиотек оценивался с помощью набора HS D1000 ScreenTape и станции автоматического гель-электрофореза 2200 Tape Station (Agilent, США) и варьировал от 200 до 700 п.н., средний размер пика 340 п.н.

Концентрация кДНК-библиотек оценивалась с помощью флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher

Scientific, США) и варьировала от 2,5 до 14 нг/мкл в зависимости от количества клеток в микродиссектированных образцах. Образцы кДНК-библиотек пулировали, денатурировали и секвенировали на приборе NextSeq 500 (Illumina, США) в режиме одноконцового прочтения 75 циклов. Количество кластеров составляло 220 К/мм² (93% кластеров после фильтрации), количество прочтений ~ 12 млн на образец. Биоинформатический анализ включал картирование прочтений (ридов) с помощью программы STAR (референс-геномная сборка GRCh38 и аннотация GENCODE.R27). Количество ридов в кодирующих и некодирующих участках генома в каждом из образцов оценивалось с помощью инструмента featureCounts. Определение типа клеток в микроокружении проводилось с помощью алгоритма xCell [13]. Данные секвенирования опубликованы в базе GEO (номер GSE184196).

Статистический анализ. Сравнение категориальных признаков проводили с помощью точного критерия Фишера. Различия независимых количественных признаков оценивали с помощью критерия Манна – Уитни. Все критерии были двухсторонними и принимались значимыми при уровне $p < 0,05$. Анализ был выполнен в программе GraphPad Prism 9.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика пациентов. Среди всех включенных в исследование пациентов у 54% (20/37) опухоль была PD-L1 позитивной, у 46% (17/37) – негативной. Клинико-патологические характеристики двух групп пациентов были сопоставимы. Преобладали пациенты старше 50 лет, в состоянии менопаузы, с размером опухоли 20–50 мм, стадией процесса ПА, 2-й степени злокачественности, люминального В-подтипа.

Экспрессионные сигнатуры В-лимфоцитов в микроокружении РМЖ. xCell анализ позволяет определить сигнатуры пяти форм В-лимфоцитов. В микроокружении опухоли у пациентов независимо от статуса PD-L1 определялись сигнатуры всех пяти субпопуляций лимфоцитов (рис. 1).

Уровни субпопуляций В-лимфоцитов в пределах групп исследования были не равны (таблица). Так, у больных с негативным статусом PD-L1 уровень наивных В-лимфоцитов был меньше по сравнению с уровнем В-лимфоцитов и В-лимфоцитов памяти. У больных с позитивным статусом PD-L1 уровни В-лимфоцитов различались выраженнее. Так, преобладающими являлись две субпопуляции: В-лимфоциты и В-лимфоциты с переключаемым классом Ig.

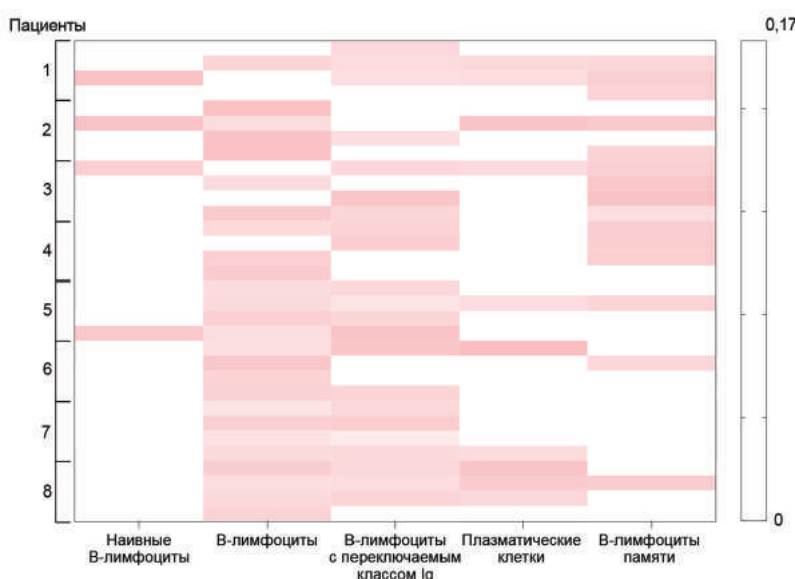


Рис. 1. Тепловая карта сигнатур субпопуляций В-лимфоцитов в микроокружении первичной опухоли у пациентов с РМЖ, $Me(Q_1-Q_3)$

Таблица

Количество клеток в микроокружении первичной опухоли больных ИКНТ в зависимости от статуса PD-L1 по данным xCell анализа, усл. ед., $Me(Q_1-Q_3)$				
Тип клеток		Статус PD-L1		p (межгрупповая)
		негативный	позитивный	
Наивные В-лимфоциты	а	0,0000 (0,0000–0,0001) $p(a-b) = 0,0075$ $p(a-d) = 0,0323$	0,0000 (0,0000–0,0001) $p(a-b) < 0,0001$ $p(a-v) < 0,0001$	0,7876
В-лимфоциты	б	0,0092 (0,0000–0,0362)	0,0530 (0,0299–0,0713) $p(b-r) < 0,0001$ $p(b-d) < 0,0001$	0,0001
В-лимфоциты с переключаемым классом Ig	в	0,0168 (0,0000–0,0482)	0,0388 (0,0107–0,0506) $p(b-r) = 0,0005$ $p(b-d) < 0,0001$	0,0490
Плазматические клетки	г	0,0001 (0,0000–0,0087)	0,0008 (0,0000–0,0159)	0,9170
В-лимфоциты памяти	д	0,0213 (0,0046–0,0310)	0,0000 (0,0000–0,0029)	0,0847

Сравнение уровней В-лимфоцитов между группами пациентов в зависимости от их статуса PD-L1 позволило обнаружить, что у больных с позитивным статусом в микроокружении первичной

опухоли уровни В-лимфоцитов и В-лимфоцитов с переключаемым классом Ig выше по сравнению с пациентами, имеющими негативный статус PD-L1 (рис. 2).

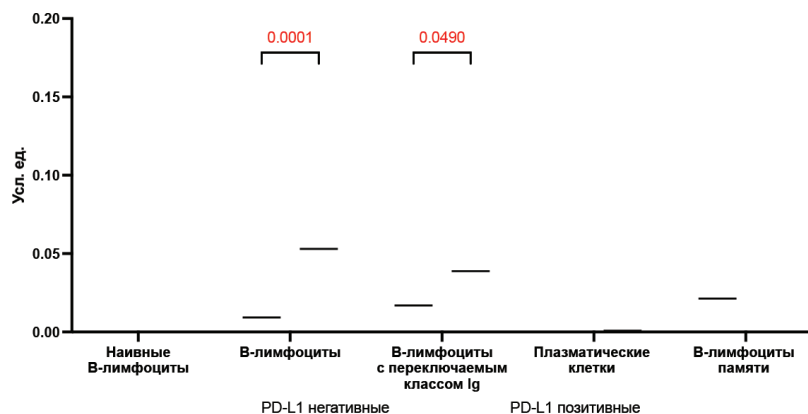


Рис. 2. Уровень субпопуляций В-лимфоцитов в группах пациентов с негативным и позитивным статусом PD-L1

Оценка степени зрелости В-лимфоцитов и экспрессии PD1. Как и при транскриптомном анализе, у всех пациентов в микроокружении первичной опу-

холи мы обнаружили В-лимфоциты. Вариабельность определяемого популяционного состава представлен на рис. 3.

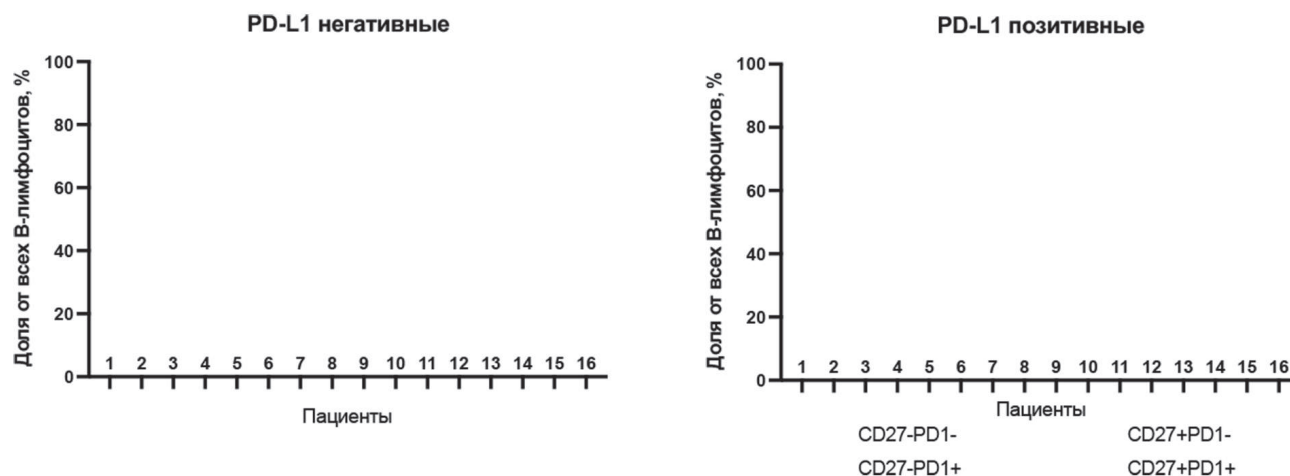


Рис. 3. Внутриперсональная гетерогенность субпопуляционного состава В-лимфоцитов в группах пациентов с негативным и позитивным статусом PD-L1

Оценка экспрессии CD27 (маркера зрелости лимфоцитов) и PD1 (функциональной молекулы – рецептора для PD-L1) показала, что среди В-лимфоцитов в ткани первичной опухоли у всех пациентов независимо от статуса PD-L1 в первичной опухоли не встречаются CD27+PD1- В-лимфоциты. Наиболее редко встречались CD27-PD1- В-лимфоциты (у 12,5% (2/16) пациентов обеих групп).

С сопоставимой частотой при этом в ткани первичной опухоли обнаруживались CD27+PD1+ и CD27-PD1+ В-лимфоциты (81,2% (13/16) и 81,2% (13/16), $p > 0,9999$). Оценка количества различных субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов в

зависимости от их статуса PD-L1 показала, что у больных с PD-L1-позитивным статусом опухоли в микроокружении преобладали PD-1-позитивные В-лимфоциты независимо от степени зрелости (рис. 4).

Количество CD27+PD1+ В-лимфоцитов у пациентов с негативным статусом PD-L1 составляло 0,09 (0,00–0,89) против 1,67 (0,61–3,22)% у пациентов с позитивным статусом ($p = 0,0233$). Количество CD27-PD1+ В-лимфоцитов равнялось 0,05 (0,00–1,53)% у пациентов с негативным статусом PD-L1 и 1,41 (0,25–7,23)% у пациентов с позитивным статусом ($p = 0,0016$).

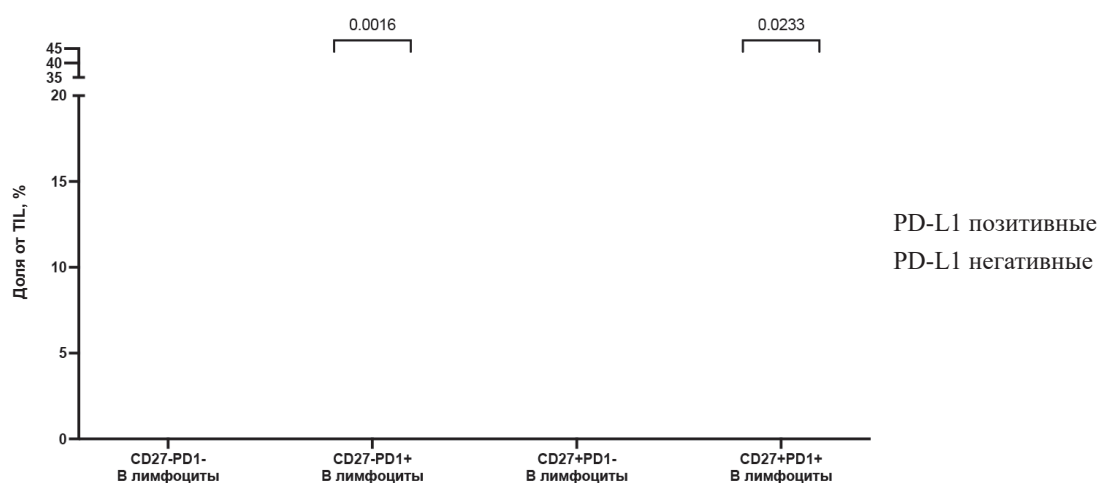


Рис. 4. Количество В-лимфоцитов с различным сочетанием экспрессии CD27 и PD1 у пациентов в зависимости от статуса PD-L1

ОБСУЖДЕНИЕ

Воспалительная инфильтрация в микроокружении карцином отражает совокупность иммунных реакций врожденного типа и специфических эффекторных иммунных реакций множества адаптивных иммуногенозов на разнообразные антигены: опухолевые, тканевые и антигены патогенов, контаминирующих опухолевую ткань. Соотношение этих составляющих иммуновоспалительных реакций в микроокружении индивидуально в каждом случае. В-лимфоциты являются ключевым звеном в антителогенезе, источником цитокинов, относящихся к цитокиновому спектру «противовоспалительного» («проопухолевого») иммуногеноза по Th2 типу. Соответственно этому, влияние В-клеточного звена иммунного ответа на опухолевые элементы возможно благодаря синтезу специфических к опухолевым антигенам антител. При этом эффект зависит от типа иммуноглобулинов. Теоретически возможны как антителозависимые цитотоксические реакции с участием гранулоцитов и макрофагов, так и «маскировка» антигенов опухоли антителами, препятствующая цитотоксическим эффектам CD8⁺ Т-лимфоцитов. Вторым механизмом влияния на опухолевые клетки – цитокиновый. Причем независимо от специфичности В-лимфоцитов к опухолевому или неопухолевому антигену активация таких клеток соответствующим антигеном вызывает секрецию цитокинов Th2 спектра с эффектами, способствующими прогрессии карцином: эпителиально-мезенхимальному переходу, инвазии, ангиогенезу и, в конечном итоге, метастазированию.

Результаты нашего исследования позволили оценить наличие и активность В-лимфоцитов на разных стадиях функциональной дифференцировки от наивных В-лимфоцитов, В-лимфоцитов с переключаемым классом Ig до В-лимфоцитов памяти. Главные результаты исследования: 1) В-лимфоциты экспрессируют PD1 и PD-L1, 2) количество дифференцированных форм В-лимфоцитов зависит от статуса PD-L1. Количество В-лимфоцитов с переключаемым классом Ig и В-лимфоцитов памяти больше при экспрессии в инфильтрате опухоли PD-L1. Причем среди CD27⁺ В-лимфоцитов отсутствуют клетки без экспрессии PD1. Эти результаты означают, что активно участвующие в антителогенезе В-лимфоциты (со способностью к переключению с ранних IgM на IgG, IgA или IgE иммуноглобулины), а также В-лимфоциты памяти (с потенцией к развитию вторичных иммунных реакций на повторно воздействующие антигены), вероятнее, заблокированы через PD1/PD-L1 путь. Этот феномен соответствует нормально протекающему

воспалению, когда наблюдается усиление экспрессии PD-L1 на разных клетках в очагах воспаления [5]. Это предотвращает неспецифическое повреждение тканей, на территории которых протекают воспалительные реакции, и обеспечивает избирательную локальную активацию В-лимфоцитов при блокаде лиганда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показывают преобладание зрелых коммитированных В-лимфоцитов и В-лимфоцитов памяти, способных к синтезу иммуноглобулинов разных классов и цитокинов, относящихся к спектру ИВР Th2 типа в микроокружении PD-L1-позитивных опухолей. Это может являться неблагоприятным признаком при планировании иммунотерапии анти-PD-L1 ингибиторами, поскольку с высокой вероятностью ее применение может активировать клетки микроокружения с проопухолевыми потенциями, что в конечном итоге будет способствовать прогрессии карцином.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Haslam A., Prasad V. Estimation of the percentage of US patients with cancer who are eligible for and respond to checkpoint inhibitor immunotherapy drugs. *JAMA Netw. Open.* 2019;2(5):e192535. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.2535.
2. Adashek J.J., Subbiah I.M., Matos I., Garralda E., Menta A.K., Ganesan D.M. et al. Hyperprogression and Immunotherapy: fact, fiction, or alternative fact? *Trends Cancer.* 2020;6(3):181–191. DOI: 10.1016/j.trecan.2020.01.005.
3. Tray N., Weber J.S., Adams S. Predictive biomarkers for checkpoint immunotherapy: current status and challenges for clinical application. *Cancer Immunol. Res.* 2018;6(10):1122–1128. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0214.
4. Dong H.P., Elstrand M.B., Holth A., Silins I., Berner A., Trope C.G. et al. NK- and B-cell infiltration correlates with worse outcome in metastatic ovarian carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2006;125(3):451–458.
5. Tan T.T., Coussens LM. Humoral immunity, inflammation and cancer. *Curr. Opin. Immunol.* 2007;19(2):209–216. DOI: 10.1016/j.coi.2007.01.001.
6. Olkhanud P.B., Damdinsuren B., Bodogai M., Gress R.E., Sen R., Wejksza K. et al. Tumor-evoked regulatory B cells promote breast cancer metastasis by converting resting CD4⁺ T cells to T-regulatory cells. *Cancer Res.* 2011;71(10):3505–3515. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4316.
7. Barbera-Guillem E., Nelson M.B., Barr B., Nyhus J.K., May K.F. Jr., Feng L. et al. B lymphocyte pathology in human colorectal cancer. Experimental and clinical therapeutic effects of partial B cell depletion. *Cancer Immunol. Immunother.* 2000;48(10):541–549. DOI: 10.1007/pl00006672.
8. Qin Y., Peng F., Ai L., Mu S., Li Y., Yang C. et al. Tumor-infiltrating B cells as a favorable prognostic biomarker in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2021;21(1):310. DOI: 10.1186/s12935-021-02004-9.

9. Nielsen J.S., Sahota R.A., Milne K., Kost S.E., Nessler N.J., Watson P.H. et al. CD20+ tumor-infiltrating lymphocytes have an atypical CD27- memory phenotype and together with CD8+ T cells promote favorable prognosis in ovarian cancer. *Clin. Cancer Res.* 2012;18(12):3281–3292. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0234.
10. Germain C., Gnjjatic S., Tamzalit F., Knockaert S., Remark R., Goc J. et al. Presence of B cells in tertiary lymphoid structures is associated with a protective immunity in patients with lung cancer. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014;189(7):832–844. DOI: 10.1164/rccm.201309-1611OC.
11. Nishimura H., Minato N., Nakano T., Honjo T. Immunological studies on PD-1 deficient mice: implication of PD-1 as a negative regulator for B cell responses. *Int. Immunol.* 1998;10(10):1563–1572. DOI: 10.1093/intimm/10.10.1563.
12. Dieci M.V., Radosevic-Robin N., Fineberg S., van den Eynden G., Ternes N., Penault-Llorca F. et al. International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: A report of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin. Cancer Biol.* 2018;52(Pt2):16–25. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.10.003.
13. Aran D. Cell-type enrichment analysis of bulk transcriptomes using xCell. *Methods Mol. Biol.* 2020;2120:263–276. DOI: 10.1007/978-1-0716-0327-7_19.

Вклад авторов

Таширева Л.А. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация результатов, написание рукописи. Калинин А.Ю., Герашенко Т.С., Савельева О.Е. – проведение исследования. Перельмутер В.М. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Таширева Любовь Александровна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, tashireva@oncology.tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2061-8417>

Калинчук Анна Юрьевна – лаборант-исследователь, отделение общей и молекулярной патологии, Томский НИМЦ, г. Томск, anya98.tomsk@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2106-3513>

Герашенко Татьяна Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория опухолевой прогрессии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, t_gerashenko@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7283-0092>

Савельева Ольга Евгеньевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, olga_chechina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0301-8455>

Перельмутер Владимир Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, гл. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, pvm@ngs.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7633-9620>

(✉) **Таширева Любовь Александровна**, tashireva@oncology.tomsk.ru

Поступила в редакцию 09.03.2022;
одобрена после рецензирования 17.03.2022;
принята к публикации 12.05.2022

УДК 57.08:549.731.13:62-492.2-022.532
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-96-102>

Десятилетняя стабильность нанопорошка магнетита, приготовленного методом электровзрыва проводников: полезное свойство для экологической безопасности и биомедицинского использования?

Хлусов И.А.¹, Омелянчик А.С.², Родионова В.В.², Шуплецова В.В.²,
Хазиахматова О.Г.², Юрова К.А.², Литвинова Л.С.², Норкин И.К.²

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634055, г. Томск, Московский тракт, 2

² Балтийский федеральный университет (БФУ) им. И. Канта
Россия, 236016, г. Калининград, ул. А. Невского, 14

РЕЗЮМЕ

Цель. Провести анализ структурных, магнитных и цитотоксических свойств наночастиц магнетита (МНЧ), приготовленных методом электровзрыва проводников и хранящихся в защищенном от света месте при комнатной температуре (влажность $65 \pm 15\%$, атмосферное давление 760 ± 20 мм рт. ст., температура 22 ± 4 °C) в течение 10 лет.

Материалы и методы. Свойства МНЧ изучали с помощью рентгеноструктурного анализа (РСА), просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) с исследованием электронной дифракции на выбранной области (SAED) и магнитометрии с вибрирующим образцом (VSM). Жизнеспособность мононуклеарных лейкоцитов крови человека определяли окрашиванием 0,4%-м раствором трипанового синего после 24-часового сокультивирования с нанопорошком.

Результаты. Расчетный размер частиц практически не изменился после 10 лет хранения. Картины электронной и рентгеновской дифракции показали, что кристаллическая природа сохранялась в течение 10 лет. Диаметр кристаллической части МНЧ, определяемый, как область когерентного рассеивания рентгеновского излучения ($D_{\text{ОКР}}$) был близок к размеру частиц, определенному с помощью ПЭМ ($D_{\text{ТЕМ}}$), что свидетельствует об их высокой кристалличности. Намагниченность насыщения (M_s) для порошка МНЧ после 10 лет хранения оказалась неожиданно выше, чем для свежеприготовленного порошка МНЧ. Приведенная остаточная намагниченность (M_r/M_s) была одинаковой в пределах погрешности измерений для обоих образцов. При длительном исследовании *in vitro* цитотоксическое влияние МНЧ не установлено.

Заключение. Кардинальные изменения структурных, магнитных свойств МНЧ после 10-летнего хранения не обнаружены. Сделан вывод о 10-летней стабильности электровзрывного нанопорошка магнетита, которая может быть полезна в плане его экологической безопасности и биомедицинских приложений.

Ключевые слова: наночастицы магнетита, комнатные условия, стабильность нанопорошка, лейкоциты крови человека, цитотоксичность *in vitro*

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Сибирского государственного медицинского университета в рамках Программы стратегического академического лидерства «Приоритет – 2030».

✉ Хлусов Игорь Альбертович, khlovov63@mail.ru
Омелянчик Александр Сергеевич, asomelyanchik@kantiana.ru

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Инновационного парка Балтийского федерального университета им. И. Канта (заключение № 2 от 06.03.2017).

Для цитирования: Хлусов И.А., Омелянчик А.С., Родионова В.В., Шуплецова В.В., Хазиахматова О.Г., Юрова К.А., Литвинова Л.С., Норкин И.К. Десятилетняя стабильность нанопорошка магнетита, приготовленного методом электровзрыва проводников: полезное свойство для экологической безопасности и биомедицинского использования? *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):96–102. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-96-102>.

10-year stability of magnetite nanopowder prepared by the exploding wire method: is it a useful feature for environment safety and biomedical applications?

Khlusov I.A.¹, Omelyanchik A.S.², Rodionova V.V.², Shupletsova V.V.²,
Khaziakhmatova O. G.², Yurova K.A.², Litvinova L.S.², Norkin I.K.²

¹ *Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

² *Immanuel Kant Baltic Federal University
14, Nevskogo Str., Kaliningrad, 236016, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To analyze the structural, magnetic, and cytotoxic features of magnetite nanoparticles (MNPs) prepared by the exploding wire method and stored in a dark place at ambient temperature ($65 \pm 15\%$ humidity, air pressure 760 ± 20 mm Hg., temperature 22 ± 4 °C) for 10 years.

Materials and methods. The properties of MNPs were analyzed by X-ray diffraction (XRD), transmission electron microscopy (TEM) and selected area electron diffraction (SAED), and vibrating-sample magnetometer (VSM). Viability of human blood mononuclear leukocytes was determined using 0.4% trypan blue staining after 24-hour culture with the nanopowder.

Results. The calculated size of the particles remained almost unchanged after 10 years of storage. The XRD and SAED patterns showed that crystallinity was preserved for 10 years. The diameter of the crystalline component of MNPs (D_{XRD}) was close to the particle size determined by TEM. It confirms high crystallinity of the tested nanoparticles. Saturation magnetization (M_s) of the MNP powder after 10 years of storage was unexpectedly higher than that of the as-prepared MNP powder. Reduced remanent magnetization (M_r / M_s) was equal for both samples within the margin of error. No cytotoxic effect of MNPs *in vitro* was detected in the long-term study.

Conclusion. No dramatic changes in the structural, magnetic, and cytotoxic features of MNPs were noted after 10 years of storage. It indicated 10-year stability of MNP powder that may be a useful feature for environment safety and biomedical applications.

Keywords: magnetite nanoparticles, ambient conditions, nanopowder stability, human blood mononuclear leukocytes, *in vitro* cytotoxicity

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 supported by Siberian State Medical University development program Priority 2030.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Innovation Park, Kant Baltic Federal University (Protocol No. 2 of 06.03.2017).

For citation: Khlusov I.A., Omelyanchik A.S., Rodionova V.V., Shupletsova V.V., Khaziakhmatova O.G., Yurova K.A., Litvinova L.S., Norkin I.K. 10-year stability of magnetite nanopowder prepared by the exploding wire method: is it a useful feature for environment safety and biomedical applications?». *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):96–102. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-96-102>.

ВВЕДЕНИЕ

С 1989 г. около 100 наномедицинских приложений и продуктов были одобрены FDA США и вышли на мировой рынок. С 2010 г. внимание к разработке наномедицинских препаратов и количество продаваемых наномедицинских препаратов значительно увеличились благодаря полученным преимуществам для системы здравоохранения [1, 2]. Магнитные наночастицы вызывают интерес благодаря своим уникальным магнитным свойствам и широко применяются в различных областях, таких как наномедицина, инженерия, сельское хозяйство, энергетика и восстановление окружающей среды [3].

Магнитные наночастицы представляют собой класс материалов с уникальными физико-химическими свойствами, которые могут воздействовать на окружающую среду [4] и биологические системы; в связи с этим необходимо определить, какие опасности и риски могут возникать. Оценка риска имеет ключевое значение для формулировки рекомендаций по воздействию и безопасности [5]. Циркуляция нанохимических агентов в промышленности, окружающей среде и среди потребителей, а также их отходы и время хранения имеют решающее значение для понимания баланса эффективности и безопасности нанотехнологий.

В этом контексте следует уделить больше внимания проблемам долгосрочной стабильности наночастиц магнитного оксида железа *ex vivo*, поскольку наноразмерный магнетит (Fe_3O_4) окисляется до маггемита ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) в условиях окружающей среды. Однако, продолжительность этого процесса не описана. Работ о старении наночастиц магнетита очень мало, например, в одной из них показано, что процесс занимает 18 мес в водной суспензии [6]. Нами были проанализированы структурные, магнитные и цитотоксические свойства наночастиц магнетита (МНЧ), полученных методом электровзрыва проводников и хранившихся в темном месте (влажность $65 \pm 15\%$, давление воздуха 760 ± 20 мм рт.ст., комнатная температура (22 ± 4 °C)) в течение 10 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нанопорошок был получен В.С. Седым (Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск, Россия) методом электровзрыва проводников (ЭП) в 2007 г. Подробная методология и экспериментальная установка, используемые в настоящем исследовании для структурной и магнитной оценки, описаны ранее [7, 8]. Метод ЭП позволяет получать наночастицы различного состава, в том числе металлического железа ($\alpha\text{-Fe}$) и его оксидов с хорошей кристалличес-

костью, о чем свидетельствует высокое значение намагниченности насыщения полученных наночастиц [9].

Кристаллическую структуру и фазовый состав образцов исследовали методом рентгеноструктурного анализа (РСА). Морфологию и микроструктуру определяли с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) с изучением дифракции электронов на выбранной области (SAED). Магнитные свойства исследовали на вибрационном магнитометре (VSM) при комнатной температуре (295 K) в диапазоне поля 1,1 Тл.

Тестирование цитотоксичности МНЧ *in vitro* проводили на мононуклеарных лейкоцитах крови человека (МНК), полученных из венозной крови здоровых доноров (разрешение № 948 от 09.02.2009; локальный этический комитет СибГМУ; разрешение № 5 от 16.05.2016; локальный этический комитет БФУ им. И. Канта) [10].

Асептическая феррожидкость МНЧ в изотоническом (0,9%) растворе NaCl (30 мг/л, pH = 6,9) была приготовлена с помощью ультразвуковой обработки в течение 30 мин при выходной мощности 100 Вт. Стабилизаторы (цитрат натрия, хитозан и др.) не добавляли из-за их возможного влияния на клетки. Более того, даже стабилизированные феррожидкости демонстрируют неравномерное распределение магнитных наночастиц в культуре клеток [11].

Суспензия МНК в пластиковых пробирках содержала концентрацию 1×10^6 жизнеспособных клеток на единицу синтетической питательной среды (Sigma-Aldrich, США), содержащей RPMI-1640, 10%-ю фетальную бычью сыворотку, 50 мг/л гентамицина и 280 мг/л L-глутамин. Указанную выше клеточную суспензию смешивали с феррожидкостью МНЧ сразу после обработки ультразвуком в соотношении 10 : 1 для сохранения значения pH 7,2–7,3 в культуре клеток. Таким образом, конечная концентрация МНЧ в культуре клеток составила 10 максимально переносимых доз (10 МПД = 3 мг/л) МНЧ по отношению к ионам железа. Одна МПД железа в воде равняется 0,3 мг/л. Подсчет жизнеспособности клеток проводили с помощью Countess™ Automated Cell Counter (Invitrogen, США) с использованием 0,4%-го раствора трипанового синего (Invitrogen, США) по ISO 10993-5 после 24 ч культивирования в атмосфере, содержащей 5% CO_2 , 100%-й влажностью при 37 °C. Основной антигенный профиль МНК (CD45, CD3, CD14) анализировали методом проточной цитометрии [10].

Результаты проанализированы с помощью программного обеспечения Statistica для Windows 13.3. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения $M \pm SD$. Вследствие отли-

чия распределения признаков от нормального (критерий Шапиро – Уилка) для оценки статистических различий выборки применяли U -критерий Манна – Уитни (p_v).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Значения среднего размера частиц ($D_{ПЭМ}$) представлены в табл. 1. По данным ПЭМ, МНЧ имеют сфероидальную или полиэдрическую форму с закругленными краями (рис. 1). Изображения ПЭМ для свежизготовленных образцов, выполненные в 2007 г., показали, что частицы имеют сглаженные края, что

может быть связано с меньшей кристаллическостью поверхности или с тем, что оборудование, использовавшееся в 2007 г., имело более низкое разрешение. ПЭМ-изображения были обработаны с помощью программного обеспечения ImageJ. Для анализа распределения МНЧ по размерам полученное распределение аппроксимировали логнормальной функцией [11].

Расчетный размер частиц практически не изменился после 10 лет хранения. МНЧ продемонстрировали логарифмически нормальное распределение по размерам с близкими средними диаметрами для свежеприготовленных частиц и после длительного хранения (табл. 1).

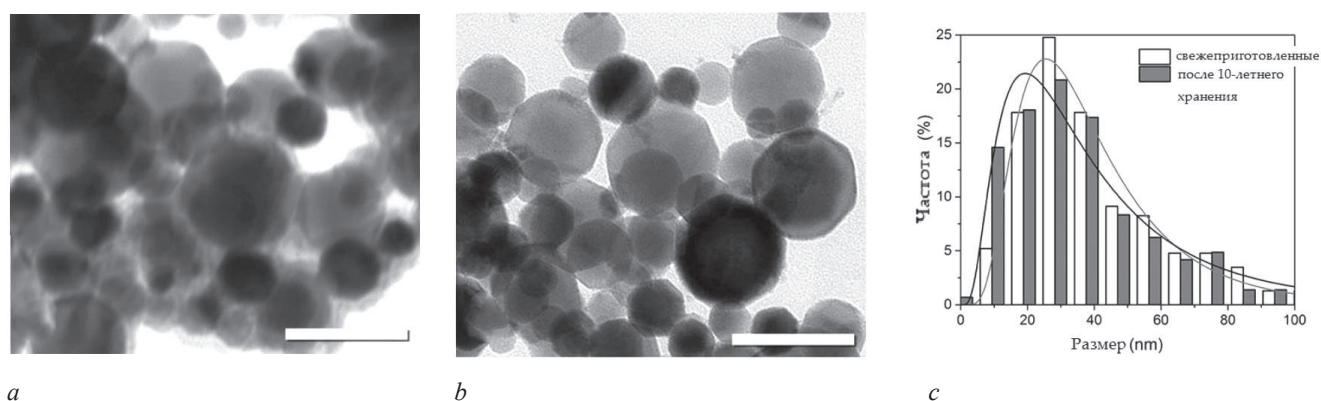


Рис. 1. ПЭМ-изображение порошка оксида железа: *a* – в готовом виде, *b* – после 10 лет хранения в атмосфере окружающей среды, *c* – гистограмма распределения по размерам: масштаб 100 нм

Таблица 1

Год	Фазовый состав, размер частиц и магнитные свойства порошка МНЧ, $M(SD)$						
	Фазовый состав, wt. %			Структурные свойства		Магнитные свойства (295 К)	
	$Fe_3O_4/\gamma-Fe_2O_3$	$\alpha-Fe$	Неопознанные фазы	$D_{ОКР}$, нм	$D_{ПЭМ}$, нм	M_R/M_S	M_S , Ам ² /кг
2007	96	3	~1	31(3)	34 (0,6)	0.14 (0,01)	71.1 (0,9)
2017	97	2	~1	32(4)	33 (0,7)	0.16 (0,01)	79.8 (0,4)*

* $P_U < 0,05$; измерения проводились в г. Томске (2007, 2017) и Калининграде (2017)

Картина SAED показала, что кристаллическая природа сохранялась в течение 10 лет (рис. 2, *a*). Яркие кольца образованы пятнами, связанными с осью (111), (220), (311), (400), (422), (511) и (440) гранцентрированной кубической структурой Fe_3O_4 . Одно кольцо слабой интенсивности, обозначенное как 110_a было связано с небольшим содержанием металлической фазы $\alpha-Fe$.

Количественный фазовый анализ проводили с уточнением рентгенограмм по методу Ритвельда (табл. 1). Результаты РСА порошка оксида железа показали, что преобладающей фазой является магнетит (рентгенограмма № 04-015-3102) со значением примерно 96–97 мас. %; кроме того,

наблюдается небольшое количество металлического железа в α -модификации (рентгенограмма № 04-014-0360) в количестве около 2–3 мас. % (рис. 2, *b*, см. табл. 1).

Следует отметить, что два ферромагнитных оксида железа, магнетит и маггемит, имеют структуру обратной шпинели с близкими значениями постоянных решетки, и из-за размытия пиков их сложно различить с помощью обычных методов рентгеновской дифракции [12]. Средний размер области когерентного рассеивания ($D_{ОКР}$) рассчитывали по формуле Шеррера $D_{ОКР} = k\lambda / (\beta \times \cos\theta)$, где коэффициент формы k равен 0,9 для сферической формы, λ – длина волны излучения $Cu K\alpha$ (1,54178 Å),

и β – полная ширина на полувысоте [13]. Для наночастиц с хорошей кристаллической природой этот размер близок к размеру частиц, определенного с помощью ПЭМ (см. табл. 1). Намагниченность насыщения M_s для МНЧ после длительного хранения,

рассчитанная по рис. 3, оказалась несколько выше, чем для свежеприготовленных МНЧ (см. табл. 1). Приведенная остаточная намагниченность (M_R/M_s) была одинаковой в пределах погрешности для обоих образцов.

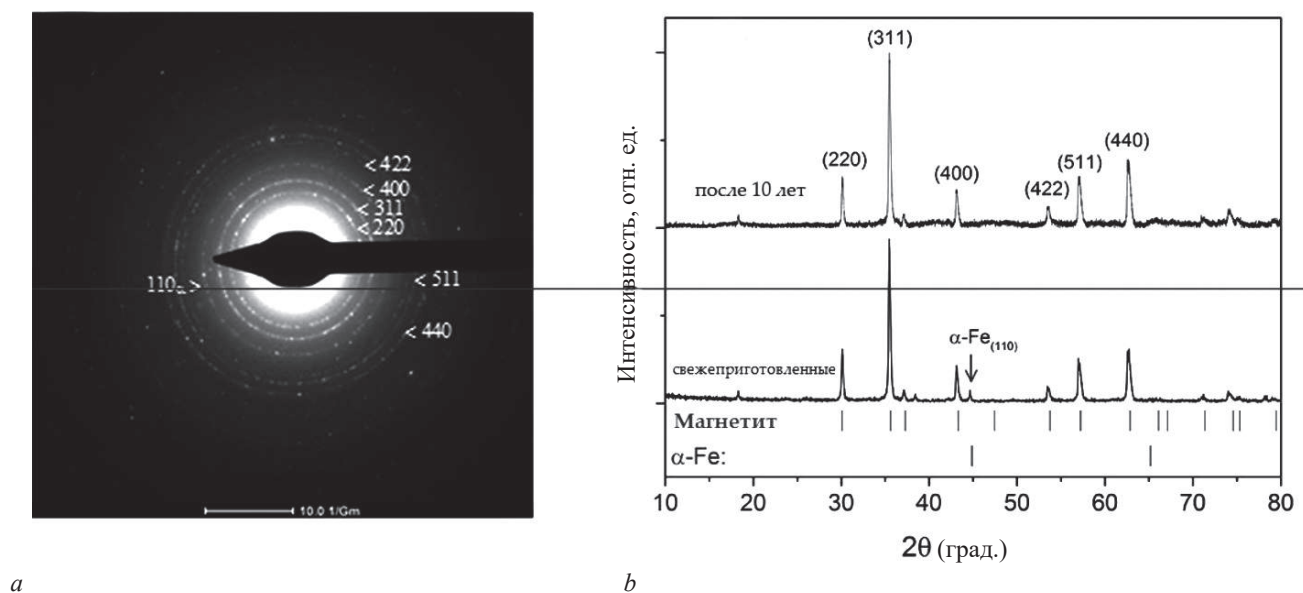


Рис. 2. Микродифракционная картина порошка МНЧ 10-летнего хранения (а); рентгенограмма свежеприготовленного образца и после 10 лет хранения (b) в атмосфере окружающей среды

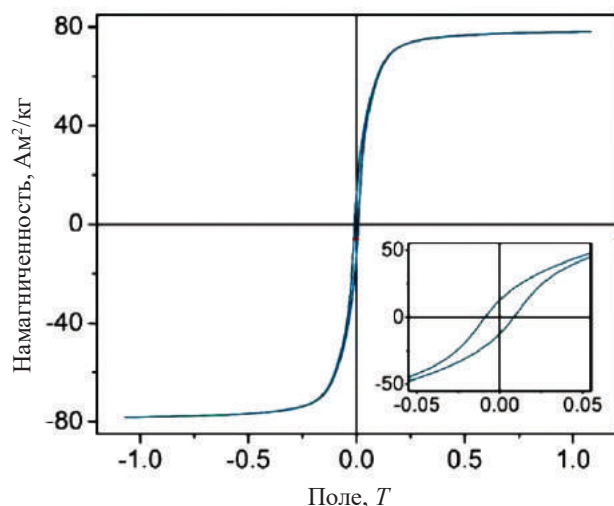


Рис. 3. Петля гистерезиса порошка МНЧ при $T = 295$ К после 10 лет хранения нанопорошка в атмосфере окружающей среды

Два магнитных оксида железа (магнетит и маггемит) имеют разные значения намагниченности насыщения ($M_s^{\text{Fe}_3\text{O}_4} = 92\text{--}100$ и $M_s^{\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3} = 60\text{--}80$ Ам²/кг [14]). Полученные значения M_s были ближе к фазе

маггемита, однако некоторое уменьшение намагниченности также может быть связано с размерными эффектами (например, наличием доли скошенных поверхностных спинов или антифазных границ) [15, 16].

Цитотоксичное влияние МНЧ *in vitro* не было выявлено (рис. 4) ни в один год длительного исследования (табл. 2). Среднее количество живых МНК в пределах минимального-максимального спектра диаметров (7–18 мкм) существенно не отличалось после добавления одних и тех же МНЧ на 10 МПД в 2007 и 2017 гг.

Таблица 2

Жизнеспособность МНК *in vitro* после 24-часового совместного культивирования с МНЧ в дозе 10 МПД, $M \pm SD$

Нанопорошок	Количество жизнеспособных (неокрашенных трипановым синим) клеток, %, $n = 5$	
	Контрольные культуры клеток (без МНЧ)	Культуры клеток с МНЧ
Свежеприготовленный	$86,2 \pm 1,62$	$85,8 \pm 3,02$
После 10 лет хранения	$87,5 \pm 2,06$	$85,6 \pm 2,71$

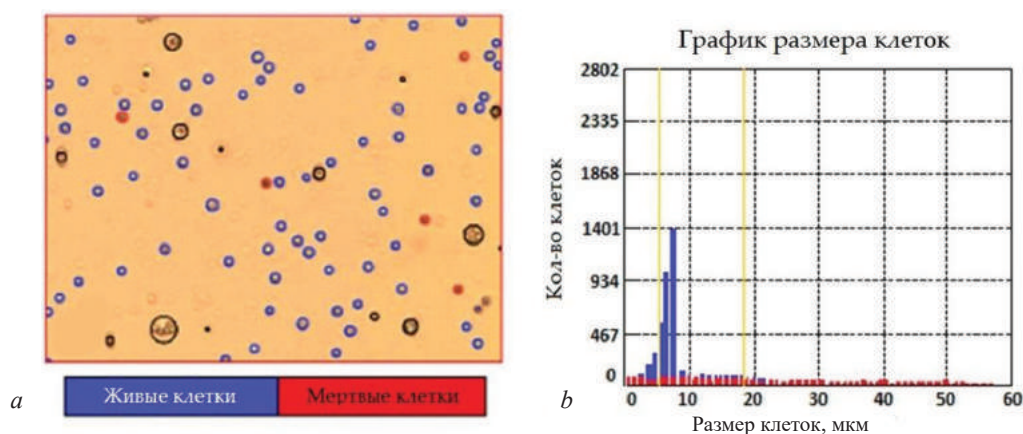


Рис. 4. Расчет жизнеспособности клеток (а) и их размера (б) с помощью автоматического счетчика клеток Countess™

В общей сложности 93–95% МНК размером 7–11 мкм (см. рис. 4) экспрессировали лейкоцитарные CD45CD3-антигены Т-лимфоцитов. Крупные клетки экспрессировали маркеры CD45CD14 моноцитов/макрофагов в 5–7% случаев, и этот результат не зависел от использования МНЧ и года их использования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, 10-летняя стабильность структурных, магнитных и цитотоксических свойств электровзрывного нанопорошка магнетита, который хранился в темноте в атмосфере окружающей среды, может считаться полезной особенностью для обеспечения баланса его экологической безопасности и биомедицинских свойств в качестве неорганического носителя для диагностики и лечения опухолевых и других заболеваний.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Farjadian F., Ghasemi A., Gohari O., Roointan A., Karimi M., Hamblin M.R. Nanopharmaceuticals and nanomedicines currently on the market: challenges and opportunities. *Nanomedicine*. 2019;14(1):93–126. DOI: 10.2217/nmm-2018-0120.
- Halwani A.A. Development of pharmaceutical nanomedicines: from the bench to the market. *Pharmaceutics*. 2022;14(1):106. DOI: 10.3390/pharmaceutics14010106.
- Al-Anazi A. Iron-based magnetic nanomaterials in environmental and energy applications: a short review. *Current Opinion in Chemical Engineering*. 2022;36:100794. DOI: 10.1016/j.coche.2022.100794.
- Kabir E., Kumar V., Kim K.H., Yip A.C.K., Sohn J.R. Environmental impacts of nanomaterials. *J. Environ. Manage.* 2018;225:261–271. DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.07.087.
- Nel A., Xia T., Mädler L., Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*. 2006;311(5761):622–627. DOI: 10.1126/science.1114397.
- Widdrat M., Kumari M., Tompa E. Keeping nanoparticles fully functional: Long-term storage and alteration of magnetite. *Chem. Plus Chem.* 2014;79(8):1225–1233. DOI: 10.1002/cplu.201402032.
- Sedoi V.S., Ivanov Yu.F., Osmonaliev M.N. Study of ultra-fine powders produced by the exploding wire method. In book: DeLuca L.T., Galfetti L., Pesce-Rodriguez R.A. (ed). *Novel Energetic Materials and Applications*. Grafiche G.S.S., 24040 Arzago d'Adda, BG, Italy; 2004:1–10. DOI: 10.1002/prep.200300019.
- Khlusov I.A., Omelyanchik A.S., Rodionova V.V. Granulocyte-macrophage progenitor cells response to magnetite nanoparticles in a static magnetic field. *J. Magn. Magn. Mater.* 2018;459:84–91. DOI: 10.1016/j.jmmm.2017.12.017.
- Omelyanchik A., Varvaro G., Gorshenkov M. High-quality α -Fe nanoparticles synthesized by the electric explosion of wires. *J. Magn. Magn. Mater.* 2019;484:196–200. DOI: 10.1016/j.jmmm.2019.03.109.
- Kurlyandskaya G.V., Litvinova L.S., Safronov A.P. Water-based suspensions of iron oxide nanoparticles with electrostatic or steric stabilization by chitosan: Fabrication, characterization and biocompatibility. *Sensors*. 2017;17(11):2605. DOI: 10.3390/s17112605.
- Muscas G., Yaacoub N., Concas G. Evolution of the magnetic structure with chemical composition in spinel iron oxide nanoparticles. *Nanoscale*. 2015;7(32):13576–13585. DOI: 10.1039/c5nr02723c.
- Frison R., Cernuto G., Cervellino A. Magnetite-maghemite nanoparticles in the 5–15 nm range: Correlating the core-shell composition and the surface structure to the magnetic properties. A total scattering study. *ChemMater*. 2013;25(23):4820–4827. DOI: 10.1021/cm403360f.
- Sandler S., Fellows B.D., Mefford O.T. Best practices for characterization of magnetic nanoparticles for biomedical applications. *Anal. Chem.* 2019;91:4159–4169. DOI: 10.1021/acs.analchem.9b03518.
- Teja A.S., Koh P.Y. Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles. *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* 2009;55(1–2): 22–45. DOI: 10.1016/j.pcrysgrow.2008.08.003.
- Feoktystov A. Mechanism of magnetization reduction in iron oxide nanoparticles. *Nanoscale*. 2021;13(14):6965–6976. DOI: 10.1039/D0NR08615K.
- Omelyanchik A. Effect of citric acid on the morpho-structural and magnetic properties of ultra small iron oxide nanoparticle. *J. Alloys Compd.* 2021;883:160779. DOI: 10.1016/j.jallcom.2021.160779.

Вклад авторов

Хлусов И.А., Родионова В.В., Литвинова Л.С. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация результатов. Омелянчик А.С. – выполнение физической части экспериментов, написание рукописи. Шуплецова В.В., Хазиахматова О.Г., Юрова К.А. – выполнение биологических экспериментов. Норкин И.К. – статистический анализ данных.

Информация об авторах

Хлусов Игорь Альбертович – д-р мед. наук, профессор, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск, khlusovia@ssmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3465-8452>

Омелянчик Александр Сергеевич – канд. физ.-мат. наук, НОЦ «Умные материалы и биомедицинские приложения», БФУ им. И. Канта, г. Калининград, asomelyanchik@kantiana.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3876-8261>

Родионова Валерия Викторовна – канд. физ.-мат. наук, директор НОЦ «Умные материалы и биомедицинские приложения», БФУ им. И. Канта, г. Калининград, vvrodionova@kantiana.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7793-538X>

Шуплецова Валерия Владимировна – канд. биол. наук, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, vshupletsova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7243-9731>

Хазиахматова Ольга Геннадьевна – канд. биол. наук, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, olga_khaziakhmatova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5525-3529>

Юрова Кристина Алексеевна – канд. мед. наук, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, kristina_kofanova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6146-3330>

Литвинова Лариса Сергеевна – д-р мед. наук, директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, larisalitvinova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5231-6910>

Норкин Игорь Константинович – лаборант, Центр иммунологии и клеточных биотехнологий, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, norkin_igor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5212-2435>

(✉) **Хлусов Игорь Альбертович**, khlusovia@ssmu.ru

(✉) **Омелянчик Александр Сергеевич**, asomelyanchik@kantiana.ru

Поступила в редакцию 22.02.2022;
одобрена после рецензирования 17.03.2022;
принята к публикации 19.03.2022

УДК 579.61:616-092:616.24

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-103-112>

Микробиота: вклад в канцерогенез и функционирование иммунной системы легких

Буслаев В.Ю.¹, Минина В.И.^{1,2}, Мацкова Л.В.³

¹ Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук (ФИЦ УУХ СО РАН)

Россия, 650000, г. Кемерово, пр. Советский, 18

² Кемеровский государственный университет (КемГУ)

Россия, 650000, г. Кемерово, ул. Красная, 6

³ Балтийский федеральный университет (БФУ) им. И. Канта

Россия, 236000, г. Калининград, ул. Университетская, 2

РЕЗЮМЕ

Микробиота (совокупность бактерий, простейших/архей, грибов, вирусов, обитающих в организме человека) и микробиом (их совокупный геном) являются предметом активных научных исследований. Особый интерес вызывает взаимосвязь изменений состава микробиоты и злокачественной трансформации различных органов. Легкие долгое время считались стерильным органом, однако это представление было пересмотрено благодаря развитию технологий секвенирования нового поколения. Метагеномный подход позволил идентифицировать микроорганизмы на молекулярном уровне в здоровых тканях легкого и в опухолях.

Следующим шагом стало выявление разнообразных аспектов влияния микробиоты на гомеостаз легочной системы и поддержание иммунитета. Анализ результатов исследований микробиоты легочной системы, основанных на секвенировании генов 16S рННК, позволил установить, что микробиота здоровых легких представлена в основном бактериями, принадлежащими к типам *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Fusobacteria*. При развитии рака легкого отмечено значительное повышение численности бактерий определенных родов и в целом снижение разнообразия микробиоты. Дисбиоз способствует активному размножению патогенов и развитию негативных состояний легочной системы. Установлено, что в норме легочная микробиота обеспечивает устойчивость к заселению легких болезнетворными микроорганизмами и играет важную роль в обеспечении сбалансированного иммунного ответа в данных органах.

Ключевые слова: метагеномика, микробиота, легкие, рак легкого, 16S рННК, иммунитет

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

Источник финансирования. Исследование поддержано государственным заданием на 2019–2021 гг. (проект № 0352-2019-0011).

Для цитирования: Буслаев В.Ю., Минина В.И., Мацкова Л.В. Микробиота: вклад в канцерогенез и функционирование иммунной системы легких. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):103–112. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-103-112>.

Microbiota: its contribution to carcinogenesis and immunity in the lungs

Buslaev V.Yu.¹, Minina V.I.^{1,2}, Matskova L.V.³

¹ The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (FRC CCC SB RAS)

18, Sovetskiy Str., Kemerovo, 650000, Russian Federation

² Kemerovo State University (KemSU)

6, Krasnaya Str., Kemerovo, 650000, Russian Federation

³ Immanuel Kant Baltic Federal University (IKBFU)

2, Universitetskaya Str., Kaliningrad, 236000, Russian Federation

ABSTRACT

Microbiota (an assembly of bacteria, protists / archaea, fungi, and viruses inhabiting a human body) is currently of great interest for science. It is determined by an association between changes in microbiota composition and malignant transformation in different organs. Lungs have long been considered sterile or free from bacteria; however, due to development of next-generation sequencing, this statement has been reconsidered. The metagenomic approach allowed to identify microorganisms at molecular level both in healthy lung tissues and in malignant ones.

The next stage of research is investigation of the effects of microbiota on homeostasis and immune stability in the lungs. The analysis of lung microbiota based on 16S rRNA gene sequencing revealed that microbiota of healthy lungs is mainly presented by bacteria of the phyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, and *Fusobacteria*. In lung cancer, an increase in the number of bacteria of some certain genera and a decrease in microbiota diversity on the whole are noted. Dysbiosis facilitates reproduction of pathogens and development of lung diseases. It was detected that under normal conditions, microbiota maintains resistance of the lungs to bacterial colonization and plays a crucial role in providing a balanced immune response in this organ.

Keywords: metagenomics, microbiota, lungs, lung cancer, 16S rRNA, immunity

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 funded by the state assignment for 2019–2021 (project No. 0352-2019-0011).

For citation: Buslaev V.Yu., Minina V.I., Matskova L.V. Microbiota: its contribution to carcinogenesis and immunity in the lungs. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):103–112. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-103-112>.

ВВЕДЕНИЕ

Рак легкого (РЛ) в настоящее время признан одной из самых распространенных причин смерти от онкологических заболеваний как для мужчин, так и для женщин. Пятилетний рубеж продолжительности жизни после установления диагноза проходят менее 20% заболевших [1]. В настоящее время пришло понимание того, что легкие не являются стерильным органом, свободным от микроорганизмов. Результаты последних исследований свидетельствуют о том, что микробиота легких оказывает влияние на гомеостаз респираторной системы человека и играет роль в развитии РЛ или в появлении метастазов в легких как следствие первичного рака других органов. Дисбиоз микробиоты легких влияет на

риск развития рака на нескольких уровнях, например, вызывая хроническое воспаление или активацию онкогенов. Исследование того, как микроорганизмы, обитающие в нижней части респираторной системы человека, могут влиять на развитие РЛ и эффективность терапии, может быть ключевым при оценке риска возникновения и выработке стратегии терапии патологии.

Совокупность микроорганизмов (бактерий, простейших/архей, грибов, вирусов, протистов/ protozoa), обитающих в организме человека, обозначается термином «микробиота», их совокупный геном – как «микробиом» [2, 3]. В настоящее время активно исследуется связь микробиоты и онкозаболеваний. Большинство экспериментальных работ посвящено выявлению патологических свойств

бактерий. Например, бактериальные токсины могут нарушать клеточный цикл, препятствуя синтезу белков, ответственных за репарацию ДНК, клеточное деление и апоптоз. Бактерии влияют на эффективность иммунотерапии и развитие реакций иммунитета организма-хозяина, направленных против раковых клеток [4].

До недавнего времени бактерии в составе легкого было невозможно исследовать обычными методами культивирования. Благодаря современной технологии NGS-секвенирования бактерии эффективно детектируются на уровне ДНК [5–9]. Эта методика позволила идентифицировать микроорганизмы на молекулярном уровне в составе сложных биологических образцов. В зависимости от того, представители какого царства являются целью исследования, используются праймеры, специфичные к консервативным участкам геномов: 16S рРНК и 18S рРНК для бактерий и архей, ITS1-ITS2 – для грибов, V4–V9 участки 18S рРНК – для протистов. Для идентификации вирусов используют метод дробовика (shotgun) после предварительного выделения вирусных частиц [10]. Комбинация традиционных и новых методов анализа, секвенирование 16S рРНК и матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация, успехи биоинформатического анализа данных крупных репозиторий позволили за последние пять лет выполнить анализ полногеномных последовательностей микроорганизмов и идентификацию новых видов [11]. Интересно, что традиционное культивирование оказалось более эффективным при установлении видов рода *Mycobacterium* [12].

Многие аспекты влияния микробиоты на гомеостаз легочной системы и поддержании иммунитета были и остаются предметом научных дискуссий. Целью данного обзора стало обобщение результатов исследований, оценивавших вклад микробиоты в функционирование иммунной системы и развитие рака легкого (РЛ), опубликованных за последние 10 лет.

МИКРОБИОТА ЗДОРОВЫХ ЛЕГКИХ

Бактерии, колонизирующие организм человека, принадлежат в основном к типам *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* и *Cyanobacteria* [13–16]. В настоящее время определено, что численности бактериальных и человеческих клеток равны в организме человека. Количество бактерий, населяющих здоровые легкие человека, оценивается от сотен тысяч до сотен миллионов на 1 мл объема легких [17].

Получено достаточное количество сведений о характеристиках микробиоты легочной системы

в зависимости от определенных физиологических состояний организма-хозяина. Отмечено, что функциональная стабильность обеспечивается бактериальными таксонами, которые составляют «здоровую микробиоту». Таким образом, в нормальных условиях наибольшей численностью характеризуются типы *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* и *Bacteroidetes* [18, 19]. Также к ним относятся роды *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Haemophilus*, *Neisseria*, населяющие респираторный тракт. *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Fusobacteria*, как правило, доминируют в составе здоровых легких [20, 21]. Однако следует отметить, что при изменении определенных условий некоторые из перечисленных таксонов могут выполнять деструктивные функции. В целом при отсутствии болезненных состояний в области легких не наблюдается пространственных различий состава микробиоты.

У большинства здоровых людей в микробиоте легких обнаруживаются также комменсалы ротовой полости из родов *Prevotella*, *Veillonella*, *Streptococcus*, вероятно, вследствие заглатывания содержимого глотки, хотя эти бактерии наблюдаются не у всех здоровых людей [22, 23]. Микробиоту легких различают также на пневмотипы согласно количественным и качественным характеристикам отдельных таксонов. К первой группе относят микробиом с высоким содержанием бактерий, обогащенный представителями из ротовой полости, такими как *Prevotella* и *Veillonella* (supraglottic predominant taxa, SPT-пневмотип). Ко второй группе относят микробиом с низким содержанием *Prevotella* и *Veillonella* и следовыми количествами бактерий из окружающей среды (таких как *Acidocella* и *Pseudomonas*) – преобладающий базовый пневмотип (background predominant taxa, BPT-пневмотип). Показано, что SPT-пневмотип соответствует локальному иммунному ответу, опосредованному хелперными Th17-клетками. Функционирование именно такого ответа определяет иммунный статус в норме и патологии [24]. Соответствие пневмотипов с риском развития патологий легких в настоящее время активно исследуется. Есть работы, в которых утверждается, что микробиота здоровых легких отличается от микробиоты ротовой полости и других частей респираторной системы и состоит в основном (до 60%) из *Proteobacteria*.

МИКРОБИОТА ЛЕГОЧНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО

Злокачественная трансформация при РЛ способствует структурным изменениям состава микробиоты. У пациентов с РЛ рода *Actinomyces* и

Peptostreptococcus наиболее часто детектируются в нижних дыхательных путях. Патогенез также ассоциирован с активностью бактерий ротовой полости (*Streptococcus* и *Wechsler*), которые участвуют в запуске сигнальных путей ERK и PI3K. Инфекционные процессы *Mycobacterium tuberculosis* и *Helicobacter pylori*, сопряженные с воспалением, усиливают онкогенез [25–27]. *Eubacterium xylanophilum*, *Eubacterium eligens* и *Clostridium* также способствуют наиболее острому течению РЛ, их повышенная численность ассоциирована с развитием его мелкоклеточной формы. Определенные таксоны (*Acidovorax*) помимо онкологических патологий также могут участвовать в развитии других заболеваний легкого. В составе дыхательных путей представители *Propionibacterium* способствуют развитию легкой формы РЛ, однако на примере лабораторных мышей был показан их противоопухолевый потенциал [28]. Таким образом, в настоящее время накоплено достаточное количество сведений о гипотетическом влиянии респираторной микробиоты на развитие РЛ [29]. В составе микробиоты легких при РЛ наиболее часто детектируют-

ся типы *Firmicutes* и *TM7*, а также роды *Eillonella*, *Megasphaera*, *Atopobium* и *Selenomonas*. *Atopobium* и *Selenomonas* обуславливают развитие онкогенных процессов более мягкой степени, *Megasphaera* способствует развитию острого течения РЛ. Представители данного таксона наряду с *Veillonella* могут активно использоваться как специфические биомаркеры РЛ для диагностики и терапии данной патологии. При применении бронхоальвеолярного лаважа в качестве материала для исследования, роды *Filifactor* и *Treponema* определены как достоверные маркеры развития РЛ [30]. Численность представителей типа *TM7* повышена при хронической обструктивной болезни легких, а также при РЛ, что указывает на возможность развития онкогенных процессов при усилении воспаления.

В результате метагеномных исследований РЛ с использованием разнообразного материала в сочетании с определенными условиями отмечено значительное повышение частоты определенных таксонов бактериальной микробиоты и одновременно снижение ее разнообразия (таблица).

Таблица

Бактериальные сообщества, обнаруженные у пациентов с РЛ			
Бактерии	Число образцов	Тип образца	Источник
<i>H. influenzae</i> <i>Enterobacter spp.</i> <i>Escherichia coli</i>	216	Бронхоальвеолярная эндоскопия	[31]
<i>Granulicatella</i> <i>Abiothrophia</i> <i>Streptococcus</i>	16	Образцы мокроты	[35]
<i>Granulicatella</i> <i>Streptococcus</i> <i>Mycobacterium</i>	10	Образцы мокроты	[36]
<i>Acidovorax</i>	176	Ткань легких	[38]
<i>Brevundimonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Propionibacterium</i>	103	Бронхоальвеолярный лаваж	[39]
<i>Lactobacillus rossiae</i> , <i>Bacteroides pyogenes</i> , <i>Paenibacillus odorifer</i> , <i>Pseudomonas entomophila</i> , <i>Magnetospirillum gruphiwaldense</i>	47	Бронхоальвеолярный лаваж	[41]

Изучение материала бронхиальной эндоскопии позволило оценить патогенные свойства грамм-отрицательных *H. influenzae*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli* и грамм-положительных *Mycobacteria* [31]. В другой работе с использованием бронхоальвеолярного лаважа S.H. Le и соавт. установили повышение численности родов *Veillonella* и *Megasphaera* при РЛ [32]. В настоящее время нет однозначного понимания роли бактерий *Streptococcus* и *Staphylococcus* в канцерогенезе РЛ. Это может быть связано с трудностями идентификации остальных бактерий или с тем, что такие бактерии могут играть разную роль в

зависимости от множества условий. На расхождения в данных могут влиять особенности образа жизни, специфика загрязнения окружающей среды (например, использование угля для отопления), курение, особенности забора материала для анализа и другие факторы [33]. Следует отметить, что для представителей *Streptococcus* характерно повышение в опухолях легкого [34].

Известно, что воздействие химических поллютантов, в частности полициклических ароматических углеводородов, повышает риск развития РЛ. В исследовании H.D. Hosgood и соавт. было проведе-

но тестирование состава микробиоты у некурящих женщин, использовавших уголь в качестве топлива в домашних условиях. В материале мокроты обнаружено повышенное содержание родов *Granulicatella*, *Abiothrophia* и *Streptococcus* [35]. Повышение численности *Granulicatella* (*Granulicatella adiacens*) связано с прогрессированием развития РЛ [36].

Курение может многократно усиливать риск формирования РЛ. В настоящее время накоплено множество данных о молекулярных механизмах

действия табачного дыма. Курение может способствовать развитию дисбиоза в разных частях организма, вызывая возникновение многих заболеваний (астма, хроническая обструктивная болезнь легких, РЛ) [37]. Табачный дым напрямую взаимодействует с эпителием дыхательных путей и способствует нарушению иммунологических барьеров. В результате происходит изменение таксономического состава и филогенетического разнообразия легочной микробиоты (рис. 1).

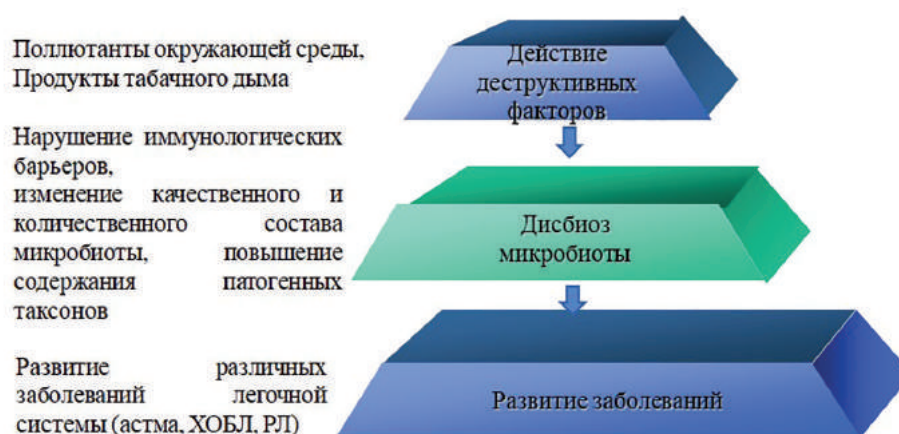


Рис. 1. Развитие дисбиоза микробиоты

Для понимания роли микробиоты в данном случае важно учитывать вариабельность процентного содержания *Firmicutes/Bacteroidetes* у некурящих и курящих пациентов.

В контексте исследований микробиоты при развитии РЛ была также выдвинута гипотеза о синергическом эффекте соматических мутаций в молекуле ДНК и нарушения барьерной функции эпителия при курении. С этой целью проведено исследование влияния мутаций в гене *TP53* на изменения состава легочной микробиоты при РЛ [38]. Первоначально при сопоставлении материала опухолевых тканей с нормальными было отмечено повышение численности *Proteobacteria* и понижение *Firmicutes*. Наличие родов *Acidovorax*, *Ruminococcus*, *Oscillospira*, *Duganella*, *Ensifer*, *Rhizobium* связано с курением. В частности, представители *Acidovorax* были наиболее часто встречающимися таксонами у курильщиков. Была выявлена ассоциация бактерий рода *Acidovorax* с развитием РЛ при условии наличия мутаций в гене *TP53*.

Важным является вопрос о различиях микробиоты в зависимости от гистопатологического типа РЛ. S. Gomes и соавт. обнаружили увеличение процентного содержания таксонов *Brevundimonas*,

Acinetobacter и *Propionibacterium* у пациентов с аденокарциномой легкого [39]. Присутствие *Enterobacter* было характерно для плоскоклеточного РЛ. Развитие немелкоклеточной формы РЛ также может сопровождаться повышением активности компонентов кишечной микробиоты. В одном из исследований бактерии рода *Phascolarctobacterium* имели наибольшую ассоциацию с развитием плоскоклеточного РЛ [40]. Обнаруженные в данном исследовании виды *Phascolarctobacterium faecium* и *Phascolarctobacterium succinatutens*, в свою очередь, относятся к компонентам микробиоты желудочно-кишечного тракта. Несмотря на наличие своих уникальных свойств, легочная микрофлора опухолей может иметь сходство со здоровыми тканями. В то же время для немелкоклеточной формы РЛ отмечено присутствие таких редких бактериальных видов, как *Lactobacillus rossiae*, *Bacteroides pyogenes*, *Paenibacillus odorifer*, *Pseudomonas entomophila* и *Magnetospirillum gruphiwaldense* [41].

Пациенты с РЛ наиболее часто характеризуются понижением альфа-разнообразия легочной микробиоты [42]. Подобное явление наблюдается при анализе аденокарциномы легкого [43]. Относительно бета-разнообразия существуют сведения об отсут-

ствии различий между опухолевыми и нормальными тканями. При оценке общего разнообразия микробиоты у пациентов также отмечено повышение индекса Шеннона при сопоставлении со здоровыми индивидами.

МИКРОБИОТА И ИММУННАЯ СИСТЕМА ЛЕГКИХ

Исследования последних десяти лет показали, что микробиота легких обеспечивает устойчивость к заселению данных органов патогенными микроорганизмами и играет важную роль в обеспечении сбалансированного иммунного ответа в них. С воз-

растом меняется состав микробиоты легких и характер взаимоотношений микробиоты с иммунной системой человека, вероятно, вследствие влияния окружающей среды. Эволюция этих взаимоотношений приводит к развитию регуляторных процессов, которые определяют невосприимчивость к собственным антигенам и к неопасным агентам и обеспечивают удаление патогенов и трансформированных клеток [44].

Патогенез многих заболеваний в большой степени может определяться характером взаимодействий сообществ микроорганизмов из разных экологических ниш человеческого организма (рис. 2).



Рис. 2. Взаимодействие сообществ микробиоты из разных экологических ниш организма-хозяина

Взаимодействие компонентов микробиоты из разных частей организма происходит при условии циркуляции продуктов метаболизма, провоспалительных цитокинов и других сигнальных молекул. Важным свойством является бактериальная транслокация, которая выражается в смене бактериями ниш для своего обитания. В этой связи были сформулированы гипотезы о наличии «осей» взаимодействий сообществ микроорганизмов. К ним относятся оси «микробиота–мозг–кишечник», «микробиота–кишечник–печень», а также «микробиота–кишечник–кожа» [45–47]. Несмотря на то, что подобные гипотезы во многом противоречивы, тем не менее они раскрывают некоторые особенности влияния микробиоты на физиологические процессы. Развитие подобных событий главным образом связано с активацией механизмов врожденного и приобретенного иммунитета.

Легочная микробиота находится в тесном взаимодействии с другими нишами организма-хозяина. По этой причине развитие заболеваний легочной системы может определяться нарушением стабиль-

ности состава кишечной микробиоты. Микробиота легких и кишечника в настоящее время рассматривается как «функционирующие вместе», опровергая предыдущие представления о наличии «барьера» между ними. Микробиота кишечника стимулирует продуцирование различных регуляторных цитокинов, созревание Т- и В-клеток, что обеспечивает усиление защиты слизистой оболочки. Этот эффект не только сохраняется в кишечнике, но и распространяется на другие поверхности слизистой оболочки посредством лимфатической и кроветворной систем, влияя на иммунный ответ в удаленных органах [48].

Кишечные бактерии участвуют в синтезе биологически активных молекул (в основном короткоцепочечных жирных кислот и витаминов), обеспечивающих снижение воспалительных процессов. В частности, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Akkermansia muciniphila* экспрессируют противовоспалительный интерлейкин 10 (ИЛ-10), а также ингибитор ИЛ-12, что может останавливать тяжелое течение аллергической астмы. Поскольку процессы злокачественной трансформации сопряжены с воспалением,

ингибирующие свойства, реализуемые бактериями *Faecalibacterium prausnitzii*, могут обладать терапевтическими эффектами относительно развития РЛ. Данная особенность была продемонстрирована на примере раковой клеточной линии A549 при снижении экспрессии провоспалительных факторов (ИЛ-1, TGF-B2, ИЛ-1RA) [49]. По результатам данных исследований становится возможным формирование гипотезы «микробиота–кишечник–легкие» для раскрытия этиологии заболеваний легочной системы.

Наиболее вероятными механизмами взаимосвязи кишечной микробиоты с микроорганизмами легких являются микроаспирация и аспирация. Продукты метаболизма бактерий желудочно-кишечного тракта могут влиять на интенсивность дифференцировки компонентов специфического иммунитета: наивных Т-клеток, Т-регуляторных клеток (T-reg), а также Т-хэлперов 17-го типа (Th17) [50]. В результате происходит усиление иммунологического ответа и системного воспаления, что отражает механизмы влияния микробиоты на гомеостаз адаптивного иммунитета при развитии заболеваний. Существуют также способы передачи сигналов от желудочно-кишечного тракта к легочной системе через кровоток, что может влиять на стабильность состава микробиоты респираторного тракта [51]. Необходимо дальнейшее проведение дополнительных исследований для подтверждения этих гипотетических механизмов.

Исходя из метагеномных исследований, проявление аномальной активности иммунитета происходит по причине снижения численности комменсальных бактерий, выполняющих полезные для организма свойства. Размножение и активность патогенов, напротив, усиливаются: представители *Gammaproteobacteria* используют побочные продукты воспалительных реакций для своего роста [52]. При исследовании особенностей состава микробиоты нижних дыхательных путей стало очевидным, что патогенетические процессы во многом связаны с понижением численности *Bacteroidetes* в составе «здоровой микробиоты» и сдвигом в сторону распространения *Gammaproteobacteria*. Экспериментальные работы, проведенные на людях и лабораторных животных, позволили определить представителей данного таксона как легочных патогенов [53].

В составе легочной системы альвеолярные макрофаги и резидентные дендритные клетки, а также другие компоненты иммунитета играют роль первичного барьера для патогенных микроорганизмов. Они выступают в качестве важных медиаторов гомеостаза иммунных реакций в составе легкого и активируются только при условии стимуляции со сторо-

ны вредоносных бактерий. Макрофаги и дендриты стимулируют деление компонентов Т-клеточного звена (T-reg), участвующих в реализации реакций специфического (приобретенного) иммунитета. Кроме того, их важной особенностью является способность к секреции сигнальных молекул: простагландина E2, фактора роста опухоли TGF-B и ИЛ-10, что способствует сохранению состояния гомеостаза [54]. Выполняя функции антиген-презентирующих клеток, альвеолярные макрофаги, дендритные клетки, а также клетки легочного эпителия обеспечивают распознавание патогенных компонентов (главным образом микробного происхождения) через систему паттерн-распознающих рецепторов (PRR-pattern recognition receptors). Результатом активации этих рецепторов является последующая экспрессия генов сигнальных молекул.

Важными факторами и регуляторами врожденного иммунного ответа на инфекции легочной системы являются $\gamma\delta$ Т клетки [55]. Показано, что вдыхание неопасных бактерий, которые не вызывают дисбиоз или инфекции, вызывает активацию этих клеток, что предотвращает развитие аномальной воспалительной реакции. Эти клетки также играют защитную роль против аллергии [56–58]. На примере лабораторных мышей показано, что колонизация респираторных путей у новорожденных определенными штаммами бактерий защищает от чрезмерной аллергической воспалительной реакции в респираторных путях [59–61]. Эти и другие работы убедительно показывают, что контакт организма-хозяина с микроорганизмами на ранних этапах развития является необходимым условием для формирования полноценной функциональной иммунной системы легких [62].

Таким образом, формирование РЛ вследствие изменений в микробиоте легких может быть обусловлено либо повышенной чувствительностью иммунной системы, ведущей к хроническим воспалениям, либо нарушенным механизмом отслеживания присутствия патогенных микроорганизмов. В некоторых случаях «здоровая» микробиота может способствовать созданию окружения, благоприятствующего злокачественной трансформации клеток легочной ткани. Например, некоторые бактерии могут способствовать колонизации легочной ткани метастазирующими раковыми клетками. Показано, что местное применение антибиотиков уменьшает образование метастазов, и этот эффект ассоциируется с модулированием иммунного ответа. Это также говорит о том, что следует с осторожностью подходить к использованию бактерий в качестве терапевтических инструментов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на достигнутые успехи в выявлении особенностей микробиоты человека, технология имеет некоторые ограничения. Например, метод позволяет идентифицировать микроорганизмы в основном только на уровне рода, так как доступен анализ коротких последовательностей бактериальных геномов. В качестве альтернативы в настоящее время разработан метод прочтения полных геномов, который позволяет идентифицировать составляющие микробиоты на уровне вида. Несмотря на достоинства обоих подходов, они дают возможность идентифицировать только доминирующие виды популяции.

Принимая во внимание тот факт, что легкие постоянно подвергаются влиянию микроорганизмов из верхних отделов респираторной системы и внешней среды, можно предположить, что микроорганизмы, благоприятствующие нормальному состоянию организма человека, в определенных обстоятельствах могут способствовать развитию онкогенной трансформации клеток или других патологий. Информация о динамических изменениях микробиоты легких и влиянии на эти процессы внешних факторов, несомненно, будет способствовать лучшему пониманию этиологии РЛ, выявлению новых мишеней для терапии, поможет создать новые иммунотерапевтические подходы для лечения патологий легких.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Mathers C., Parkin D.M., Piñeros M. et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*. 2018;144(8):1941–1953. DOI: 10.1002/ijc.31937.
2. Ursell L.K., Metcalf J.L., Parfrey L.W., Knight R. Defining the human microbiome. *Nutrition Reviews*. 2012;70(1):38–44. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x.
3. Cho I., Blaser M.J. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews. Genetics*. 2012;13(4):260–270. DOI: 10.1038/nrg3182.
4. Apopa P.L., Alley L., Penney R.B., Arnaoutakis K., Steliga M.A., Jeffus S. et al. PARP1 is up regulated in non-small cell lung cancer tissues in the presence of the cyanobacterial toxin microcystin. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9:1757. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01757.
5. Pichler M., Coskun O.K., Ortega A.S., Conci N., Wörheide G., Vargas S. et al. A 16S rRNA gene sequencing and analysis protocol for the Illumina MiniSeq platform. *Microbiology Open*. 2018;7(6):e00611. DOI: 10.1002/mbo3.611.
6. Lagier J.C., Dubourg G., Million M., Cadoret F., Bilen M., Fenollar F. et al. Culturing the human microbiota and culturomics. *Nature Reviews. Microbiology*. 2018;16:540–550. DOI: 10.1038/s41579-018-0041-0.
7. Erb-Downward J.R., Thompson D.L., Han M.K., Freeman C.M., McCloskey L., Schmidt L.A. et al. Analysis of the lung microbiome in the “healthy” smoker and in COPD. *PLoS One*. 2011;6(2):e16384–e16396. DOI: 10.1371/journal.pone.0016384.
8. Beck J.M., Young V.B., Huffnagle G.B. The microbiome of the lung. *Translational Research*. 2012;160(4):258–266. DOI: 10.1016/j.trsl.2012.02.005.
9. Dickson R.P., Huffnagle G.B. The lung microbiome: new principles for respiratory bacteriology in health and disease. *PLoS Pathog*. 2015;11(7):e1004923–e1004928. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004923.
10. Mori H., Maruyama T., Yano M., Yamada T., Kurokawa K. VITCOMIC2: visualization tool for the phylogenetic composition of microbial communities based on 16S rRNA gene amplicons and metagenomic shotgun sequencing. *BMC Systems Biology*. 2018;12(2):30–42. DOI: 10.1186/s12918-018-0545-2.
11. Norman J.M., Handley S.A., Virgin H.W. Kingdom-agnostic metagenomic sand the importance of complete characterization of enteric microbial communities. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1459–1469. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.02.001.
12. Sulaiman I., Wu B.G., Li Y., Scott A.S., Malecha P., Scaglione B. et al. Evaluation of the airway microbiome in nontuberculous mycobacteria disease. *The European Respiratory Journal*. 2018;52(4):1800810–1800822. DOI: 10.1183/13993003.00810-2018.
13. Астафьева Н.Г., Кобзев Д.Ю., Гамова И.В., Перфилова И.А., Удовиченко Е.Н., Скучаева Л.В., Михайлова И.Э. Роль микробиома дыхательных путей в респираторном здоровье. *Лечащий врач*. 2019;5:88–92.
14. Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M. et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005;308(5728):1635–1638. DOI: 10.1126/science.1110591.
15. Grice E.A., Segre J.A. The skin microbiome. *Nature Reviews. Microbiology*. 2011;9(4):244–253. DOI: 10.1038/nrmicro2537.
16. Frank D.N., Feazel L.M., Bessesen M.T., Price C.S., Janoff E.N., Pace N.R. The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. *PLoS One*. 2010;5(5):e10598. DOI: 10.1371/journal.pone.0010598.
17. Charlson E.S., Diamond J.M., Bittinger K., Fitzgerald A.S., Yadav A., Haas A.R. et al. Lung-enriched organisms and aberrant bacterial and fungal respiratory microbiota after lung transplant. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2012;186(6):536–545. DOI: 10.1164/rccm.201204-0693OC.
18. Segal L.N., Alekseyenko A.V., Clemente J.C., Kulkarni R., Wu B. Enrichment of lung microbiome with supraglottic taxa is associated with increased pulmonary inflammation. *Microbiome*. 2013;1(1):1–19. DOI: 10.1186/2049-2618-1-19.
19. Morris A., Beck J.M., Schloss P.D., Campbell T.B., Crothers K., Curtis J.L. et al. Lung HIV Microbiome Project. Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2012;187(10):1067–1075. DOI: 10.1164/rccm.201210-1913OC.
20. Blainey P.C., Milla C.E., Cornfield D.N., Quake S.R. Quantitative analysis of the human airway microbial

- ecology reveals a pervasive signature for cystic fibrosis. *Sci. Transl. Med.* 2012;4(153):1–22. DOI: 10.1126/scitranslmed.3004458.
21. Dickson R.P., Erb-Downward J.R., Freeman C.M., McCloskey L., Beck J.M., Huffnagle G.B., Curtis J.L. Spatial variation in the healthy human lung microbiome and the adapted island model of lung biogeography. *Annals ATS.* 2015;12(6):821–830. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201501-029OC.
 22. Liu H.X., Tao L.-L., Zhang J., Zhu Y.-G., Zheng Y., Liu D. et al. Difference of lower airway microbiome in bilateral protected specimen brush between lung cancer patients with unilateral lobar masses and control subjects. *International Journal of Cancer.* 2018;142(4):769–778. DOI: 10.1002/ijc.31098.
 23. Tsay J.J., Wu B.G., Badri M.H., Clemente J.C., Shen N., Meyn P. et al. Airway microbiota is associated with upregulation of the PI3K pathway in lung cancer. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2018;198(9):1188–1198. DOI: 10.1164/rccm.201710-2118OC.
 24. Segal L.N., Clemente J.C., Tsay J.-C., Koralov S.B., Keller B.C., Wu B.G. et al. Enrichment of the lung microbiome with oral taxa is associated with lung inflammation of a Th17 phenotype. *Nature Microbiology.* 2016;1:16031. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.31.
 25. Park S.K., Cho L.Y., Yang J.J., Park B., Chang S.H., Lee K.-S. et al. Lung cancer risk and cigarette smoking, lung tuberculosis according to histologic type and gender in a population based case-control study. *Lung Cancer.* 2010;68(1):20–26. DOI: 10.1016/j.lungcan.2009.05.017.
 26. Deng B., Li Y., Zhang Y., Bai L., Yang P. Helicobacter pylori infection and lung cancer: a review of an emerging hypothesis. *Carcinogenesis.* 2013;34(6):1189–1195. DOI: 10.1093/carcin/bgt114.
 27. Fol M., Koziński P., Kulesza J., Białecki P., Druszczyńska M. Dual nature of relationship between mycobacteria and cancer. *IJMS.* 2021;22(15):8332. DOI: 10.3390/ijms22158332.
 28. Talib W.H., Saleh S. *Propionibacterium anches* augments antitumor, anti-angiogenesis and immunomodulatory effects of melatonin on breast cancer implanted in mice. *PLoS One.* 2015;10(4):1–13. DOI: 10.1371/journal.pone.0124384.
 29. Wang D., Cheng J., Zhang J., Zhou F., He X., Shi Y. et al. The role of respiratory microbiota in lung cancer. *International Journal of Biological Sciences.* 2021;17(13):3646–3658. DOI: 10.7150/ijbs.51376.
 30. Wang K., Huang Y., Zhang Z., Liao J., Ding Y., Fang X. et al. A Preliminary Study of Microbiota Diversity in Saliva and Bronchoalveolar Lavage Fluid from Patients with Primary Bronchogenic Carcinoma. *Med. Sci. Monit.* 2019;25:2819–2834. DOI: 10.12659/MSM.915332.
 31. Laroumagne S., Salinas-Pineda A., Hermant C., Murrin M., Gourrand P.-A., Do C. et al. Incidence and characteristics of bronchial colonization in-patient with lung cancer: a retrospective study of 388 cases. *Revue des Maladies Respiratoires.* 2011;28(3):328–335. DOI: 10.1016/j.rmr.2010.05.020.
 32. Le S.H., Sung J.Y., Yong D., Chun J., Kim S.Y., Song J.H. et al. Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions. *Lung Cancer.* 2016;102:89–95. DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.10.016.
 33. Urbaniak C., Gloor G.B., Brackstone M., Scott L., Tangney M., Reid G. The microbiota of breast tissue and its association with breast cancer. *Applied and Environmental Microbiology.* 2016; 82(16):5039–5048. DOI: 10.1128/AEM.01235-16.
 34. Liu H.X., Tao L.L., Zhang J., Zhu Y.-G., Zheng Y., Liu D. et al. Difference of lower airway microbiome in bilateral protected specimen brush between lung cancer patients with unilateral lobar masses and control subjects: Lower airway microbiome and lung cancer. *Int. J. Cancer.* 2018;142(4):769–778. DOI: 10.1002/ijc.31098.
 35. Hosgood H.D., Sapkota A.R., Rothman N., Rohan T., Hu W., Xu J. et al. The potential role of lung microbiota in lung cancer attributed to household coal burning exposures. *Environmental and Molecular Mutagenesis.* 2014; 55(8):643–651. DOI: 10.1002/em.21878.
 36. Cameron S.J.S., Lewis K.E., Huws S.A., Hegarty M.J., Lewis P.D., Pachebat J.A. et al. A pilot study using metagenomic sequencing of the sputum microbiome suggests potential bacterial biomarkers for lung cancer. *PLoS One.* 2017;12(5):e0177062. DOI: 10.1371/journal.pone.0177062.
 37. Huang C., Shi G. Smoking and microbiome in oral, airway, gut and some systemic diseases. *J. Transl. Med.* 2019;17(1):225. DOI: 10.1186/s12967-019-1971-7.
 38. Greathouse K.L., White J.R., Vargas A.J., Bliskovsky V.V., Beck J.A., von Muhlinen N. et al. Interaction between the microbiome and TP53 in human lung cancer. *Genome Biology.* 2018;19(1):123–139. DOI: 10.1186/s13059-018-1501-6.
 39. Gomes S., Cavadas B., Ferreira J.C. et al. Profiling of lung microbiota discloses differences in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Sci. Rep.* 2019;9(1):12838. DOI: 10.1038/s41598-019-49195-w.
 40. Dumont-Leblond N., Veillette M., Racine C., Joubert P., Duchaine C. Non-small cell lung cancer microbiota characterization: Prevalence of enteric and potentially pathogenic bacteria in cancer tissues. *PLoS One.* 2021;16(4):e0249832. DOI: 10.1371/journal.pone.0249832.
 41. Zheng L., Sun R., Zhu Y., Li Z., She X., Jian X. et al. Lung microbiome alterations in NSCLC patients. *Sci. Rep.* 2021;11(1):11736–11747. DOI: 10.1038/s41598-021-91195-2.
 42. Druzhinin V.G., Matskova L.V., Demenkov P.S., Baranova E.D., Volobaev V.P., Minina V.I. et al. Taxonomic diversity of sputum microbiome in lung cancer patients and its relationship with chromosomal aberrations in blood lymphocytes. *Sci. Rep.* 2020;10(1):9681–9684. DOI: 10.1038/s41598-020-66654-x.
 43. Ma Y., Qiu M., Wang S., Meng S., Yang F., Jiang G. Distinct tumor bacterial microbiome in lung adenocarcinomas manifested as radiological subsolid nodules. *Translational Oncology.* 2021;14(6):101050. DOI: 10.1016/j.tranon.2021.101050.
 44. Belkaid Y., Hand T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014;157(1):121–141. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
 45. Quigley E.M.M. Microbiota-brain-gut axis and neurodegenerative diseases. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2017;17(12):94–103. DOI: 10.1007/s11910-017-0802-6.
 46. Arab J.P., Martin-Mateos R.M., Shah V.H. Gut–liver axis, cirrhosis and portal hypertension: the chicken and the egg.

- Hepatol. Int.* 2018;12(S1):24–33. DOI: 10.1007/s12072-017-9798-x.
47. Salem I., Ramser A., Isham N., Ghannoum M.A. The gut microbiome as a major regulator of the gut-skin axis. *Front. Microbiol.* 2018;9:1459. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01459.
 48. Багиров Н.С., Петухов И.Н., Дмитриев Н.В., Григорьевская З.В. Микробиом и рак: есть ли связь? Обзор литературы. *Злокачественные опухоли.* 2018;3s1:56–69. DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s1-56-69.
 49. Jafari B., Khavari Nejad R.A., Vaziri F., Siadat S.D. Evaluation of the effects of extracellular vesicles derived from *Faecalibacterium prausnitzii* on lung cancer cell line. *Biologia.* 2019;74(7):889–898. DOI: 10.2478/s11756-019-00229-8.
 50. Honda K., Littman D.R. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature.* 2016;535(7610):75–84. DOI: 10.1038/nature18848.
 51. Ubags N.D.J., Marsland B.J. Mechanistic insight into the function of the microbiome in lung diseases. *Eur. Respir. J.* 2017;50(3):1602467–1602479. DOI: 10.1183/13993003.02467-2016.
 52. Huffnagle G.B., Dickson R.P., Lukacs N.W. The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street. *Mucosal. Immunol.* 2017;10(2):299–306. DOI: 10.1038/mi.2016.108.
 53. Scales B.S., Dickson R.P., Huffnagle G.B. A tale of two sites: how inflammation can reshape the microbiomes of the gut and lungs. *J. Leukoc. Biol.* 2016;100(5):943–950. DOI: 10.1189/jlb.3MR0316-106R.
 54. Suuring M., Moreau A. Regulatory macrophages and tolerogenic dendritic cells in myeloid regulatory cell-based therapies. *IJMS.* 2021;22(15):7970–7997. DOI: 10.3390/ijms22157970.
 55. Nanno M., Shiohara T., Yamamoto H., Kawakami K., Ishikawa H. Gammadelta T cells: firefighters or fire boosters in the front lines of inflammatory responses. *Immunological Reviews.* 2007;215:103–113. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2006.00474.x.
 56. Nembrini C., Sichelstiel A., Kisielow J., Kurrer M., Kopf M., Marsland B.J. Bacterial-induced protection against allergic inflammation through a multicomponent immunoregulatory mechanism. *Thorax.* 2011;66(9):755–763. DOI: 10.1136/thx.2010.152512.
 57. Ege M.J., Mayer M., Normand A.C., Genuneit J., Cookson W.O.C.M., Braun-Fahrlander C. et al. 22 Study Group. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *The New England Journal of Medicine.* 2011;364(8):701–709. DOI: 10.1056/NEJMoa1007302.
 58. Stein M.M., Hrusch C.L., Gozdz J., Igartua C., Pivniouk V., Murray S.E. et al. Innate immunity and asthma risk in amish and hutterite farm children. *The New England Journal of Medicine.* 2016;375(5):411–421. DOI: 10.1056/NEJMoa1508749.
 59. Remot A., Descamps D., Noordine M.L., Boukadiri A., Mathieu E., Robert V. et al. Bacteria isolated from lung modulate asthma susceptibility in mice. *The ISME Journal.* 2017;11(5):1061–1074. DOI: 10.1038/ismej.2016.181.
 60. Gollwitzer E.S., Saglani S., Trompette A., Yadava K., Sherburn R., McCoy K.D. et al. Lung microbiota promotes tolerance to allergens in neonates via PD-L1. *Nature Medicine.* 2014;20(6):642–647. DOI: 10.1038/nm.3568.
 61. Schuijs M.J., Willart M.A., Vergote K., Gras D., Deswarte K., Ege M.J. et al. Farm dust and endotoxin protect against allergy through A20 induction in lung epithelial cells. *Science.* 2015;349(6252):1106–1110. DOI: 10.1126/science.aac6623.
 62. Захарова И.Н., Касьянова А.Н., Климов Л.Я. Курьянинова В.А., Симакова М.А., Дедикова О.В. и др. Микробиом респираторного тракта: что известно сегодня? *Педиатрия (Прил. к журн. Consilium Medicum).* 2018;4:10–17. DOI: 10.26442/24138460.2018.4.180129.

Информация об авторах

Буслаев Владислав Юрьевич – аспирант, инженер-технолог, ФИЦ УУХ СО РАН, г. Кемерово, vladislasbus2358@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5566-5323>

Минина Варвара Ивановна – д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой генетики и фундаментальной медицины, КемГУ, г. Кемерово, vminina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3485-9123>

Мацкова Людмила Валентиновна – д-р биол. наук, профессор-исследователь, отдел микробиологии и биотехнологии, Институт живых систем, БФУ им. И. Канта, г. Калининград, liudmila.matskova@ki.se, <http://orcid.org/0000-0002-3174-1560>

✉ **Буслаев Владислав Юрьевич**, vladislasbus2358@yandex.ru

Поступила в редакцию 17.01.2022;
одобрена после рецензирования 04.03.2022;
принята к публикации 19.03.2022

УДК 616.12-008.46:612.173.4
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-113-120>

Диастолическая сердечная недостаточность: границы применения термина

Калюжин В.В.¹, Тепляков А.Т.², Беспалова И.Д.¹, Калюжина Е.В.¹, Черногорюк Г.Э.¹, Терентьева Н.Н.³, Гракова Е.В.², Копьева К.В.², Усов В.Ю.², Гарганеева Н.П.¹, Павленко О.А.¹, Горелова Ю.В.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111

³ Сургутский государственный университет (СурГУ)
Россия, 628412, г. Сургут, пр. Ленина, 1

РЕЗЮМЕ

Начало тысячелетия ознаменовалось важными изменениями, касающимися представлений о патогенезе хронической сердечной недостаточности (ХСН), а его первое десятилетие стали именовать декадой диастологии. Однако несмотря на многочисленные работы, в которых было убедительно доказано, что ухудшение наполнения левого желудочка (ЛЖ) нередко предшествует нарушению его систолической функции и целый ряд факторов воздействует (особенно в дебюте) преимущественно на диастолическую функцию сердца, не изменяя условия выброса крови, современные классификации и подходы к терапии ХСН в первую очередь основаны на результатах оценки значения фракции выброса (ФВ) ЛЖ.

В последние годы о диастолической сердечной недостаточности (ДСН) нередко незаслуженно забывают, подменяя неравнозначным термином «ХСН с сохраненной ФВ». Вместе с тем иногда приходится сталкиваться с расширенным применением термина ДСН авторами, исходящими из того, что ХСН, в основе которой лежит миокардиальная недостаточность, развивается только по двум механизмам (систолическая и (или) диастолическая дисфункция) и простое исключение первого может без оговорок рассматриваться в качестве подтверждения второго. Термин ДСН имеет право на применение в клинической практике и не может быть заменен диагностическим заключением «ХСН с сохраненной ФВ», так как последняя является более широким понятием, охватывающим весь спектр заболеваний сердечно-сосудистой системы, осложняющихся развитием ХСН без депрессии глобальной контрактильной функции ЛЖ и требующих применения дифференцированных подходов к терапии. К тому же результаты повторных исследований значения ФВ ЛЖ у многих пациентов могут потребовать реклассификации этого фенотипа ХСН, установленного на основании анализа исходной величины обсуждаемого индикатора глобальной сократимости ЛЖ. Авторы лекции присоединяются к известному призыву M.R. Zile прекратить дискриминацию термина ДСН и представляют границы его корректного применения.

Ключевые слова: левый желудочек, систола, диастола, сердечная недостаточность с сохраненной фракцией выброса, диастолическая сердечная недостаточность, диастология, визуализация сердца

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.

✉ Калюжин Вадим Витальевич, kalyuzhinvv@mail.ru

Для цитирования: Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Черногорюк Г.Э., Терентьева Н.Н., Гракова Е.В., Копьева К.В., Усов В.Ю., Гарганеева Н.П., Павленко О.А., Горелова Ю.В. Диастолическая сердечная недостаточность: границы применения термина. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):113–120. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-113-120>.

Diastolic heart failure: boundaries of term application

Kalyuzhin V.V.¹, Teplyakov A.T.², Beshpalova I.D.¹, Kalyuzhina E.V.¹, Chernogoryuk G.E.¹, Terentyeva N.N.³, Grakova E.V.², Kopeva K.V.², Usov V.Yu.², Garganeeva N.P.¹, Pavlenko O.A.¹, Gorelova Yu.V.¹

¹ Siberian State Medical University (SibMed)
2, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russia

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС), Russian Academy of Sciences (RAS)
111, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russia

³ Surgut State University (SurGU)
1, Lenina Av., Surgut, 628412, Russia

ABSTRACT

Important changes regarding the understanding of the pathogenesis of chronic heart failure (CHF) marked the beginning of the millennium, and its first decade was called the decade of diastology. Even though numerous studies convincingly proved that deterioration of the left ventricular (LV) filling pressure often precedes impairment of its systolic function and a number of factors affect (especially at the onset) mainly the diastolic function without changing the conditions of blood ejection, modern classifications and approaches to CHF treatment are primarily based on the results of LV ejection fraction (EF) assessment.

In recent years, diastolic heart failure (DHF) has been often overlooked and replaced by the ambiguous term “CHF with preserved EF”. However, sometimes authors use the term DHF extensively, since CHF based on myocardial insufficiency develops only via two mechanisms (systolic and / or diastolic dysfunction), and excluding one of the mechanisms allows to identify the underlying one. The term DHF can be used in clinical practice and cannot be replaced by the diagnosis of CHF with preserved EF. CHF with preserved EF is a broader concept which includes a full spectrum of cardiovascular diseases, complicated by the development of CHF without depression of the global LV contractility and requiring differentiated approaches to therapy. In addition, the results of repeated studies on LVEF in many patients may require reclassification of this CHF phenotype, which is established following the analysis of the baseline value of global LV contractility. We join M.R. Zile in the appeal to stop discriminating against the term “DHF” and present the boundaries of its correct application.

Keywords: left ventricle, systole, diastole, heart failure with preserved ejection fraction, diastolic heart failure, diastology, visualization of the heart

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., Chernogoryuk G.E., Terentyeva N.N., Grakova E.V., Kopeva K.V., Usov V.Yu., Garganeeva N.P., Pavlenko O.A., Gorelova Yu.V. Diastolic heart failure: boundaries of term application. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):113–120. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-113-120>.

ВВЕДЕНИЕ

История изучения хронической сердечной недостаточности (ХСН) и концептуальной интерпретации ее патогенеза уходит в далекое прошлое. Несмотря на то, что ведущие кардиологи Старого и Нового Света многократно предпринимали попытки дать развернутое определение ХСН, ни одна дефиниция не стала общепринятой. На наш взгляд, наибольшего внимания заслуживает лапидарное и вместе с тем содержательное определение экспертов Американской коллегии кардиологов и Американской ассоциации сердца, суть которого практически не изменилась с 2001 г.: «...сложный клинический синдром, который может быть вызван любым структурным или функциональным заболеванием сердца, нарушающим способность желудочка наполняться кровью или изгонять ее» [1].

В представленном определении просматриваются два важных положения. Во-первых, авторы так же, как и эксперты Европейского кардиологического общества [2], справедливо рассматривают ХСН не как самостоятельную нозологическую форму (болезнь), а как синдром, что побуждает врача к принципиальной для корректной формулировки диагностического заключения и выбора терапии идентификации причины, лежащей в основе сердечной недостаточности в каждом клиническом случае [3, 4]. Во-вторых, в определении четко обозначены ключевые механизмы миокардиальной недостаточности: инотропная и луситропная дисфункция желудочков. При этом союз «или» фактически служит подтверждением признания существования диастолической сердечной недостаточности (ДСН).

О последней известно давно, и у думающих и сомневающихся исследователей есть отчетливое понимание того, что так называемые диастолические маркеры подчас точнее систолических отражают функциональное состояние миокарда и его резерв, а также надежнее других гемодинамических параметров могут быть использованы для оценки клинического статуса пациента с ХСН, эффективности терапии и прогноза [5–13].

Начало тысячелетия ознаменовалось важными изменениями, касающимися представлений о патогенезе ХСН, а его первое десятилетие стали именовать декадой диастологии [8, 14]. Тем не менее, несмотря на многочисленные работы, в которых было убедительно доказано, что ухудшение наполнения левого желудочка (ЛЖ) нередко предшествует нарушению его систолической функции и целый ряд факторов воздействует (особенно в дебюте) преимущественно на диастолическую функцию сердца, не изменяя условия выброса крови [12, 15–20], совре-

менные классификации и подходы к терапии ХСН в первую очередь основаны на результатах оценки значения фракции выброса (ФВ) ЛЖ [1, 2, 21].

В последние годы о ДСН незаслуженно забывают, подменяя неравнозначными терминами, основанными на результате определения значения ФВ ЛЖ (например, «ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ») [1, 2, 22–24]. Вместе с тем иногда приходится сталкиваться с расширенным применением термина ДСН авторами, исходящими из того, что ХСН, в основе которой лежит миокардиальная недостаточность, развивается только по двум механизмам (систолическая и (или) диастолическая дисфункция) и простое исключение первого может без оговорок рассматриваться в качестве подтверждения второго [22, 25–28].

Целью настоящей лекции является рассмотрение взглядов на границы корректного применения термина «диастолическая сердечная недостаточность».

СИСТОЛИЧЕСКАЯ И ДИАСТОЛИЧЕСКАЯ ДИСФУНКЦИЯ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА

Систолическая (от греч. systolé – сокращение) дисфункция ЛЖ, которая лежит в основе классической систолической сердечной недостаточности, характеризуется депрессией его контрактильной способности. Традиционно ХСН ассоциируют с депрессией глобальной систолической функции ЛЖ, индикатором которой служит снижение значения фракции выброса (ФВ) ЛЖ [1, 2, 21, 29].

В целом чем ниже значение ФВ (доля объема ЛЖ, которая в отсутствие аномального сброса крови в систолу выбрасывается в аорту), тем качество жизни и прогноз хуже [1, 2, 21, 22]. Вместе с тем степень выраженности клинических проявлений сердечной недостаточности у пациентов с систолической дисфункцией ЛЖ не всегда зависит только от значения ФВ. Пациенты с очень низкой ФВ могут не иметь симптомы и признаки сердечной недостаточности, в то время как у больных с сохраненной ФВ ЛЖ подчас можно обнаружить тяжелую декомпенсацию [1, 22]. Отмечаемое многими авторами несоответствие степени выраженности клинических проявлений сердечной недостаточности уровню депрессии глобальной сократимости ЛЖ может быть отчасти объяснено наличием клапанной патологии, поражением перикарда, изменениями условий нагрузки (пред- и постнагрузки), нарушениями ритма и проводимости или первичной патологией правого желудочка. Манифестация ХСН во многом зависит от наличия и типа диастолической дисфункции ЛЖ, а также эффективности гемодинамических и нейрогуморальных компенсаторно-приспособительных механизмов [16, 21, 30].

Напомним, что развитие ХСН в первую очередь связано с ослаблением насосной функции сердца и нормальное значение ФВ ЛЖ (систолическая функция), точное вычисление которого к тому же во многом зависит от выбора визуализирующего метода и способа его расчета, а также от навыков оператора, не является надежным индикатором интактного сердечного выброса (насосная функция ЛЖ). Так, например, ФВ ЛЖ не всегда корректно отражает тяжесть глобальной систолической дисфункции при первичных и вторичных формах клапанной регургитации, которая с удручающим постоянством обнаруживается у пациентов с ХСН. В таких случаях относительная сохранность ФВ может сочетаться с депрессией насосной функции ЛЖ (обратный ток крови приводит к снижению ударного объема) и вовсе не исключает систолической дисфункции, признаки которой могут выявляться с помощью более информативных методов и методик визуализации, в частности магнитно-резонансной томографии и технологии «след пятна» (Speckle Tracking Imaging – 2D/3D Strain) [21, 31–36].

Термин «сердечная недостаточность с сохраненной (нормальной) систолической функцией ЛЖ»

обычно применяют для обозначения ситуации с клинически выраженной сердечной недостаточностью и отсутствием выраженного снижения значения ФВ ЛЖ. Тем не менее с учетом высказанных выше соображений, касающихся точности оценки значения ФВ, чаще всего определяемого с помощью двумерной эхокардиографии, при исключении контрактильной дисфункции ЛЖ лучше воспользоваться термином «сердечная недостаточность с сохраненной ФВ», нежели «сердечная недостаточность с сохраненной (нормальной) систолической функцией ЛЖ» [1, 21].

Повторимся, классификация фенотипов ХСН базируется на результатах оценки значения ФВ ЛЖ [2]. Однако ФВ ЛЖ даже в состоянии относительного покоя не относится к жестким биологическим константам и может меняться при повторных исследованиях одним оператором в ту или иную сторону спонтанно или под влиянием лечения вне зависимости от исходного фенотипа ХСН, установленного на основании анализа величины этого показателя, что очевидно требует реклассификации сердечной недостаточности, исходя из траектории значения обобщаемого индикатора глобальной контрактильной активности ЛЖ (рисунок) [1, 37].

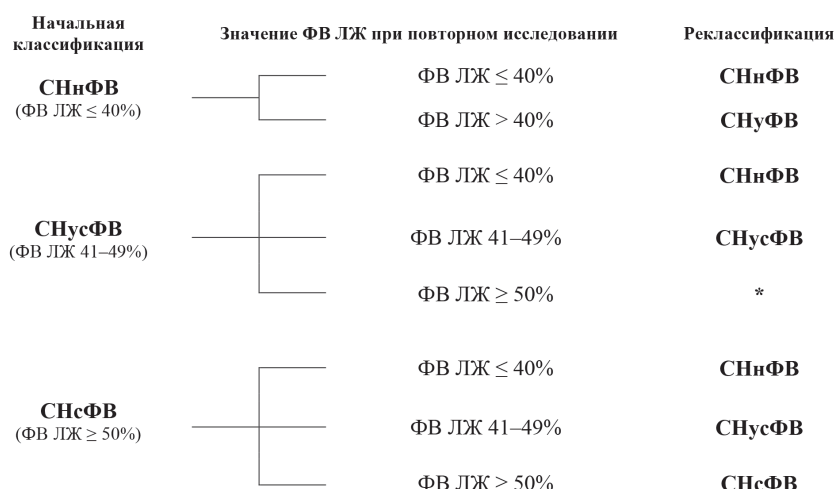


Рисунок. Классификация и реклассификация фенотипов ХСН [1]: СНнФВ – ХСН со сниженной ФВ ЛЖ; СНусФВ – ХСН с умеренно сниженной ФВ ЛЖ; СНсФВ – ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ; СНуФВ – ХСН с улучшившейся ФВ ЛЖ; * фенотип ХСН не имеет общепризнанного обозначения

Под *диастолической* (от греч. diastolé – растяжение) дисфункцией ЛЖ чаще всего понимают такое патологическое состояние, когда желудочек не может принимать кровь под низким давлением и наполняться без компенсаторного повышения давления в предсердии (среднее давление в легочных венах в состоянии покоя в норме не превышает 12 мм рт. ст.) вследствие нарушения активного расслабления миокарда и (или) ухудшения податливо-

сти его стенки [5, 38, 39]. Термин «диастолическая дисфункция» применяется для обозначения нарушений активных и (или) пассивных механических свойств целого желудочка (общая диастолическая дисфункция) или его сегментов (локальная диастолическая дисфункция) в диастолу независимо от того, нормально ли значение ФВ или снижено, а также существуют или нет признаки сердечной недостаточности [6, 19, 38, 40–42].

Так, например, если у пациента с гипертонической болезнью без симптомов и признаков сердечной недостаточности эхокардиографическое исследование демонстрирует нормальное значение ФВ и хорошо описанные в современных руководствах признаки диастолической дисфункции ЛЖ [12, 13, 43–46], то такое состояние обозначают как бессимптомная диастолическая дисфункция [47, 48]. Если такого пациента с изолированной диастолической дисфункцией ЛЖ начинают беспокоить одышка, утомляемость и сердцебиение, при физическом исследовании обнаруживаются признаки ХСН, а лабораторное тестирование демонстрирует повышенный уровень натрийуретических пептидов, то мы вправе использовать термин ДСН [6, 38, 40, 49–53].

Таким образом, полностью ассоциировать понятие «диастолическая дисфункция» и ДСН нельзя: ДСН всегда включает в себя диастолическую дисфункцию, но присутствие последней еще не свидетельствует о наличии первой [6, 47, 48]. Иными словами, термином «диастолическая дисфункция» описываются нарушения биомеханики сердца в диастолу, тогда как термин «ДСН» применяют для представления синдрома сердечной недостаточности у пациента с изолированной диастолической дисфункцией [40].

Традиционно признается существование первичной ДСН, тогда как считается, что систолическая дисфункция с завидным постоянством возникает на фоне диастолической дисфункции. Патология диастолического расслабления обычно предшествует нарушению систолы, которое присоединяется позднее (нарушение наполнения рано или поздно негативно отразится на эффективности систолы), но именно появление систолической дисфункции (в дополнение к диастолическим расстройствам) часто манифестирует клиническую картину сердечной недостаточности [6, 16].

У многих больных с классической систолической формой ХСН обнаруживаются также и признаки диастолической дисфункции [6, 16, 30]. Естественно, в таком случае о ДСН не говорят, однако с учетом самостоятельного клинического и прогностического значения инотропной и люситропной дисфункции ЛЖ в диагностическом заключении следует отразить факт «смешанной» сердечной недостаточности, например «ХСН со сниженной ФВ ЛЖ (38%) и рестриктивным типом диастолической дисфункции ЛЖ» [4, 42].

ГРАНИЦЫ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕРМИНА

Требуется ответить на вопрос, который задают многие клиницисты [26, 27]: является ли сердечная недостаточность с сохраненной ФВ синонимом ДСН? Действительно, если у пациента с манифест-

ной ХСН систолическая функция ЛЖ сохранена, логично предположить, что в основе развития такой сердечной недостаточности должна лежать диастолическая дисфункция ЛЖ. Однако, несмотря на внешнюю обоснованность, подобное умозаключение может быть ошибочным и подвергается резонансной критике [28].

На наш взгляд, известные технические ограничения возможности точной неинвазивной количественной оценки диастолической функции ЛЖ [54, 55] не являются безапелляционным поводом для того, чтобы полностью отказаться от диагноза ДСН в пользу более широкого понятия «сердечная недостаточность с сохраненной ФВ». При этом для аргументированного заключения о ДСН у пациента с объективными признаками ХСН и сохраненной ФВ ЛЖ необходимо исключить все остальные кардиальные и экстракардиальные причины, которые могут приводить к развитию «нормосистолической» сердечной недостаточности (в частности, легочное сердце, стеноз легочной артерии, первичная трикуспидальная недостаточность), с одной стороны, и подтвердить наличие диастолической дисфункции ЛЖ (в том числе и при выполнении так называемого диастолического стресс-теста) – с другой [26, 28, 56].

Под определение диастолической дисфункции ЛЖ не попадают пациенты с митральным стенозом, у которых нарушение заполнения ЛЖ и повышение давления в левом предсердии обусловлено механическим препятствием току крови на уровне левого предсердно-желудочкового клапана [6]. Аналогичное суждение можно сделать и по отношению к некоторым другим заболеваниям, сердечная недостаточность при которых развивается из-за нарушения наполнения ЛЖ, вызванного «внешними» причинами (констриктивный перикардит, выпот в сердечную сорочку) [22, 26]. Поскольку при этой патологии нарушение расслабления миокарда ЛЖ и (или) повышение миокардиальной жесткости исходно отсутствуют, после своевременной коррекции (например, вальвулотомии или эффективного удаления перикардиального выпота) ЛЖ вновь обретает способность принимать кровь под низким давлением и наполняться без компенсаторного повышения давления в левом предсердии [22].

Таким образом, следует различать сердечную недостаточность, которая развилась вследствие первичного нарушения активного расслабления миокарда желудочка и (или) ухудшения податливости его стенки, от таковой, когда нарушение наполнения сердца, лежащее в ее основе, не является результатом диастолической дисфункции миокарда ЛЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Термин «диастолическая сердечная недостаточность» имеет право на применение в клинической практике и не может быть заменен равнозначным диагностическим заключением «ХСН с сохраненной ФВ ЛЖ», так как последняя является более широким понятием, охватывающим весь спектр заболеваний сердечно-сосудистой системы, осложняющихся развитием ХСН без депрессии глобальной контрактильной функции ЛЖ и требующих применения дифференцированных подходов к терапии. К тому же результаты повторных исследований значения ФВ ЛЖ у многих пациентов могут потребовать реклассификации этого фенотипа ХСН, установленного на основании анализа исходной величины обсуждаемого индикатора глобальной сократимости ЛЖ. Присоединяемся к известному призыву M.R. Zile [26] прекратить дискриминацию термина «диастолическая сердечная недостаточность». Однако при этом необходимо ясно понимать границы корректного применения термина.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Heidenreich P.A., Bozkurt B., Aguilar D., Allen L.A., Byun J.J., Colvin M.M. et al. 2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2022;Apr.1:101161CIR0000000000001062. DOI: 10.1161/CIR.0000000000001062.
2. McDonagh T.A., Metra M., Adamo M., Gardner R.S., Baumbach A., Böhm M. et al. ESC Scientific Document Group. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur. Heart J.* 2021;42(36):3599–3726. DOI: 10.1093/eurheartj/ehab368.
3. 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.
4. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Беспалова И.Д., Калюжина Е.В., Останко В.Л., Терентьева Н.Н. и др. Корректная формулировка диагноза у пациента с хронической сердечной недостаточностью: реальность или несбыточная мечта? *Бюллетень сибирской медицины*. 2020;19(3):128–136. DOI: 10.20538/1682-0363-2020-3-128–136.
5. Warren S.E., Grossman W. Prognosis in heart failure: is systolic or diastolic dysfunction more important? *Herz*. 1991;16(1):324–329.
6. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Знакомьтесь: диастолическая сердечная недостаточность. *Журнал сердечная недостаточность*. 2000;1(2):40–44
7. Агеев Ф.Т. Современная концепция диастолической сердечной недостаточности. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2010;9(7):97–104.
8. Tajik A.J., Jan M.F. The heart of the matter: prime time E/e' prime! *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2014;7(8):759–761. DOI: 10.1016/j.jcmg.2014.05.003.
9. Ladeiras-Lopes R., Araújo M., Sampaio F., Leite-Moreira A., Fontes-Carvalho R. The impact of diastolic dysfunction as a predictor of cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *Rev. Port. Cardiol. (Engl. Ed.)*. 2019;38(11):789–804. DOI: 10.1016/j.repc.2019.03.007.
10. Daubert M.A. Diastolic function in heart failure with reduced ejection fraction: The overlooked prognosticator? *JACC Heart Fail.* 2019;7(9):818–820. DOI: 10.1016/j.jchf.2019.06.005.
11. Ge H. Is diastolic dysfunction a new windsock in the risk stratification of patients with coronary heart disease? *Int. J. Cardiol.* 2022;346:103–104. DOI: 10.1016/j.ij-card.2021.11.037.
12. Dal Canto E., Remmelzwaal S., van Ballegooijen A.J., Handoko M.L., Heymans S., van Empel V. et al. Diagnostic value of echocardiographic markers for diastolic dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction. *Heart Fail. Rev.* 2022;27(1):207–218. DOI: 10.1007/s10741-020-09985-1.
13. Yang M., Zhang R., Tang H., Li G., Guan X., Yang Y. et al. E/E' is a new independent predictor of recovered ejection fraction in patients with systolic heart failure undergoing ablation for atrial fibrillation. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022;8:707996. DOI: 10.3389/fcvm.2021.707996.
14. Lester S.J., Tajik A.J., Nishimura R.A., Oh J.K., Khandheria B.K., Seward J.B. Unlocking the mysteries of diastolic function: deciphering the Rosetta Stone 10 years later. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008;51(7):679–689. DOI: 10.1016/j.jacc.2007.09.061.
15. Беленков Ю.Н. Роль нарушений систолы и диастолы в развитии сердечной недостаточности. *Терапевтический архив*. 1994;6(9):3–7.
16. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Соловцов М.А. Роль систолической и диастолической дисфункции ЛЖ в клинической манифестации хронической сердечной недостаточности у больных, перенесших инфаркт миокарда. *Терапевтический архив*. 2002;74(12):15–18.
17. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Рязанцева Н.В., Вечерский Ю.Ю., Хлапов А.П., Колесников Р.Н. Диастола сердца. Физиология и клиническая патофизиология. Томск: Изд-во ТПУ, 2007:212.
18. Nishimura R.A., Borlaug B.A. Diastology for the clinician. *J. Cardiol.* 2019;73(6):445–452. DOI: 10.1016/j.jcc.2019.03.002.
19. Obokata M., Reddy Y.N.V., Borlaug B.A. Diastolic dysfunction and heart failure with preserved ejection fraction: understanding mechanisms by using noninvasive methods. *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2020;13(1Pt2):245–257. DOI: 10.1016/j.jcmg.2018.12.034.
20. Ibrahim E.H., Dennison J., Frank L., Stojanovska J. Diastolic cardiac function by MRI-Imaging capabilities and clinical applications. *Tomography*. 2021;7(4):893–914. DOI: 10.3390/tomography7040075.
21. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Беграмбекова Ю.Л., Васюк Ю.А., Гарганеева А.А. и др. Клинические рекомендации ОССН – РКО – PHMOT. Сердечная недоста-

- точность: хроническая (ХЧН) и острая декомпенсированная (ОДЧН). Диагностика, профилактика и лечение. *Кардиология*. 2018;58(6):8–161. DOI:10.18087/cardio.2475.
22. Калюжин В.В., Тепляков А.Т., Калюжин О.В. Сердечная недостаточность. М.: Медицинское информационное агентство, 2018:376.
 23. Katsi V., Georgiopoulos G., Laina A., Koutli E., Parisi J., Tsioufis C. et al. Left ventricular ejection fraction as therapeutic target: is it the ideal marker? *Heart Fail. Rev.* 2017;22(6):641–655. DOI: 10.1007/s10741-017-9624-5.
 24. Mureddu G.F., Faggiano A. Utility and limitations of ejection fraction and of diastolic dysfunction in heart failure patients. *Monaldi Arch. Chest Dis.* 2019;89(1). DOI: 10.4081/monaldi.2019.1058.
 25. Andrew P. Diastolic heart failure demystified. *Chest.* 2003;124(2):744–753. DOI: 10.1378/chest.124.2.744.
 26. Zile M.R. Heart failure with preserved ejection fraction: is this diastolic heart failure? *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003;41(9):1519–1522. DOI: 10.1016/s0735-1097(03)00186-4.
 27. Kessler K.M. Is diastolic heart failure synonymous with heart failure with preserved ejection fraction? *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003;42(7):1335–1336. DOI: 10.1016/s0735-1097(03)00997-5.
 28. Беленков Ю.Н., Овчинников А.Г. Должны ли мы лечить диастолическую сердечную недостаточность так же, как и систолическую? *Журнал сердечная недостаточность*. 2004;5(4):116–121.
 29. Kass D.A. Systolic dysfunction in heart failure, in: heart failure: A companion to Braunwald's heart disease. Elsevier, 2020:36–150.e4. DOI: 10.1016/b978-0-323-60987-6.00010-7.
 30. Dandel M., Hetzer R. Ventricular systolic dysfunction with and without altered myocardial contractility: Clinical value of echocardiography for diagnosis and therapeutic decision-making. *Int. J. Cardiol.* 2021;327:236–250. DOI: 10.1016/j.ijcard.2020.11.068.
 31. Packer M., Grayburn P.A. New evidence supporting a novel conceptual framework for distinguishing proportionate and disproportionate functional mitral regurgitation. *JAMA Cardiol.* 2020;5(4):469–475. DOI: 10.1001/jamacardio.2019.5971.
 32. Marwick T.H., Shah S.J., Thomas J.D. Myocardial strain in the assessment of patients with heart failure: a review. *JAMA Cardiol.* 2019;4(3):287–294. DOI: 10.1001/jamacardio.2019.0052.
 33. El Torto A., Guaricci A.I., Pomarico F., Guglielmo M., Fusini L., Monitillo F. et al. Advances in multimodality cardiovascular imaging in the diagnosis of heart failure with preserved ejection fraction. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022;9:758975. DOI: 10.3389/fcvm.2022.758975.
 34. Chacon-Portillo M.A., Acharya T., Janardhanan R. Imaging in heart failure with preserved ejection fraction: insights into echocardiography and cardiac magnetic resonance imaging. *Rev. Cardiovasc. Med.* 2021;22(1):11–24. DOI: 10.31083/j.rcm.2021.01.134.
 35. Barison A., Aimo A., Todiere G., Grigoratos C., Aquaro G.D., Emdin M. Cardiovascular magnetic resonance for the diagnosis and management of heart failure with preserved ejection fraction. *Heart Fail. Rev.* 2022;27(1):191–205. DOI: 10.1007/s10741-020-09998-w.
 36. Morariu V.I., Arnautu D.A., Morariu S.I., Popa A.M., Parvanescu T., Andor M. et al. 2D speckle tracking: a diagnostic and prognostic tool of paramount importance. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2022;26(11):3903–3910. DOI: 10.26355/eurev.202206.28958.
 37. Bozkurt B., Coats A.J.S., Tsutsui H., Abdelhamid C.M., Adamopoulos S., Albert N. et al. Universal definition and classification of heart failure: a report of the Heart Failure Society of America, Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, Japanese Heart Failure Society and Writing Committee of the Universal Definition of Heart Failure: Endorsed by the Canadian Heart Failure Society, Heart Failure Association of India, Cardiac Society of Australia and New Zealand, and Chinese Heart Failure Association. *Eur. J. Heart Fail.* 2021;23(3):352–380. DOI: 10.1002/ehf.2115.
 38. Zile M.R., Baicu C.F., Gaasch W.H. Diastolic heart failure – abnormalities in active relaxation and passive stiffness of the left ventricle. *N. Engl. J. Med.* 2004;350(19):1953–1959. DOI: 10.1056/NEJMoa032566.
 39. Budde H., Hassoun R., Mügge A., Kovács Á., Hamdani N. Current understanding of molecular pathophysiology of heart failure with preserved ejection fraction. *Front. Physiol.* 2022;13:928232. DOI: 10.3389/fphys.2022.928232.
 40. Zile M.R., Brutsaert D.L. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part I: diagnosis, prognosis, and measurements of diastolic function. *Circulation.* 2002;105(11):1387–1393. DOI: 10.1161/hc1102.105289.
 41. Sousa C. Assessment of diastolic function: How much more evidence do we need? *Rev. Port. Cardiol. (Engl. Ed.)*. 2019;38(11):805–807. DOI: 10.1016/j.repc.2020.01.003.
 42. Rabkin S.W. Heart failure with reduced ejection fraction and diastolic dysfunction (HrEFwDD): Time for a new clinical entity. *Int. J. Cardiol.* 2022;363:123–124. DOI: 10.1016/j.ijcard.2022.06.056.
 43. Nagueh S.F., Smiseth O.A., Appleton C.P., Byrd B.F. 3rd, Dokainish H., Edvardsen T. et al. Houston, Texas; Oslo, Norway; Phoenix, Arizona; Nashville, Tennessee; Hamilton, Ontario, Canada; Uppsala, Sweden; Ghent and Liège, Belgium; Cleveland, Ohio; Novara, Italy; Rochester, Minnesota; Bucharest, Romania; and St. Louis, Missouri. Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur. Heart J. Cardiovasc. Imaging.* 2016;17(12):1321–1360. DOI: 10.1093/ehjci/jew082.
 44. Pieske B., Tschöpe C., de Boer R.A., Fraser A.G., Anker S.D., Donal E. et al. How to diagnose heart failure with preserved ejection fraction: the HFA-PEFF diagnostic algorithm: a consensus recommendation from the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. J. Heart Fail.* 2020;22(3):391–412. DOI: 10.1002/ehf.1741.
 45. Ashkir Z., Myerson S., Neubauer S., Carlhäll C.J., Ebberts T., Raman B. Four-dimensional flow cardiac magnetic resonance assessment of left ventricular diastolic function. *Front. Cardiovasc. Med.* 2022;9:866131. DOI: 10.3389/fcvm.2022.866131.
 46. Hagendorff A., Stöbe S., Kandels J., de Boer R., Tschöpe C. Diagnostic role of echocardiography for patients with heart fail-

- ure symptoms and preserved left ventricular ejection fraction. *Herz*. 2022;47(4):293–300. DOI: 10.1007/s00059-022-05118-6.
47. Young K.A., Scott C.G., Rodeheffer R.J., Chen H.H. Incidence of preclinical heart failure in a community population. *J. Am. Heart Assoc.* 2022;11(15):e025519. DOI: 10.1161/JAHA.122.025519.
 48. Wenzel J.P., Kellen R.B., Magnussen C., Blankenberg S., Schrage B., Schnabel R. et al. Diastolic dysfunction in individuals with and without heart failure with preserved ejection fraction. *Clin. Res. Cardiol.* 2022;111(4):416–427. DOI: 10.1007/s00392-021-01907-x.
 49. Vasan R.S., Levy D. Defining diastolic heart failure: a call for standardized diagnostic criteria. *Circulation*. 2000;101(17):2118–2121. DOI: 10.1161/01.cir.101.17.2118.
 50. Frigerio M., Aguggini G. Diastolic heart failure. *Ital. Heart J.* 2004;5(S.6):48S–54S.
 51. Останко В.Л., Калачева Т.П., Калюжина Е.В., Лившиц И.К., Шаловой А.А., Черногорюк Г.Э. и др. Биологические маркеры в стратификации риска развития и прогрессирования сердечно-сосудистой патологии: настоящее и будущее. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018;17(4):264–280. DOI: 10.20538/1682-0363-2018-4-264-280.
 52. Bayes-Genis A., Cediel G., Domingo M., Codina P., Santiago E., Lupón J. Biomarkers in heart failure with preserved ejection fraction. *Card. Fail. Rev.* 2022;8:e20. DOI: 10.15420/cfr.2021.37.
 53. Morfino P., Aimo A., Castiglione V., Vergaro G., Emdin M., Clerico A. Biomarkers of HFpEF: natriuretic peptides, high-sensitivity troponins and beyond. *J. Cardiovasc. Dev. Dis.* 2022;9(8):256. DOI: 10.3390/jcdd9080256.
 54. Litwin S.E., Zile M.R. Should we test for diastolic dysfunction? How and how often? *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2020;13(1Pt2):297–309. DOI: 10.1016/j.jcmg.2019.02.029.
 55. MacNamara J.P., Sarma S. Faltering under pressure: limitations to noninvasive diastolic function assessments. *J. Am. Heart Assoc.* 2021;10(18):e023189. DOI: 10.1161/JAHA.121.023189.
 56. Овчинников А.Г., Агеев Ф.Т., Алёхин М.Н., Беленков Ю.Н., Васюк Ю.А., Галявич А.С. и др. Диастолическая трансторакальная стресс-эхокардиография с дозированной физической нагрузкой в диагностике сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса: показания, методология, интерпретация результатов. Согласованное мнение экспертов, выработанное под эгидой ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» МЗ РФ, Общества специалистов по сердечной недостаточности (ОССН) и Российской ассоциации специалистов ультразвуковой диагностики в медицине (РАСУДМ). *Кардиология*. 2020;60(12):48–63. DOI: 10.18087/cardio.2020.12.n1219.

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, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии педиатрического факультета, СибГМУ, г. Томск, innadave@mail2000.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4513-6329>

Калюжина Елена Викторовна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, kalyuzhina.e@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7978-5327>

Черногорюк Георгий Эдинович – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск, chernogoryuk@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5780-6660>

Терентьева Надежда Николаевна – канд. мед. наук, доцент кафедры внутренних болезней СурГУ, г. Сургут, nadiater@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0462-3526>

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 кафедры общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск, garganeeva@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7353-7154>

Павленко Ольга Алексеевна – д-р мед. наук, профессор кафедры факультетской терапии с курсом клинической фармакологии, СибГМУ, г. Томск, pavlenko.51@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6766-3974>

Горелова Юнона Валериевна – канд. мед. наук, доцент 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 10.10.2022;
одобрена после рецензирования 28.10.2022;
принята к публикации 10.11.2022

УДК 616.98:578.834.1]-078

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-121-131>

Диагностика бактериальной инфекции у больных COVID-19: так ли все просто? (обзор литературы)

Кароли Н.А., Ребров А.П.

Саратовский государственный медицинский университет (СГМУ) им. В.И. Разумовского
Россия, 410012, г. Саратов, ул. Б. Казачья, 112

РЕЗЮМЕ

Проблема диагностики бактериальной инфекции у больных новой коронавирусной инфекцией (НКИ) представляет не такую простую задачу, как выглядит на первый взгляд. Имеющиеся данные свидетельствуют, что бактериальная инфекция у больных COVID-19 встречается редко и составляет менее 10%. При этом данные отдельных исследований и систематических обзоров свидетельствуют, что более 70% пациентов с НКИ получали антибактериальную терапию, преимущественно препараты широкого спектра и часто эмпирически, нередко до получения подтверждения НКИ. Таким образом, это широко распространенное эмпирическое использование антибиотиков не подтверждается данными о необходимости их применения.

В статье обсуждаются литературные данные о значимости общепринятых методов диагностики бактериальной инфекции с акцентом на лабораторное подтверждение ее наличия/отсутствия. В повседневной практике сочетание клинического течения болезни и результатов стандартных лабораторных исследований, данных методов визуализации являются ведущими в оценке вероятности бактериальной коинфекции у пациентов с COVID-19. Однако в условиях развития тропной к респираторной системе вирусной инфекции такой подход не всегда позволяет с достаточной степенью достоверности диагностировать бактериальную коинфекцию. Помочь в этом могут имеющиеся современные тест-системы, использование комбинации признаков или дополнительных лабораторных критериев (например, прокальцитонина), а также анализ врачом общей клинической картины заболевания с использованием знаний о группах риска пациентов.

Ключевые слова: COVID-19, бактериальная инфекция, диагностика

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: Кароли Н.А., Ребров А.П. Диагностика бактериальной инфекции у больных COVID-19: так ли все просто? (обзор литературы). *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):121–131. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-121-131>.

Diagnosis of bacterial infection in patients with COVID-19: is it a simple task? (literature review)

Karoli N.A., Rebrov A.P.

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky
112, Bolshaya Kazachya Str., Saratov, 410012, Russian Federation

ABSTRACT

Diagnosing bacterial infection in patients with novel coronavirus infection (COVID-19) is not an easy task. Available data suggest that bacterial infection in patients with COVID-19 is rare and occurs in less than 10% of

✉ Кароли Нина Анатольевна, nina.karoli.73@gmail.com

cases. At the same time, data of individual studies and systematic reviews indicate that more than 70% of patients with COVID-19 receive mainly empirical antimicrobial therapy with broad-spectrum antibiotics often before the diagnosis of COVID-19 has been verified. Therefore, this widespread empirical use of antibiotics is not supported by data on the need for their use.

The article discusses the literature data on the significance of commonly accepted methods for diagnosing bacterial infection, with an emphasis on laboratory presence / absence tests. In everyday practice, the likelihood of bacterial coinfection in patients with COVID-19 is assessed by clinical presentation of the disease and the results of standard laboratory tests and imaging methods. However, when viral respiratory infection develops, this approach does not always allow to diagnose bacterial coinfection with sufficient significance. This issue may be handled by available modern test systems, the use of a combination of signs or additional laboratory criteria (for example, procalcitonin), and the analysis of the overall clinical presentation by the doctor using knowledge about patient risk groups.

Keywords: COVID-19, bacterial infection, diagnosis

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: Karoli N.A., Rebrov A.P. Diagnosis of bacterial infection in patients with COVID-19: is it a simple task? (literature review). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):121–131. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-121-131>.

ВВЕДЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция (НКИ) 2019 (COVID-19) – инфекционное заболевание, вспышка которого произошла в конце 2019 г., быстро распространилось по всему миру, оказав значительное влияние на все сферы здравоохранения. С начала пандемии врачи сталкивались с различными проблемами, основными из которых были не всегда своевременная доступность тестов для диагностики и отсутствие общепринятых методов лечения. Это привело к тому, что эмпирические противомикробные препараты широкого спектра действия часто назначали пациентам с поражением легких в рамках новой коронавирусной инфекции (НКИ), несмотря на отсутствие доказательств бактериальной коинфекции. Эмпирические антибиотики (АБ) часто назначали тяжелобольным пациентам, когда в качестве основной причины подозревалась бактериальная инфекция. Вирусное поражение легких может predispose к бактериальной суперинфекции, вызывая структурное повреждение легочной ткани и ослабление иммунитета хозяина. Во время предыдущих пандемий гриппа развитие бактериальной коинфекции и суперинфекции было связано с повышенной смертностью [1, 2]. Тяжелая инфекция COVID-19 проявлялась клиническими, рентгенологическими и лабораторными признаками, имитирующими симптомы бактериальной пневмонии, поэтому в начале пандемии эмпирическое лечение антибиотиками было обычной практикой.

В то же время имеющиеся данные свидетельствуют, что бактериальная инфекция у больных COVID-19 встречается редко и составляет менее 10% [3–8]. Частота суперинфекции, особенно у пациентов, госпитализированных в отделения интенсивной терапии (ОИТ), увеличивается до 14%, по некоторым данным – и до 54% [4, 6, 9]. При этом отдельные исследования и систематические обзоры свидетельствуют, что более 70% пациентов с НКИ получали антибактериальную терапию, преимущественно препараты широкого спектра и часто эмпирически, нередко до подтверждения НКИ [4, 6, 10–16]. Таким образом, это широко распространенное эмпирическое использование АБ не подтверждается данными о необходимости их применения.

Учитывая высокую частоту применения АБ при НКИ (при столь низкой частоте бактериальной инфекции), естественно, остается открытым вопрос о тех критериях, на основании которых врач принимает решение о назначении АБ пациентам с COVID-19. Было проведено несколько опросов врачей, в результате которых были получены следующие результаты. При опросе 414 итальянских врачей установлено, что назначение АБ у пациентов с COVID-19 обусловлено наличием сопутствующих заболеваний (трансплантация костного мозга, наличие бронхоэктатической болезни), определенной микробной изоляцией (положительный тест на пневмококковый мочевой антиген или выделение пневмококка), повышенным уровнем прокальцитонина (более 0,5 нг/мл), рентгенологической и ультразвуковой картиной органов

грудной полости (наличие долевого уплотнения), госпитализацией в ОИТ, нахождением на искусственной вентиляции легких (ИВЛ) [17].

При опросе 166 врачей из 23 стран и 82 различных больниц установлено, что клиническая картина была признана наиболее важной причиной для начала антибиотикотерапии, далее следовали лабораторные маркеры воспаления и данные рентгенологического исследования. Прокальцитонин был признан наиболее важным среди лабораторных маркеров воспаления, далее указывалось количество нейтрофилов, количество лейкоцитов и С-реактивный белок (СРБ) [18].

По данным испанских коллег, из клинических симптомов с назначением АБ ассоциировались наличие лихорадки ($>38^{\circ}\text{C}$), кашля, одышки, артралгии, утомляемости, анорексии и желудочно-кишечных симптомов, сатурация кислорода $<90\%$, тахипноэ или тахикардия, наличие хрипов при аускультации легких [15]. Решение о начале антибиотикотерапии определялось наличием повышенных уровней маркеров классического воспаления, таких как СРБ (отношение шансов (ОШ) 2,14; 95%-й доверительный интервал (ДИ) 1,91–2,41; $p < 0,05$), прокальцитонин (ОШ 1,73; 95%-й ДИ 1,28–2,35; $p < 0,05$) или лейкоцитоз (ОШ 1,18; 95%-й ДИ 1,01–1,38; $p < 0,05$), а также повышением уровня воспалительных маркеров, связанных с COVID19, таких как лактатдегидрогеназа (ОШ 1,30; 95%-й ДИ 1,16–1,47; $p < 0,05$), интерлейкин-6 (ОШ 1,734; 95%-й ДИ 1,16–2,59; $p < 0,05$) или ферритин (ОШ 1,93; 95%-й ДИ 1,59–2,35; $p < 0,05$). Наличие любого вида инфильтрата при рентгенологическом исследовании также было связано с применением антибиотиков ($p < 0,05$).

Критерии необходимости проведения антибиотикотерапии поднимают и ряд руководств. Так, для выявления грибковой или бактериальной пневмонии у больных НКИ, а также для принятия решения об использовании АБ, согласно рекомендациям NICE, предлагается провести [19]:

- полный общий анализ крови;
- визуализацию грудной клетки (рентгенография, компьютерная томография или ультразвуковое исследование);
- исследование образцов дыхательных путей и крови (например, образец мокроты или аспирата трахеи, посев крови);
- исследование образцов мочи на легионеллу и пневмококковые антигены.

Согласно отечественным рекомендациям, антибактериальная терапия должна назначаться только при наличии убедительных признаков присоединения бактериальной инфекции (повышение прокаль-

цитонина более 0,5 нг/мл, появление гнойной мокроты, лейкоцитоз более $12 \times 10^9/\text{л}$ (при отсутствии предшествующего применения глюкокортикоидов), повышение числа палочкоядерных нейтрофилов более 10%) [20].

Следовательно, крайне важно провести сравнительные исследования для выявления тех пациентов с COVID-19, которые являются кандидатами на эмпирическую антибактериальную терапию, и сократить широко распространенное чрезмерное использование антибиотиков.

Целью данной работы является обобщение результатов факторов риска и методов диагностики бактериальной инфекции у пациентов с НКИ.

Для подготовки обзора использовались базы данных PubMed, ResearchGate, eLibrary. В качестве ключевых слов выступили «COVID-19», «SARS-COV2» и «бактериальная инфекция», «диагностика», «bacterial infection», «diagnostics». Были рассмотрены оригинальные исследовательские статьи, в которых обсуждались доказательства и значение бактериальных инфекций у больных COVID-19, проводимая антибиотикотерапия. Обзор литературы также включал тематические исследования, серии случаев, обсервационные исследования, метаанализы и систематические обзоры, опубликованные с конца декабря 2019 по май 2022 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Необходимо отметить, что независимо от COVID-19 диагностика клинически подозреваемой бактериальной инфекции (особенно пневмонии) не всегда представляет простую задачу [21]. COVID-19 – это вирусная инфекция, однако ее клинические проявления могут быть сходными с бактериальной пневмонией. У больных часто отмечаются респираторные симптомы, включая лихорадку, кашель, одышку, могут быть одно-, двусторонние изменения в легочной ткани при визуализации органов грудной полости. Наиболее распространенными рентгенологическими находками у этих пациентов являются изменения по типу «матового стекла», консолидация и сочетание этих двух признаков с преимущественно периферическим распространением. При этом специфических рентгенологических признаков, отличающих вирусную и бактериальную пневмонию, особенно атипичную бактериальную пневмонию, нет. Так, например, в одной из работ не выявлено достоверных различий в клинической симптоматике, данных компьютерной томографии у пациентов с COVID-19 и положительным/отрицательным тестом мочи на пневмококковую инфекцию [22]. Это создает сложности в дифференциальной диагностике, особенно до этапа под-

тверждения собственно НКИ.

В одном из исследований у больных COVID-19 сопоставили частоту бактериальной инфекции (бактериальная пневмония, инфекции мочевыводящих путей, пневмонии, связанные с ИВЛ и инфекций кровотока), установленной клинически, и данные микробиологических исследований [23]. Примерно в 20% госпитализаций COVID-19 у пациентов была диагностирована бактериальная пневмония, почти во всех случаях – внебольничная. В 9% госпитализаций COVID-19 у пациентов диагностированы внебольничные инфекции мочевыводящих путей. Когда результаты микробиологического тестирования использовались для выявления бактериальных инфекций, то было обнаружено, что только около 7% госпитализированных пациентов с COVID-19 имели положительные результаты бактериального посева из дыхательных путей, крови и мочи. Микробиологический посев является относительно нечувствительным методом, особенно во время лечения антибиотиками [24].

Диагностика бактериальной инфекции респираторного тракта с помощью посева образцов осложняется значительным интервалом (обычно около 72 ч) до получения результата теста на чувствительность, а также тем, что микробиологический посев обладает невысокой чувствительностью и не всегда позволяет легко отличить бактериальную колонизацию от инфекции [25–28]. Нельзя не учитывать тот факт, что выявление бактериальных ковозбудителей не объясняет причинно-следственной связи. У некоторых пациентов может быть носительство большого количества потенциально патогенных бактерий либо в дыхательных путях, либо в эндотрахеальном участке во время интубации без развития клинически значимой бактериальной инфекции [29]. Так, по данным исследования S. Khurana и соавт. (2021), только 60% образцов, взятых у пациентов с НКИ и клиническими признаками бактериальной инфекции, оказались культурально-положительными, включая образцы, отнесенные к категории контаминантов [28].

По данным С. Huang и соавт. (2020), в то время как 98% пациентов с COVID-19 имели двустороннее поражение легких при рентгенологическом исследовании, только у 28% больных удалось получить мокроту для окрашивания по Граму или посева [30]. Опасения по поводу проведения аэрозоль-образующих процедур (например, бронхоальвеолярный лаваж) еще больше ограничивает возможность получения удовлетворительных образцов мокроты для идентификации бактерий и других микробиологических исследований [31, 32]. Нельзя не учитывать и тот факт, что в ряде стран в руководствах по веде-

нию пациентов с внебольничной пневмонией не рекомендуется рутинное окрашивание и посев мокроты у пациентов с нетяжелой ХОБЛ или у пациентов без риска множественной лекарственной устойчивости из-за низкой чувствительности этих тестов [32]. Забор образцов мочи на легионеллу и пневмококковый антиген в нашей стране не распространены в связи с высокой стоимостью, а микробиологический забор проб из дыхательных путей проводится обычно у пациентов, госпитализированных с COVID-19. Следовательно, у амбулаторных пациентов с НКИ возможность диагностики бактериальной инфекции существенно ограничена.

Стандартные лабораторные методы слишком медленны для начального принятия решений о назначении АБ, требующих использования экспресс-тестирования по месту оказания медицинской помощи. Эта технология, которая пропагандируется как ключ к будущему рациональному использованию противомикробных препаратов, теперь доступна и способна предоставить исчерпывающие результаты панелей респираторных вирусов, включая SARS-CoV-2, за 45 мин. Недавно разработанные экспресс-тесты могут улучшить как скорость, так и чувствительность расследования [26, 33, 34]. До появления COVID-19 Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США одобрило использование многих мультиплексных ПЦР-панелей, включая Luminex xTAG RVP v1 (Luminex Corporation), Luminex xTAG RVP Fast (Luminex Corporation), респираторные панели FilmArray (BioFire Diagnostics), BioFire FilmArray Pneumonia/Pneumonia plus (BioFire PN/PNplus; BioFire Diagnostics, LLC, Солт-Лейк-Сити, Юта), eSensor RVP (GenMark Diagnostics), тест Verigene Respiratory Pathogens Flex (Luminex Corporation), панель респираторных патогенов Luminex NxTAG (Luminex Corporation) и панель респираторных патогенов ePlex (GenMark Diagnostics) для помощи в ранней диагностике возможных респираторных патогенов [35].

Во время пандемии НКИ SARS-CoV-2 был быстро включен в ранее существовавшие синдромальные мультиплексные панели, такие как QIAstatDx Respiratory 2019-nCoV (Qiagen, Нидерланды), BioFire FilmArray RP-2.1 (BioFire FilmArray Respiratory Panel-2 plus SARS-CoV- 2; bioMerieux, Франция) [35]. Панели представляют собой молекулярные мультиплексные ПЦР-тесты, позволяющие повысить чувствительность выявления причинной этиологии пневмонии и значительно снизить риск неправильной диагностики коинфекции во время пандемии COVID-19. Уже появляются результаты

с использованием некоторых из них для диагностики присоединения бактериальной инфекции у больных COVID-19 [9, 36, 37]. По данным Z. Dhesi и соавт. (2020), бактериальная инфекция с помощью FilmArray Pneumonia Panel была выявлена у 54% пациентов, в то время как по данным микробиологического посева – лишь у 28,2% [9]. В другом исследовании ранняя бактериальная коинфекция у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом была зарегистрирована у 13 (27,7%) пациентов с НКИ, при этом с помощью полимеразной цепной реакции у 12 человек и лишь у 1 больного – с помощью обычного посева [38].

По данным систематического обзора и метаанализа, включающего результаты семи исследований (558 больных НКИ, госпитализированных в ОИТ), частота обнаружения бактериальной инфекции при использовании FilmArray Pneumonia панели составила 33% (95%-й ДИ 0,25–0,41; I² = 32%), в то время как при культуральном посеве – 18% (95%-й ДИ 0,02–0,45; I² = 93%) [26]. Аналогичные данные о большей информативности мультиплексных панелей сообщают и другие авторы [37]. По результатам другого исследования, при использовании респираторной ПЦР-экспресс-панели (ABI 7500 Real-Time PCR System, Applied Biosystems, США) выявлен на 31 респираторный патоген больше, включая *P. aeruginosa*, *E. coli*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae* и *S. pyogenes*, чем культуральным методом [39].

Ограничением использования таких панелей вне отделений реанимации является необходимость получения качественного образца мокроты, что не всегда возможно у неинтубированных пациентов, например, в связи с отсутствием кашля. Кроме того, ряд авторов сообщают о сложной интерпретации теста, ограничений панели в выявлении грамотрицательных бактерий и порой излишней диагностике MRSA [36]. В то же время подобные панели могут помочь в решении вопроса о дифференциации инфицирования и колонизации через полуколичественные результаты [26]. Несмотря на то, что перспективы этих инструментов в будущем для диагностики инфекционных заболеваний огромны, их превосходство над классическими подходами золотого стандарта, такими как лабораторные культуры, не было пока однозначно подтверждено.

Еще одним методом, направленным непосредственно на детекцию возбудителей, является микробное метагеномное секвенирование (МС). Это быстроразвивающаяся технология, которая позволяет идентифицировать информацию о патогенах и микробиоме одновременно в течение 24 ч [5, 40].

Основываясь на предыдущих исследованиях, можно заключить, что МС имеет более высокую чувствительность обнаружения, чем обычные методы микробиологических исследований. Это делает указанный метод более выгодным в современном микробном надзоре [5, 41]. Анализ микробиома все чаще используется в лабораториях клинической микробиологии для выявления редких, труднообнаруживаемых и коинфицирующих патогенов непосредственно из клинических образцов [40]. Характеристика микробиома дыхательных путей была выполнена при различных респираторных заболеваниях.

При вентилятор-ассоциированной пневмонии (ВАП) секвенирование ампликонов 16S рРНК обогатило микробиологическую диагностику, дополнив стандартное культивирование, и продемонстрировало потенциальное применение в качестве прогностического маркера, поскольку состав микробиома во время интубации может предсказать последующее развитие ВАП [40]. МС-анализ образцов дыхательных путей COVID-19 продемонстрировал минимальные различия в микробиоме между пациентами с разным прогнозом и у больных с разным числом дней на ИВЛ. При этом образцы бронхоальвеолярного лаважа сопоставимы по информативности с образцами, полученными в результате эндотрахеальной аспирации [5, 40]. В небольшом датском исследовании (34 пациента) потенциальные патогены были обнаружены у семи пациентов (21%) при культивировании, у четырех пациентов (12%) при анализе микробиома и лишь у одного (3%) – при помощи респираторной панели. С точки зрения авторов, между результатами посева и микробиома наблюдалось разумное соответствие, поскольку 6/7 (85%) культивируемых микроорганизмов в аспиратах были, соответственно, идентифицированы при анализе микробиома. При объединении результатов анализа микробиома и обычного культивирования в эндотрахеальных образцах распространенность бактериальных/грибковых коинфекций увеличилась с 21 до 33% [40].

Повышенная чувствительность мультиплексных панелей и метагеномного анализа 16S для выявления возбудителей пневмонии по сравнению с культуральным исследованием была продемонстрирована в европейском многоцентровом исследовании BioFire PNplus, Curetis Unyvero [34]. Применение анализа микробиома на образцах из дыхательных путей еще предстоит определить в клинических условиях, однако сокращение времени обработки и стоимости являются необходимым условием для того, чтобы рутинное применение было осуществимым.

ПРЕДИКТОРЫ (БИОМАРКЕРЫ) БАКТЕРИАЛЬНОЙ КОИНФЕКЦИИ И ВТОРИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Изучение прогностической способности различных клинико-лабораторных исследований в качестве предикторов бактериальной коинфекции и вторичных инфекций является актуальным. Наиболее перспективным из не прямых тестов с точки зрения диагностики бактериальной инфекции у больных НКИ признается прокальцитонин (ПКТ) [6, 20, 42, 43]. Предшественник гормона кальцитонина ПКТ стимулируется интерлейкином 6 (ИЛ-6), фактором некроза опухоли и цитокинами, связанными с бактериальной инфекцией, и ингибируется гамма-интерфероном, который связан с вирусными инфекциями [44]. Экспрессия ПКТ повышается в эпителиальном слое клеток при заражении бактериальной инфекцией. В знаменательной статье, опубликованной в 1993 г., сообщалось о способности ПКТ отличить бактериальную инфекцию от вирусной [45]. В ряде работ показано, что ПКТ превосходит СРБ при решении вопроса о различении бактериальной инфекции от вирусной [46], тем не менее, роль измерения ПКТ в управлении противомикробными препаратами является спорной. Исследование ПКТ одобрено Федеральным управлением по лекарственным средствам США при лечении сепсиса и инфекций дыхательных путей, но в Великобритании действующее руководство Национального института здравоохранения и качества медицинской помощи (NICE) не включает тестирование ПКТ из-за недостаточности доказательств [47].

Многие исследования показали, что терапия АБ под контролем уровня прокальцитонина дает хорошие результаты в отношении пациентов с острым респираторным заболеванием, обострением ХОБЛ и сепсисом [24, 44, 48, 49]. В ряде исследований продемонстрирован более высокий уровень ПКТ у пациентов с НКИ, имеющих бактериальную инфекцию, по сравнению с больными НКИ без признаков бактериальной инфекции, и динамика ПКТ на фоне начала терапии АБ [24, 50–52].

В течение первой волны пандемии COVID-19 произошло широкое внедрение и распространение использования ПКТ в больницах NHS (Великобритания). Количество больниц, использующих ПКТ при неотложной/острой госпитализации, выросло с 17 (11%) до 74/146 (50,7%), а использование в ОИТ увеличилось с 70 (47,6%) до 124/147 (84,4%). Это увеличение произошло преимущественно в марте и апреле 2020 г., до выхода руководства NICE. Приблизительно половина больниц использовали ПКТ в

качестве единственного теста для принятия решения о прекращении лечения антибиотиками и половина использовали повторные измерения [47].

В работе М. van Berkel и соавт. (2020) исследовались уровни ПКТ и СРБ в качестве прогностических маркеров для диагностики возможной бактериальной коинфекции у больных COVID-19 в отделении интенсивной терапии. Отмечено, что уровень СРБ имеет тенденцию к увеличению, в то время как ПКТ часто бывает низким у пациентов с COVID-19 при поступлении [53]. Аналогичные данные о ПКТ как прогностическом маркере при НКИ продемонстрировали и другие авторы [24].

В исследовании G.P. Drewett и соавт. (2021) изменения ПКТ в сыворотке связаны как с началом антибактериальной терапии у больных НКИ, так и с переходом с внутривенного на пероральный способ доставки [54]. Все пациенты с высоким уровнем ПКТ (более 0,5 нг/мл) получали АБ во время госпитализации, в то время как 20% пациентов со средним уровнем ПКТ (0,07–0,5 нг/мл) и 40% пациентов с низким уровнем ПКТ (менее 0,07 нг/мл) не получали никакой антибактериальной терапии. Эти результаты подчеркивают потенциальную полезность исследования уровня ПКТ. Аналогичные данные о меньшей частоте назначений АБ (21%) в случае отсутствия повышения уровня ПКТ (менее 0,25 нг/мл) получили и авторы другого исследования [52].

Наиболее подходящий порог для прокальцитонина также не определен [19]. Указывается, что уровень ПКТ более 0,5 нг/мл может использоваться для подтверждения бактериальной инфекции, в то время как уровень менее 0,25 нг/мл не ассоциирован с бактериальной инфекцией [43]. По данным М. van Berkel и соавт. (2020), у пациентов при уровне ПКТ менее 0,25 мкг/л отрицательное прогностическое значение составляло 81%, тогда как уровни ПКТ более 1,00 мкг/л имели положительное прогностическое значение в отношении развития бактериальной инфекции 93% [53]. Данные еще одного исследования свидетельствуют, что использование уровня прокальцитонина в качестве ориентира для деэскалации АБ снижает длительность их использования на 2 дня у пациентов с COVID-19 [55].

В то же время не все исследования подтверждают диагностическую значимость прокальцитонина [8, 44, 56, 57]. При ретроспективном анализе данных 60 больных COVID-19 не было обнаружено существенной разницы между пиковыми уровнями ПКТ у пациентов с положительным и отрицательным бактериальным тестом [58]. Другое исследование случай–контроль также показало, что разницы между уровнями ПКТ не наблюдалось у пациентов

с COVID-19 с кобактериальной инфекцией и без нее ($p = 0,883$) [56]. Кроме того, повышение уровня ПКТ может быть определено у пациентов с COVID-19 без кобактериальных инфекций, что послужит основанием для назначения АБ. Так, например, в одном исследовании микробиологически подтвержденная бактериальная инфекция присутствовала лишь у 12% больных с уровнем ПКТ более 0,5 нг/мл [32].

Таким образом, значимость ПКТ для выявления кобактериальной инфекции не столь очевидна и необходимы дальнейшие исследования, позволяющие разработать точную модель прогнозирования или метод диагностики коинфекции у пациентов с COVID-19. Рекомендации Национального института Health and Care Excellence (NICE) (Великобритания) заявляют, что доказательств для внедрения исследования уровня ПКТ для принятия решений относительно назначения АБ на сегодняшний день пока недостаточно [19]. С октября 2020 г. начато исследование значения уровня ПКТ в использовании антибиотиков у госпитализированных пациентов с COVID-19 (PEACH), которое заказано и профинансировано National Institute of Health Research (NIHR) [59].

Таким образом, повышенный уровень прокальцитонина не может в настоящее время служить подтверждением наличия бактериальной инфекции у пациентов с НКИ: повышение может представлять бактериальную инфекцию или иммунную дисрегуляцию или быть маркером тяжести заболевания. Тем не менее низкие или нормальные уровни ПКТ могут быть полезны для решения вопроса о неназначении или раннем прекращении эмпирической антибиотикотерапии у пациентов, не находящихся в критическом состоянии. Помимо этого, серийные измерения ПКТ дают представление о «воспалительной динамике» пациентов, где вторичное повышение должно вызвать подозрение на бактериальную суперинфекцию [60]. Контроль уровня ПКТ может использоваться после начала антибактериальной терапии для сокращения длительности лечения [60].

Некоторые авторы указывают на диагностическую значимость лейкоцитоза (особенно нейтрофилеза) у больных НКИ в отношении бактериальной инфекции [7, 8, 51, 61–64]. Результаты исследования свидетельствуют, что уровень лейкоцитов менее $8,2 \times 10^9/\text{л}$ позволяет исключить бактериальную инфекцию у 46% с COVID-19 [25], другие авторы рекомендуют ориентироваться на уровень $\geq 10 \times 10^9/\text{л}$ [65].

В отношении уровня СРБ существуют рекомендации, что его высокий уровень у больных НКИ не свидетельствует о наличии бактериальной инфек-

ции, в то же время низкий уровень характеризует низкую вероятность бактериальной коинфекции [19, 53, 66]. В исследовании немецких коллег у пациентов с НКИ и подтвержденными сопутствующими инфекциями уровни СРБ и ПКТ были выше, чем у пациентов без инфекции [67]. При инфекциях кровотока повышение уровней СРБ и ПКТ было более выраженным, чем при респираторных инфекциях.

В исследовании P. Hedberg и соавт. (2022) показано, что предикторами бактериальной коинфекции у больных COVID-19 являются уровень СРБ ≥ 50 мг/л, уровень СРБ ≥ 150 мг/л, лейкоциты более $12,0 \times 10^9$ клеток/л, уровень прокальцитонина $\geq 2,00$ и отношение нейтрофилы/лимфоциты более 20,0 [68].

В работе Н. Chen (2021) назначение АБ рассматривается только в том случае, если инфильтрат виден на рентгенограмме легких и уровень лейкоцитов $\geq 10 \times 10^9/\text{л}$, или при тяжелом заболевании, требующем интенсивной терапии в ОИТ. Если уровень СРБ < 60 мг/л или уровень ПКТ $< 0,5$ нг/мл, то рекомендовано воздержаться от назначения антибиотиков [65]. Согласно данным авторов, только 4 пациента из 114 соответствовали бы требованиям для назначения антибиотиков в течение 14-дневного периода.

Необходимо еще раз отметить, что воспалительные серологические маркеры, которые обычно связаны с бактериальной инфекцией, такие как повышенный уровень прокальцитонина и СРБ, могут появляться у пациентов с COVID-19 без соответствующей бактериальной инфекции [69, 70].

ФАКТОРЫ РИСКА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

Нередко сложно определить, каким пациентам следует назначать АБ, а каким их применение может быть нецелесообразным. Возможность идентификации вероятного бактериального возбудителя в условиях большого количества поступающих больных с НКИ существенно ограничена. Поэтому необходимо понимать и определять факторы риска развития бактериальных инфекций у госпитализированных больных с НКИ, выявлять маркеры присоединения бактериальной инфекции с целью формирования более четких показаний для проведения антибиотикотерапии. Все это позволит следовать стратегии рационального использования АБ для улучшения качества и безопасности их использования.

К факторам риска развития бактериальной инфекции относят возраст старше 60 лет, длительное нахождение больных в стационаре, потребность в ИВЛ и пребывание в отделении реанимации (тяжелое течение COVID-19), наличие хронических бактериальных инфекций (прежде всего, респираторно-

го тракта) в анамнезе, получение стероидов и (или) иммуносупрессивной терапии до заболевания НКИ и (или) в период терапии НКИ, хроническую почечную недостаточность с потребностью в гемодиализе, иммунодефицит (например, использование химиотерапии при раке, трансплантация костного мозга или органов, первичный иммунодефицит, плохо контролируемый вирус иммунодефицита человека или синдром приобретенного иммунодефицита) [3, 4, 16, 20, 29, 32, 50, 51, 66, 67, 71–74]. Нельзя также не учитывать повышение риска катетер-ассоциированной бактериальной инфекции у тяжелых пациентов с НКИ в результате даже кратковременной постановки центрального катетера [27, 75].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проблема диагностики бактериальной инфекции у больных COVID-19 представляется достаточно сложной. В повседневной практике сочетание клинического течения болезни и результатов стандартных лабораторных исследований, данных методов визуализации является ведущим в оценке вероятности бактериальной коинфекции у пациентов с COVID-19. Однако в условиях развития тропной к респираторной системе вирусной инфекции такой подход не всегда позволяет с достаточной степенью достоверности диагностировать бактериальную коинфекцию. Помочь в этом могут имеющиеся современные тест-системы, использование комбинации признаков или дополнительных лабораторных критериев (например, прокальцитонина), а также анализ врачом общей клинической картины заболевания с использованием знаний о группах риска пациентов, данных о крайне редкой встречаемости бактериальной инфекции у амбулаторных пациентов, о редкой встречаемости у пациентов в первые 5–10 дней госпитализации.

При сомнениях врача о наличии бактериального коинфицирования возможна эмпирическая антибиотикотерапия при поступлении больного в стационар (первые 24–48 ч), но после получения данных лабораторных исследований терапия АБ должна быть пересмотрена и незамедлительно прекращена при отсутствии критериев для ее назначения. Соответственно, молодые пациенты и пациенты без сопутствующей патологии, которым назначены АБ при сухом кашле, лихорадке, гриппоподобных симптомах, интерстициальных инфильтратах или повышенном уровне СРБ, скорее всего, получают антибактериальную терапию не по показаниям, поэтому при отсутствии других данных, указывающих на необходимость их использования, терапия АБ должна быть приостановлена.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Taubenberger J.K., Morens D.M. The 1918 influenza pandemic and its legacy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2020Oct.1;10(10):a038695. DOI: 10.1101/cshperspect.a038695.
2. Rice T.W., Robinson L., Uyeki T.M., Vaughn F.L., John B.B., Miller R.R. 3rd et al. NHLBI ARDS network. Critical illness from 2009 pandemic influenza A virus and bacterial coinfection in the United States. *Crit. Care Med.* 2012;40(5):1487–1498. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182416f23.
3. Langford B.J., So M., Raybardhan S., Leung V., Westwood D., MacFadden D.R. et al. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2020;26(12):1622e9. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.07.016.
4. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* 2020Aug.;81(2):266–275. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.046.
5. Miao Q., Ma Y., Ling Y., Jin W., Su Y., Wang Q. et al. Evaluation of superinfection, antimicrobial usage, and airway microbiome with metagenomic sequencing in COVID-19 patients: A cohort study in Shanghai. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2021;54(5):808–815. DOI: 10.1016/j.jmii.2021.03.015.
6. Rodríguez-Baño J., Rossolini G.M., Schultz C., Tacconelli E., Murthy S., Ohmagari N. et al. Key considerations on the potential impacts of the COVID-19 pandemic on antimicrobial resistance research and surveillance. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2021Oct.1;115(10):1122–1129. DOI: 10.1093/trstmh/tra048.
7. Wang L., Amin A.K., Khanna P., Aali A., McGregor A., Bassett P. et al. An observational cohort study of bacterial co-infection and implications for empirical antibiotic therapy in patients presenting with COVID-19 to hospitals in North West London. *J. Antimicrob. Chemother.* 2021Feb.11;76(3):796–803. DOI: 10.1093/jac/dkaa475.
8. Lardaro T., Wang A.Z., Bucca A., Croft A., Globler N., Holt D.B. et al. Characteristics of COVID-19 patients with bacterial coinfection admitted to the hospital from the emergency department in a large regional healthcare system. *J. Med. Virol.* 2021May;93(5):2883–2889. DOI: 10.1002/jmv.26795.
9. Dhesi Z., Enne V.I., Brealey D., Livermore D.M., High J., Russell C. et al. Organisms causing secondary pneumonias in COVID-19 patients at 5 UK ICUs as detected with the FilmArray test [preprint]. medRxiv; 2020 [accessed 2021 July 13]. DOI: 10.1101/2020.06.22.
10. Vaughn V.M., Gandhi T.N., Petty L.A., Patel P.K., Prescott H.C., Malani A.N. et al. Empiric Antibacterial Therapy and Community-onset Bacterial Coinfection in Patients Hospitalized With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Multi-hospital Cohort Study. *Clin. Infect. Dis.* 2021;72(10):e533–e541. DOI: 10.1093/cid/ciaa1239.
11. Langford B.J., So M., Raybardhan S., Leung V., Soucy J.R., Westwood D. et al. Antibiotic prescribing in patients with COVID-19: rapid review and meta-analysis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021Apr.;27(4):520–531. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.12.018.
12. Russell C.D., Fairfield C.J., Drake T.M., Turtle L., Seaton R.A., Wootton D.G. et al. ISARIC4C investigators. Co-infections, secondary infections, and antimicrobial use in patients hospi-

- talised with COVID-19 during the first pandemic wave from the ISARIC WHO CCP-UK study: a multicentre, prospective cohort study. *Lancet Microbe*. 2021;2(8):e354–e365. DOI: 10.1016/S2666-5247(21)00090-2.
13. Al-Hadidi S.H., Alhussain H., Abdel Hadi H., Johar A., Yassine H.M., Al Thani A.A. et al. The Spectrum of Antibiotic Prescribing During COVID-19 Pandemic: A Systematic Literature Review. *Microb. Drug Resist.* 2021;27(12):1705–1725. DOI: 10.1089/mdr.2020.0619.
 14. Кароли Н.А., Апаркина А.В., Григорьева Е.В., Магдеева Н.А., Никитина Н.М., Ребров А.П. COVID-19 и антибактериальная терапия на стационарном этапе: кому, когда, зачем? *Пульмонология*. 2021;31(6):701–709. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-6-701-709.
 15. Bendala Estrada A.D., Calderón Parra J., Fernández Carracedo E., Muñio Míguez A., Ramos Martínez A., Muñoz Rubio E. et al. Inadequate use of antibiotics in the COVID-19 era: effectiveness of antibiotic therapy. *BMC Infect. Dis.* 2021Nov.8;21(1):1144. DOI: 10.1186/s12879-021-06821-1.
 16. Kubin C.J., McConville T.H., Dietz D., Zucker J., May M., Nelson B. et al. characterization of bacterial and fungal infections in hospitalized patients with coronavirus disease 2019 and factors associated with health care-associated infections. *Open Forum Infect. Dis.* 2021May5;8(6):ofab201. DOI: 10.1093/ofid/ofab201.
 17. Colaneri M., Valsecchi P., Vecchia M., Di Filippo A., Zucaro V., Seminari E. et al. What prompts clinicians to start antibiotic treatment in COVID-19 patients? An Italian web survey helps us to understand where the doubts lie. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2021;26:74–76. DOI: 10.1016/j.jgar.2021.05.014.
 18. Beović B., Doušak M., Ferreira-Coimbra J., Nadrah K., Rubulotta F., Belliato M. et al. Antibiotic use in patients with COVID19: a ‘snapshot’ Infectious Diseases International Research Initiative (ID-IRI) survey. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020;75(11):3386–3390. DOI: 10.1093/jac/dkaa326.
 19. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). COVID-19 rapid guideline: antibiotics for pneumonia in adults in hospital [Internet]. 2021. URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng173/chapter/4-Assessing-the-ongoing-need-for-antibiotics>
 20. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). *Временные методические рекомендации. Версия 15*.
 21. Синопальников А.И. Пандемия COVID-19 – «пандемия» антибактериальной терапии. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2021;23(1):5–15. DOI: 10.36488/cmasc.2021.1.5-15.
 22. Desai A., Santonocito O.G., Caltagirone G., Kogan M., Ghatti F., Donadoni I. et al. Effectiveness of streptococcus pneumoniae urinary antigen testing in decreasing mortality of COVID-19 co-infected patients: a clinical investigation. *Medicina (Kaunas)*. 2020;56(11):572. DOI: 10.3390/medicina56110572.
 23. Could Efforts to Fight the Coronavirus Lead to Overuse of Antibiotics? The Pew Charitable Trusts. 03/2021. URL: <https://www.pewtrusts.org/en/research-and-analysis/issue-briefs/2021/03/could-efforts-to-fight-the-coronavirus-lead-to-overuse-of-antibiotics>
 24. Williams P., McWilliams C., Soomro K., Harding I., Gurney S., Thomas M. et al. The dynamics of procalcitonin in COVID-19 patients admitted to Intensive care unit – a multicentre cohort study in the South West of England, UK. *J. Infect.* 2021;82(6):e24–e26. DOI: 10.1016/j.jinf.2021.03.011.
 25. Mason C.Y., Kanitkar T., Richardson C.J., Lanzman M., Stone Z., Mahungu T. et al. Exclusion of bacterial co-infection in COVID-19 using baseline inflammatory markers and their response to antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 2021Apr.13;76(5):1323–1331. DOI: 10.1093/jac/dkaa563.
 26. Timbrook T.T., Hueth K.D., Ginocchio C.C. Identification of bacterial co-detections in COVID-19 critically ill patients by BioFire® FilmArray® pneumonia panel: a systematic review and meta-analysis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2021;101(3):115476. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2021.115476.
 27. Lucien M.A.B., Canarie M.F., Kilgore P.E., Jean-Denis G., Fénélon N., Pierre M. et al. Antibiotics and antimicrobial resistance in the COVID-19 era: Perspective from resource-limited settings. *Int. J. Infect. Dis.* 2021;104:250–254. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.12.087.
 28. Khurana S., Singh P., Sharad N., Kiro V.V., Rastogi N., Lathwal A. et al. Profile of co-infections & secondary infections in COVID-19 patients at a dedicated COVID-19 facility of a tertiary care Indian hospital: Implication on antimicrobial resistance. *Indian J. Med. Microbiol.* 2021;39(2):147–153. DOI: 10.1016/j.ijmm.2020.10.014.
 29. Cimolai N. The complexity of co-infections in the era of COVID-19. *SN Compr. Clin. Med.* 2021;3(7):1–13. DOI: 10.1007/s42399-021-00913-4.
 30. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
 31. Van Doremalen N., Bushmaker T., Morris D.H., Holbrook M.G., Gamble A., Williamson B.N. et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* 2020Apr.16;382(16):1564–1567. DOI: 10.1056/NEJMc2004973.
 32. Martin A.J., Shulder S., Dobrzynski D., Quartuccio K., Pillinger K.E. Antibiotic use and associated risk factors for antibiotic prescribing in COVID-19 hospitalized patients. *Journal of Pharmacy Practice*. 2021;8971900211030248. DOI: 10.1177/08971900211030248.
 33. Poole S., Clark T.W. Rapid syndromic molecular testing in pneumonia: The current landscape and future potential. *J. Infect.* 2020;80(1):1–7. DOI: 10.1016/j.jinf.2019.11.021.
 34. Enne V.I., Aydin A., Baldan R., Owen D.R., Richardson H., Ricciardi F. et al. INHALE WP1 Study Group. Multicentre evaluation of two multiplex PCR platforms for the rapid microbiological investigation of nosocomial pneumonia in UK ICUs: the INHALE WP1 study. *Thorax*. 2022;77(12):1220–1228. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2021-21699.
 35. Lai C.C., Wang C.Y., Hsueh P.R. Co-infections among patients with COVID-19: The need for combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents? *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2020;53(4):505–512. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.05.013.

36. Novy E., Goury A., Thivillier C., Guillard T., Alauzet C. Algorithm for rational use of Film Array Pneumonia Panel in bacterial coinfections of critically ill ventilated COVID-19 patients. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2021;101(3):115507. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2021.115507.
37. Sreenath K., Batra P., Vinayaraj E.V., Bhatia R., SaiKiran K., Singh V. et al. Coinfections with other respiratory pathogens among patients with COVID-19. *Microbiol. Spectr.* 2021;9(1):e0016321. DOI: 10.1128/Spectrum.00163-21.
38. Kreitmann L., Monard C., Dauwalder O., Simon M., Argaud L. Early bacterial co-infection in ARDS related to COVID-19. *Intensive Care Med.* 2020;46(9):1787–1789. DOI: 10.1007/s00134-020-06165-5.
39. Yang S., Hua M., Liu X., Du C., Pu L., Xiang P. et al. Bacterial and fungal co-infections among COVID-19 patients in intensive care unit. *Microbes Infect.* 2021;23(4-5):104806. DOI: 10.1016/j.micinf.2021.104806.
40. Thomsen K., Pedersen H.P., Iversen S., Wiese L., Fuursted K., Nielsen H.V. et al. Extensive microbiological respiratory tract specimen characterization in critically ill COVID-19 patients. *APMIS.* 2021;129(7):431–437. DOI: 10.1111/apm.13143.
41. Zhong H., Wang Y., Shi Z., Zhang L., Ren H., He W. et al. Characterization of respiratory microbial dysbiosis in hospitalized COVID-19 patients. *Cell Discov.* 2021;7(1):23. DOI: 10.1038/s41421-021-00257-2.
42. Rothe K., Feihl S., Schneider J., Wallnöfer F., Wurst M., Lukas M. et al. Rates of bacterial co-infections and antimicrobial use in COVID-19 patients: a retrospective cohort study in light of antibiotic stewardship. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2021;40(4):859–869. DOI: 10.1007/s10096-020-04063-8.
43. Williams E.J., Mair L., de Silva T.I., Green D.J., House P., Cawthron K. et al. Evaluation of procalcitonin as a contribution to antimicrobial stewardship in SARS-CoV-2 infection: a retrospective cohort study. *J. Hosp. Infect.* 2021;110:103–107. DOI: 10.1016/j.jhin.2021.01.006.
44. May M., Chang M., Dietz D., Shoucri S., Laracy J., Sobieszczyk M.E. et al. Limited utility of procalcitonin in identifying community-associated bacterial infections in patients presenting with coronavirus disease 2019. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2021;65(4):e02167-20. DOI: 10.1128/AAC.02167-20.
45. Assicot M., Gendrel D., Carsin H., Raymond J., Guillaud J., Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *Lancet.* 1993;341(8844):515–518. DOI: 10.1016/0140-6736(93)90277-n.
46. Simon L., Gauvin F., Amre D.K., Saint-Louis P., Lacroix J. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2004;39(2):206–217. DOI: 10.1086/421997.
47. Powell N., Howard P., Llewelyn M.J., Szakmany T., Albur M., Bond S.E. et al. Use of Procalcitonin during the First Wave of COVID-19 in the Acute NHS Hospitals: A Retrospective Observational Study. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(5):516. DOI: 10.3390/antibiotics10050516.
48. Schuetz P., Beishuizen A., Broyles M., Ferrer R., Gavazzi G., Gluck E.H. et al. Procalcitonin (PCT)-guided antibiotic stewardship: an international experts consensus on optimized clinical use. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2019;57(9):1308–1318. DOI: 10.1515/ccclm-2018-1181.
49. Di J., Li X., Xie Y., Yang S., Yu X. Procalcitonin-guided antibiotic therapy in AECOPD patients: Overview of systematic reviews. *Clin. Respir. J.* 2021;15(6):579–594. DOI: 10.1111/crj.13345.
50. Chen S., Zhu Q., Xiao Y., Wu C., Jiang Z., Liu L. et al. Clinical and etiological analysis of co-infections and secondary infections in COVID-19 patients: An observational study. *Clin. Respir. J.* 2021;15(7):815–825. DOI: 10.1111/crj.13369.
51. He S., Liu W., Jiang M., Huang P., Xiang Z., Deng D. et al. Clinical characteristics of COVID-19 patients with clinically diagnosed bacterial co-infection: A multi-center study. *PLoS One.* 2021;16(4):e0249668. DOI: 10.1371/journal.pone.0249668.
52. Pulia M.S., Wolf I., Schwei R.J., Chen D., Lepak A.J., Schulz L.T. et al. Antibiotic prescribing patterns for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in two emergency departments with rapid procalcitonin. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2021;42(3):359–361. DOI: 10.1017/ice.2020.1329.
53. Van Berkel M., Kox M., Frenzel T., Pickkers P., Schouten J. RCI-COVID-19 study group. Biomarkers for antimicrobial stewardship: a reappraisal in COVID-19 times? *Crit. Care.* 2020;24(1):600. DOI: 10.1186/s13054-020-03291-w.
54. Drewett G.P., Smibert O.C., Holmes N.E., Trubiano J.A. The use of procalcitonin as an antimicrobial stewardship tool and a predictor of disease severity in coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2022Apr;43(4):542–543. DOI: 10.1017/ice.2021.28.
55. Heesom L., Rehnberg L., Nasim-Mohi M., Jackson A.I.R., Celinski M., Dushianthan A. et al. Procalcitonin as an antibiotic stewardship tool in COVID-19 patients in the intensive care unit. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2020;22:782–784. DOI: 10.1016/j.jgar.2020.07.017.
56. Nasir N., Rehman F., Omair S.F. Risk factors for bacterial infections in patients with moderate to severe COVID-19: A case-control study. *J. Med. Virol.* 2021;93(7):4564–4569. DOI: 10.1002/jmv.2700.
57. Grasselli G., Scaravilli V., Mangioni D., Scudeller L., Alagna L., Bartoletti M. et al. Hospital-acquired infections in critically ill patients with COVID-19. *Chest.* 2021;160(2):454–465. DOI: 10.1016/j.chest.2021.04.002.
58. Heer R.S., Mandal A.K., Kho J., Szawarski P., Csabi P., Grenshaw D. et al. Elevated procalcitonin concentrations in severe Covid-19 may not reflect bacterial co-infection. *Ann. Clin. Biochem.* 2021Sept;58(5):520–527. DOI: 10.1177/00045632211022380.
59. Carrol E., Sandoe J. Procalcitonin: evaluation of antibiotic use in COVID-19 hospitalised patients. (PEACH). URL: <https://dev.fundingawards.nihr.ac.uk/award/NIHR132254>
60. Schouten J., De Waele J., Lanckohr C., Koulenti D., Hadad N., Rizk N. et al. Alliance for the Prudent Use of Antibiotics (APUA). Antimicrobial stewardship in the ICU in COVID-19 times: the known unknowns. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2021;58(4):106409. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106409.
61. Lv Z., Cheng S., Le J., Huang J., Feng L., Zhang B. et al. Clinical characteristics and co-infections of 354 hospitalized

- patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Microbes Infect.* 2020;22(4-5):195–199. DOI: 10.1016/j.micinf.2020.05.007.
62. Evans T.J., Davidson H.C., Low J.M., Basarab M., Arnold A. Antibiotic usage and stewardship in patients with COVID-19: too much antibiotic in uncharted waters? *J. Infect. Prev.* 2021;22(3):119–125. DOI: 10.1177/1757177420976813.
 63. Bhatt P.J., Shiao S., Brunetti L., Xie Y., Solanki K., Khalid S. et al. Risk Factors and Outcomes of Hospitalized Patients With Severe Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Secondary Bloodstream Infections: A Multicenter Case-Control Study. *Clin. Infect. Dis.* 2021;72(12):e995–e1003. DOI: 10.1093/cid/ciaa1748.
 64. Suranadi I.W., Sucandra I.M.A.K., Fatmawati N.N.D., Wisnawa A.D.F. A retrospective analysis of the bacterial infections, antibiotic use, and mortality predictors of COVID-19 patients. *Int. J. Gen. Med.* 2022;15:3591–3603. DOI: 10.2147/IJGM.S351180.
 65. Chen H.H., Chung G.W.T., Wu J.E., Foo G.T.T., Somani J. Antibiotic stewardship algorithm to rationalise antibiotic use among hospitalised COVID-19 patients. *Ann. Acad. Med. Singap.* 2021;50(4):366–368. DOI: 10.47102/annals-acad-medsg.2020493.
 66. Scottish Antimicrobial Prescribing Group. Scottish Reduction in Antimicrobial Prescribing (ScRAP). URL: [https://www.nes.scot.nhs.uk/education-and-training/bythemeinitiative/healthcare-associated-infections/training-resources/scottishreduction-in-antimicrobial-prescribing-\(scrap\).aspx](https://www.nes.scot.nhs.uk/education-and-training/bythemeinitiative/healthcare-associated-infections/training-resources/scottishreduction-in-antimicrobial-prescribing-(scrap).aspx)
 67. Lingscheid T., Lippert L.J., Hillus D., Kruis T., Thibeault C., Helbig E.T. et al. Characterization of antimicrobial use and co-infections among hospitalized patients with COVID-19: a prospective observational cohort study. *Infection.* 2022;50(6):1441–1452. DOI: 10.1007/s15010-022-01796-w.
 68. Hedberg P., Johansson N., Ternhag A., Abdel-Halim L., Hedlund J., Naclér P. Bacterial co-infections in community-acquired pneumonia caused by SARS-CoV-2, influenza virus and respiratory syncytial virus. *BMC Infect. Dis.* 2022;22(1):108. DOI: 10.1186/s12879-022-07089-9.
 69. Wan S., Xiang Y., Fang W., Zheng Y., Li B., Hu Y. et al. Clinical features and treatment of COVID-19 patients in north-east Chongqing. *J. Med. Virol.* 2020;92(7):797–806. DOI: 10.1002/jmv.25783.
 70. Xia W., Shao J., Guo Y., Peng X., Li Z., Hu D. Clinical and CT features in pediatric patients with COVID-19 infection: Different points from adults. *Pediatr. Pulmonol.* 2020;55(5):1169–74. DOI: 10.1002/ppul.24718.
 71. Cataño-Correa J.C., Cardona-Arias J.A., Porras Mancilla J.P., García M.T. Bacterial superinfection in adults with COVID-19 hospitalized in two clinics in Medellín-Colombia. 2020. *PLoS One.* 2021;16(7):e0254671. DOI: 10.1371/journal.pone.0254671.
 72. Sieswerda E., de Boer M.G.J., Bonten M.M.J., Boersma W.G., Jonkers R.E., Aleva R.M. et al. Recommendations for antibacterial therapy in adults with COVID-19 – an evidence based guideline. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021;27(1):61–66. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.09.041.
 73. Pawar A., Desai R.J., Solomon D.H., Santiago Ortiz A.J., Gale S., Bao M. et al. Risk of serious infections in tocilizumab versus other biologic drugs in patients with rheumatoid arthritis: a multidatabase cohort study. *Ann. Rheum. Dis.* 2019Apr.;78(4):456–464. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-214367.
 74. Rosas I.O., Bräu N., Waters M., Go R.C., Hunter B.D., Bhagani S. et al. Tocilizumab in hospitalized patients with severe COVID-19 pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 2021;384(16):1503–1516. DOI: 10.1056/NEJMoa2028700.
 75. Rosenthal V.D., Belkebir S., Zand F., Afeef M., Tanzi V.L., Al-Abdely H.M. et al. Six-year multicenter study on short-term peripheral venous catheters-related bloodstream infection rates in 246 intensive units of 83 hospitals in 52 cities of 14 countries of Middle East: Bahrain, Egypt, Iran, Jordan, Kingdom of Saudi Arabia, Kuwait, Lebanon, Morocco, Pakistan, Palestine, Sudan, Tunisia, Turkey, and United Arab Emirates-International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) findings. *J. Infect. Public. Health.* 2020;13(8):1134–1141. DOI: 10.1016/j.jiph.2020.03.012.

Вклад авторов

Кароли Н.А. – концепция и дизайн исследования, обработка материала и написание текста. Ребров А.П. – редактирование текста статьи.

Информация об авторах

Кароли Нина Анатольевна – д-р мед. наук, профессор кафедры госпитальной терапии, СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, nina.karoli.73@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7464-826X>

Ребров Андрей Петрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии, СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, andreymbrov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3463-7734>

✉ **Кароли Нина Анатольевна**, nina.karoli.73@gmail.com

Поступила в редакцию 08.07.2022;
одобрена после рецензирования 26.08.2022;
принята к публикации 08.09.2022

УДК 616.995.122-07

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-132-142>

Форсайт диагностики трематодозов: инновации против рутинных методов

Перина Е.А., Хмелевская Е.С., Федорова О.С., Иванов В.В.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель данного обзора литературы – провести анализ современных методов диагностики трематодозов в экспериментальных и эпидемиологических исследованиях.

Трематодозы – распространенные паразитарные заболевания, являющиеся важной проблемой общемирового здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения, трематодозами поражено более 250 млн человек. Наиболее распространенными видами трематодозов человека являются заболевания, вызванные возбудителями *Schistosoma*, *Fasciola*, *Clonorchis* и *Opisthorchis*. Диагностика трематодозов часто бывает комбинированной и многоступенчатой – выявление симптомов заболевания, сбор эпидемиологического анамнеза и использование различных лабораторных исследований. Клиническая картина паразитарных инвазий часто варьирует, что затрудняет окончательный диагноз. Для диагностики трематодозов используют различные диагностические инструменты: эпидемиологические критерии, методы лабораторной диагностики (общий и биохимический анализ крови, серологические методы), инструментальные методы (рентгенологические и ультразвуковые исследования органов брюшной полости), паразитологические методы, нередко обладающие недостаточной чувствительностью и специфичностью. В этой связи актуальна разработка современных и эффективных неинвазивных способов детекции трематодозов, в том числе для скрининговой диагностики в эндемичных регионах.

В работе проведен анализ 90 научных публикаций результатов клинических и экспериментальных исследований в области диагностики трематодозов с использованием электронно-поисковой системы PubMed и научной электронной библиотеки Elibrary. В обзоре представлены оригинальные статьи, опубликованные с 1 января 2015 г. по 31 декабря 2021 г.

Большинство исследований подтверждает, что отсутствие стандартного диагностического подхода подчеркивает очевидное удобство применения комбинированного подхода для получения достоверного диагноза трематодоза. Адекватное сочетание различных диагностических тестов позволяет правильно диагностировать заболевание, составить правильный план лечения и последующего наблюдения, организовать меры профилактики.

Ключевые слова: трематодоз, описторхоз, клонорхоз, дуоденальное зондирование, гельминтоовоскопия, иммуноферментный анализ, молекулярно-генетическая диагностика, эндоскопическое исследование, компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), ультразвуковое исследование (УЗИ)

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта «Идентификация новых диагностических маркеров для разработки технологий популяционного скрининга трематодозов» № 19-515-70004.

Для цитирования: Перина Е.А., Хмелевская Е.С., Федорова О.С., Иванов В.В. Форсайт диагностики трематодозов: инновации против рутинных методов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):132–142. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-132-142>.

Foresight in the diagnosis of trematodiasis: innovations versus routine methods

Perina E.A., Khmelevskaya E.S., Fedorova O.S., Ivanov V.V.

Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To analyze modern methods for the diagnosis of trematodiasis in experimental and epidemiological studies.

Trematodiasis is a group of common parasitic diseases that are a socially sensitive health problem worldwide. According to World Health Organization, more than 250 million people are affected by trematode infections globally. The most common types of human trematode infections are diseases caused by *Schistosoma*, *Fasciola*, *Clonorchis*, and *Opisthorchis* pathogens. Diagnosis of trematodiasis is often multistage and includes identification of disease symptoms, analysis of medical history, and use of various laboratory tests. Clinical presentation of parasitic infections often varies, making a definitive diagnosis difficult. Various tools are used to diagnose trematode infections: epidemiological criteria, laboratory tests (complete blood count and blood biochemistry, serological methods), instrumental methods (abdominal X-ray and ultrasound), and parasitological techniques, which often have insufficient sensitivity and specificity. Therefore, development of modern and effective non-invasive methods for detection of trematode infections with high sensitivity and specificity, including screening in endemic regions, is relevant.

The present review analyzes the results of 90 clinical trials and experimental studies on the diagnosis of trematode infections using the PubMed search engine and the eLibrary database. The review analyzes original articles published from January 1, 2015 to December 31, 2021.

Most studies confirm that the absence of a standard diagnostic approach highlights obvious convenience of utilizing a combined approach to reliable diagnosis of trematodiasis. An adequate combination of different diagnostic tests makes it possible to diagnose the disease correctly, devise a correct treatment and follow-up strategy, and organize preventive measures.

Keywords: trematode, opisthorchiasis, clonorchiasis, duodenal probe, microscopic helminth detection, immunoassay, molecular diagnosis, molecular genetic diagnosis, endoscopic examination, computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), ultrasound examination (US)

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 supported by the RFBR grant within the research project No. 19-515-70004 “Tools to diagnose carcinogenic liver fluke infection”.

For citation: Perina E.A., Khmelevskaya E.S., Fedorova O.S., Ivanov V.V. Foresight in the diagnosis of trematodiasis: innovations versus routine methods. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):132–142. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-132-142>.

ВВЕДЕНИЕ

Трематодозы – это широко распространенное инфекционное заболевание, являющееся важной проблемой общемирового здравоохранения. По данным Всемирной организации здравоохранения, оно охватывает более 250 млн человек во многих странах пяти континентов [1–5]. Наиболее распространенными видами трематодозов человека являются заболевания, вызванные возбудителями *Schistosoma*, *Fasciola*, *Clonorchis* и *Opisthorchis*. Трематоды по-

ступают в организм человека при купании в водоемах через кожу, слизистые, случайное заглатывание воды с цистами паразита, употребление недостаточно термически обработанной или сырой рыбы.

Гельминтная инвазия желчевыводящих путей – важная медицинская проблема, особенно в тропических и субтропических эндемичных районах [6]. Во многих эндемичных регионах запущены национальные программы по достижению контроля над инвазиями – Китай, Филиппины, Камбоджа, Лаос [7]. Борьба с трематодозами во всем мире направлена на

снижение риска инвазирования, с этой целью в эндемичных районах предлагается массовое профилактическое антигельминтное лечение. Все это связано с затрудненной диагностикой данных заболеваний, которая часто бывает комбинированной и многоступенчатой – выявление симптомов заболевания, сбор биологического анамнеза и использование различных лабораторных исследований. Клиническая картина паразитарных инвазий часто варьирует, что затрудняет окончательный диагноз. Для диагностики трематодозов используют различные диагностические инструменты: эпидемиологические критерии, методы лабораторной диагностики (общий и биохимический анализ крови, серологические методы), инструментальные методы (рентгенологические и ультразвуковые исследования органов брюшной полости), паразитологические методы [8].

Специфическими методами диагностики является определение яиц в кале, моче и (или) дуоденальном содержимом [6, 9]. Однако признано, что паразитологические методы демонстрируют низкую чувствительность при выявлении инвазий легкой степени, следовательно, остается актуальной необходимость разработки более чувствительных и специфичных диагностических инструментов для мониторинга распространенности инвазии [9–12].

Цель данной работы – провести анализ современных методов диагностики трематодозов в экспериментальных и эпидемиологических исследованиях.

МЕТОДОЛОГИЯ

Проведен анализ научных публикаций результатов клинических и экспериментальных исследований в электронно-поисковой системе PubMed и научной электронной библиотеке Elibrary. В обзоре представлены оригинальные статьи, опубликованные с 1 января 2015 г. по 31 декабря 2021 г. Осуществлен первичный поиск публикаций, посвященных диагностике трематодозов. Для поиска использовали ключевые слова и словосочетания: трематодоз, описторхоз, клонорхоз, дуоденальное зондирование, гельминтоо-воскопия, иммуноферментный анализ, метаболомика, протеомика, молекулярно-генетическая диагностика, ПЦР, эндоскопическое исследование, КТ, МРТ, УЗИ, рентген; для англоязычных публикаций: trematodosis, opisthorchiasis, clonorchiasis, duodenal sounding, helminthoovoscopy, enzyme-linked immunosorbent assay, metabolomic, proteomic, molecular genetic diagnostics, PCR, endoscopic examination, CT, MRT, U/S, X-ray. Идентифицировано около 350 публикаций на русском языке и свыше 1 500 – на английском языке соответственно.

На первом этапе отбирались статьи, в названии которых упоминались методы диагностик трематодозов, при этом исключались публикации обзорного типа и дублирующие информацию. На втором этапе проведен анализ рефератов публикаций и исключены работы, в которых рутинные методы и микроскопия образцов стула использованы как единственные методы исследования. На третьем этапе отобраны статьи с доступом к полному тексту, в результате проведен детальный анализ 90 публикаций, содержащих данные об оригинальных современных исследованиях в области диагностики трематодозов.

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ МИКРОСКОПИИ

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о широкой географии проведенных исследований: большая их часть выполнена в эндемичных регионах Юго-Восточной Азии, но также изучение проводилось в странах Европы, США, Африки [12–15]. Для подтверждения диагноза большинства трематодных инвазий используется микроскопия образцов стула пациента, так как метод является простым и доступным в выполнении, однако, позволяет выявить только инвазию средней и высокой интенсивности [12, 16]. Большой чувствительностью и универсальностью при низкой интенсивности инвазии обладает метод седиментации [15, 17, 18]. Микроскопия образцов фекалий, мочи или дуоденального содержимого требует обеспечение лаборатории световым микроскопом и квалифицированным опытным персоналом, что не всегда возможно в эндемичных очагах трематодозов.

Некоторые исследователи предлагают решение вышеуказанных проблем с помощью современных компактных микроскопов, совместимых со смартфонами. Так, в рамках исследований [19, 20] проведено сравнение стандартного микроскопа и двух «мобильных микроскопов» – Foldscope и CellScope – для диагностики *S. haematobium*, чувствительность составила 55,9 и 69,6%, специфичность – 93,3 и 100% соответственно. С учетом возможной их технической доработки (повышение чувствительности, увеличение полей зрения), данные устройства могут стать пилотными для производства портативных диагностических микроскопов.

В то же время для проведения дифференциальной диагностики шистосомоза можно использовать биоптат прямой кишки, что позволяет достичь высокой чувствительности микроскопического исследования в сравнении со стандартными серологическими тестами [21].

ТЕХНОЛОГИИ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Иммуноферментный анализ (ИФА) является широко распространенным и часто используемым методом в паразитологии. Наибольшее распространение получил твердофазный гетерогенный иммунный анализ – ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Данный метод основан на выявлении специфических антител, выделяемых организмом на присутствующих паразитов, или антигенов самих паразитов, определяемых в венозной крови или моче. Данный метод имеет преимущества перед копроовоскопией, так как антитела выделяются и при легкой степени инвазии. В исследовании по изучению серопревалентности и взаимосвязи между количеством яиц *O. viverrini* у инвазированных индивидов и специфическим ответом антител показано, что ELISA (на основе общего иммуноглобулина (Ig) G и антител IgG4 к *O. viverrini*) имеет более высокую чувствительность при анализе (98,4 и 89,8% соответственно) в сравнении с модифицированным формалин-этилацетаным методом (70,3%). В исследовании также отмечали положительную корреляцию между количеством яиц *O. viverrini* в одном грамме стула и уровнями антител IgG [7].

Однако при иммуноферментной диагностике возможны как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты: первые проявляются на фоне перенесенной инвазии, вторые – при выраженном иммунодефиците [22, 23]. Важным недостатком ИФА также является наличие перекрестных реакций из-за антигенных сходств различных паразитов. В этой связи важной задачей является повышение чувствительности и специфичности метода.

Так, для подтверждения инвазии *S. japonicum* изучен диагностический потенциал катепсина В (SjCatB). Результаты показали высокую чувствительность (86,7%) и специфичность (96,7%), что свидетельствует о перспективном диагностическом потенциале данного маркера [24, 25].

Результаты анализа литературы свидетельствуют, что в целях разработки диагностикумов исследованы шистосомоза экстравезикулы [24, 26], Р-селектин [27], растворенные антигены яиц паразитов [28–31], сывороточные иммуноглобулины [32]. В рамках экспериментальных работ изучаются специфичные белки у животных [33, 34], например сапозиноподобные белки (SjSAP4 + Sj23-LHD (большой гидрофильный домен)) обеспечили лучший диагностический результат с чувствительностью 87,04% и специфичностью 96,67% [24, 35–37]. Исследование воспалительного маркера YKL-40 (хитиназа-3-подобный белок 1, также называемого человеческим хрящевым гликопротеином 39) у детей дошкольного

возраста показало, что он может стать потенциальным биомаркером *S. haematobium* [38]. Другим направлением диагностики *S. mansoni* предлагается сывороточная карбоангидраза 1 (CA1) [39].

Для упрощения скрининговых исследований используется метод определения циркулирующего катодного антигена – Point-of Care Circulating Cathodic Antigen (POC-CCA), в частности используются наборы для определения *S. mansoni* [23, 34, 40–44].

В работе по оценке использования в качестве антигенов трех функционально-активных рекомбинантных форм основных секретиремых катепсинов rFhCL1, rFhCL2, rFhCL3 и катепсина В, rFhCB3 в непрямом ИФА для серологической диагностики заражения *F. hepatica* в экспериментальных и естественных условиях показано, что уровень антител ко всем трем протеазам катепсина L остается высокими при хронической инвазии. Он быстро снижается после медикаментозного лечения, что может быть использовано для оценки эффективности дегельминтизации [45, 46].

В настоящее время доступность омиксных исследований позволяет изучать протеом паразита и использовать эти данные в создании новых диагностических наборов. Для повышения чувствительности, специфичности или возможности применения в полевых условиях диагностических наборов проведен поиск биомаркеров сыворотке и моче для определения инвазии *S. haematobium* [22]. В другом исследовании проводилась оценка возможности использования молока вместо сыворотки крови для ранней диагностики фасциолеза у молочных коз [47].

В случае изучения методов диагностики *F. hepatica* с помощью ИФА группа исследователей предложила использовать мультиэпитоп – конструкцию из катепсина-L1, сапозиноподобного белка 2 (SAP-2) и тегумент-ассоциированного белка массой 16,5 кДа (FhTP16.5), показав его высокую антигенность и специфичность [48]. При этом катепсин-L1 и в виде отдельного маркера может выступить подходящим антигеном [49–52]. Некоторые исследования изучают фракционированные клетки паразитов, проводя ИФА белков разной массы. При этом довольно быстро достигается воспроизводимый способ получения антигенов с приемлемой чувствительностью и специфичностью [53].

Моноклональные антитела (MoAb) против рекомбинантной глутатионпероксидазы *F. gigantica* (rFgGPx) могут быть использованы для иммунодиагностики как раннего, так и позднего фасциолеза у животных и людей [54, 55], а рекомбинантную аденилаткиназу 3 предлагают в качестве маркера серодиагностики клонорхоза [56]. Определение уровня катепсина в случае инвазии *O. viverrini* также по-

казывает хорошие результаты – чувствительность и специфичность 62,1 и 84,1% соответственно, поэтому он может стать иммунодиагностической альтернативой при описторхозе человека в эндемичных районах [57, 58]. Использование моноклональных антител при инвазии *O. viverrini* оказалось перспективным за счет высокой диагностической точности при возможности использования образцов мочи вместо образцов стула. Сравнение концентраций моноклональных антител в образцах мочи и образцах стула показало положительную взаимосвязь концентраций антител и количества яиц в одном грамме кала, а также высокую специфичность [59–61].

В другом исследовании при помощи золотых наночастиц достигли увеличения чувствительности метода определения антигенов *O. viverrini* более чем в 3 раза по сравнению с классическим методом, повысив чувствительность до 93,8 при 91,3% у стандартной реакции. Инновация позволила сократить число стадий реакции, что ведет к сокращению сроков получения результатов без потерь качества анализа [62].

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Еще один метод, получивший распространение в диагностике паразитологических заболеваний, – полимеразная цепная реакция (ПЦР), основанная на определении антигенов паразитов в различных образцах – сыворотка крови, моча, фекалии. При сравнении современных методов детекции инвазии ПЦР превосходит стандартную микроскопию образцов кала и мочи и чаще всего показывает достаточно высокую чувствительность и специфичность [41, 46, 63–66]. В исследовании при сравнении со стандартными методами паразитологической диагностики ПЦР показывает значительное увеличение распространенности заболевания [67]. Так, в исследовании ПЦР позволила выявить на 13–15% больше случаев инвазии по сравнению с микроскопией [68]. С помощью усовершенствования методов экстракции ДНК из образцов чувствительность метода может достигать 100%. К примеру, при использовании и в эксперименте механического разрушения яиц бисерным методом достигнут 100%-й положительный результат диагностики *S. haematobium* по сравнению с 85% при стандартной процедуре экстракции [69].

Наряду с ПЦР проводится рекомбинантная полимеразная амплификация (РПА), что позволяет повысить чувствительность с 66 до 87% соответственно, при 100%-й специфичности обоих этих методов. При фасциолезе РПА помогает обнаружить 47% инфекций, не обнаруженных при микроскопии [70, 71]. РПА в реальном времени для диагностики урогенитального шистосомоза, нацеленная на последова-

тельность *Dra 1 S. haematobium*, имела клиническую чувствительность и специфичность 98,4 и 100% по сравнению с анализом ПЦР в реальном времени, нацеленную также на последовательность *Dra 1* [72].

Другой модификацией ПЦР является петлевая изотермическая амплификация (loop mediated isothermal amplification, LAMP) – техника амплификации ДНК в одной пробирке, которая позволяет проводить молекулярную диагностику существенно дешевле и быстрее, по сравнению с ПЦР. В исследовании по диагностике инвазии *S. haematobium* с помощью LAMP показана сходная чувствительность и специфичность по сравнению с ПЦР (100%). Для *S. mansoni* чувствительность была наивысшей для амплификации LAMP (100%), чем для ПЦР (99%) [73]. Этот же метод использовали для исследования образцов стула пациентов с подозрением на инвазию *C. sinensis*, что позволило достичь высокой чувствительности и специфичности [74].

В другом исследовании также определяли следы заражения *F. hepatica* в сравнении со стандартным методом ПЦР [75]. Данное заболевание характеризуется сложной детекцией, несмотря на симптомы, стандартные паразитологические методы не определяют наличие яиц. В данной статье LAMP-анализ показал положительную реакцию даже при наличии в образце всего одного яйца гельминта. К тому же визуализация результата тоже достаточно проста – колориметрическое изменение раствора наблюдается под ультрафиолетом. Схожие результаты были представлены в исследовании сравнения классических паразитологических исследований (прямой влажный препарат и метод концентрации), методов ПЦР и LAMP для диагностики *F. hepatica* в образцах фекалий овец [18]. Также LAMP-анализ позволяет избежать перекрестных реакций с другими видами. В работе по оценке петлевой изотермической амплификации для выявления и мониторинга очагов передачи *S. mansoni* в промежуточном хозяине улитке рода *Biomphalaria* было показано, что метод LAMP в 3 раза эффективнее паразитологического исследования и более удобен в полевых условиях, чем другие молекулярные методы [76].

Довольно много исследований проводится с целью поиска новых мишеней для диагностики и дифференцировки различных инвазий, поисков новых антигенов и их комбинации [10, 15, 18, 24, 33, 65, 77–84]. В качестве новых маркеров исследуют: сапозин-подобный белок [37], микроРНК, выделенные из экстравезикул сыворотки [85, 86], катепсин L3 при шистосомозе [87], очищенный антиген паразита молекулярной массой 27 при фасцилезе [14], межгенный спейсерный участок ДНК *F. hepatica* [17], антиген шистосомул при инвазии *S. mansoni* [88].

Чувствительность методов на основе ПЦР зависит от количества копий гена, количества яиц паразита, качества ДНК и ингибиторов ПЦР в образце. Существуют исследования по усовершенствованию методов ПЦР путем воздействия на гены *ITS2*, *cox1* и *cyb* [82].

Благодаря постоянно совершенствующимся возможностям инструментов секвенирования и биоинформатического анализа последовательностей и других высоко повторяющихся геномных элементов, использование в качестве диагностических целей ПЦР в реальном времени становится все более распространенной. Проведен кластерный анализ генома *S. japonicum*, на основе которого разработан набор праймер/зонд. Показано, что полученный в результате ПЦР-тест в реальном времени надежно обнаруживает всего 200 мкг геномной ДНК *S. japonicum* и при тестировании граммовых образцов стула, содержащих одно яйцо гельминта, разработанный набор праймера и зонда обнаружил ДНК во всех образцах. [89]. Мультиплексная ПЦР в реальном времени для диагностики *S. haematobium* и *S. mansoni* была проанализирована на образцах сыворотки [13]. Значения чувствительности и специфичности на основе для мультиплексной ПЦР в реальном времени, направленной на диагностику *S. haematobium* и *S. mansoni*, были рассчитаны в диапазоне от 87,9 до 100%.

Несмотря на большие успехи в использовании молекулярно-генетических методов в диагностике трематодозов, при исследовании новых потенциальных мишеней возникают и трудности, связанные с недостаточной чувствительностью и перекрестными реакциями. Так, при исследовании ПЦР в реальном времени на основе Sjr2 и SjCHGSC19 показано, что данные маркеры можно использовать для диагностики инфекций *S. mekongi* в сыворотке крови человека. Но тесты обладали низкой чувствительностью, и при проведении мультипраймерной ПЦР регистрировались перекрестные реакции с образцами, положительными на *S. mansoni* или *S. haematobium* [16].

ВИЗУАЛИЗИРУЮЩИЕ МЕТОДЫ

Значительное внимание уделяется технологиям визуализации в диагностики гельминтозов [90]. В одном из исследований изучали случаи аппендицитов, связанные с шистосомозом [91]. В результате были определены особенности данных компьютерной томографии, которые могут являться критериями раннего распознавания *S. japonicum* – большой диаметр, кальцификаты стенки аппендикса вместе с сигмовидной кишкой и кальцификаты слепой кишки, признаки перфорации или абсцесса. В другом

исследовании в Африке выявлено, что у пациентов с диагностированным шистосомозом на основании серологических критериев, стандартное ультразвуковое исследование (УЗИ) мочевыводящей системы и печени неинформативно и возможно упростить клиническое ведение этих пациентов [92].

Методы магнитно-резонансной томографии (МРТ) возможно применять при инвазии *O. felinus*. Показано, что на фоне инвазии МРТ-изображение имеет характерную картину, несвойственную для других заболеваний гепатобилиарного тракта [93]. Данный метод позволяет определить области с наибольшими изменениями, что даст возможность в будущем применять эти методы в рутинной диагностике описторхоза. МРТ необходима для диагностики нейрошистосомоза при инвазии *S. japonicum* и *S. mansoni*, *S. haematobium* [94].

Существуют единичные случаи в клинической практике, когда стандартные гельминтологические методы указывают на отсутствие инвазии, но эндоскопическая картина позволяет визуализировать выход яиц печеночного сосальщика в просвет толстого кишечника. В одной из работ показано, что гистологическое исследование подтвердило диагноз шистосомоза – образцы кишечника содержали множественные эозинофильные гранулемы с яйцами *S. mansoni* [95]. У индивидов, инвазированных *S. mansoni*, показана эффективность точечной эластографии сдвиговой волной печени и селезенки и соотнесения ее результатов с параметрами УЗИ [96].

В результате подобных исследований можно говорить о вспомогательной роли инструментальных методов диагностики, дополняющих стандартные микроскопические, серологические или молекулярно-биологические методы.

ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Благодаря разработке новейших молекулярно-генетических методов в последние годы достигнут существенный прорыв по созданию библиотек белкового состава различных гельминтов, изучения их функции в жизнедеятельности, приспособлении к изменяющимся условиям среды. Исследования протеома очень важны, так как белки непосредственно участвуют в реализации генетической информации, поддержании жизнедеятельности паразита, и их состав напрямую определяется экологией гельминтов и макроорганизма.

В исследованиях предоставлен исчерпывающий набор данных по белкам *S. haematobium* на различных этапах жизненного цикла паразита, проведено геномное и протеомное исследование трематод [97, 98]. Авторы предлагают использовать массив дан-

ных для идентификации диагностических маркеров, в том числе для оценки интенсивности инвазии. В рамках другой работы проведено исследование *O. viverrini*, обнаружено три специфичных белка – потенциальных маркера *O. viverrini* [99]. Проведен протеомный анализ *S. mekongi* вместе с их экскреторно-секреторным белковым составом [100], протеомная скрининговая оценка рекомбинантных антигенов яиц для определения низкоинтенсивной степени инвазии *S. mansoni* [30].

Подобных исследований становится все больше, увеличивается массив данных о белках, генах гельминтов, в результате происходит развитие в направлении персонализированной медицины, облегчая быструю и индивидуальную постановку диагнозов, выявление степени инвазии, ассоциируя с изменениями в организме, разрабатываются методы диагностики и высокоспецифичных скринингов на местах, непосредственно приближенных к пациентам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совершенствование технологий диагностики трематодозов является значимой для здравоохранения задачей, что связано широким распространением инвазий в различных регионах мира, существенными финансовыми затратами на антигельминтную терапию и мониторинг в популяции. Учитывая гетерогенность паразитарных инвазий, включая клиническую изменчивость, генетическое разнообразие, присутствие различных стадий патологии в популяции, потребность в дифференциальной диагностике полигельминтозов, возникает необходимость в разработке высокочувствительных и высокоспецифичных скрининговых диагностик. Проведенный обзор литературы продемонстрировал, что в последние годы отмечается выраженная динамика исследований по данному направлению. Разрабатываются современные технологии микроскопии, включая цифровую интерпретацию данных, совершенствуются инструменты иммунологического анализа, модифицируются классические методы молекулярно-генетической детекции. Значительное внимание исследователей уделяется роли визуализирующих методов диагностики патологических состояний, ассоциированных с трематодозами. В качестве перспективных методов диагностики обсуждается использование омиксных технологий – диагностик, базирующихся на протеомных и метаболомных методах исследования.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Mas-Coma S., Valero M.A., Bargues M.D. Fascioliasis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019;1154:71–103. DOI: 10.1007/978-3-030-18616-6_4.

2. Da Silva V.B.R., Campos B.R.K.L., de Oliveira J.F., Decout J.L., do Carmo Alves de Lima M. Medicinal chemistry of antischistosomal drugs: Praziquantel and oxamniquine. *Bioorg. Med. Chem.* 2017;25(13):3259–3277. DOI: 10.1016/j.bmc.2017.04.031.
3. Khalil R.G., Ibrahim A.M., Bakery H.H. A novel immunomodulatory, antifibrotic, and schistosomicidal agent to ameliorate liver damage in murine *Schistosomiasis mansoni*. *Int. Immunopharmacol.* 2022;113(PtA):109415. DOI: 10.1016/j.intimp.2022.109415.
4. Huang X., Kou J., Deng X., Li D., Zhang B., Cheng P. et al. Review of the control of clonorchiasis in Shandong Province, China from 1962 to 2015. *Int. J. Infect. Dis.* 2020;96:199–204. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.04.052.
5. Yurlova N.I., Yadrenkina E.N., Rastyazhenko N.M., Serbina E.A., Glupov V.V. Opisthorchiasis in Western Siberia: Epidemiology and distribution in human, fish, snail, and animal populations. *Parasitol. Int.* 2017;66(4):355–364. DOI: 10.1016/j.parint.2016.11.017.
6. www.who.int [Internet]. Foodborne parasitic infections: Clonorchiasis and opisthorchiasis. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-UCN-NTD-VVE-2021.2>
7. Phupiewkham W., Rodpai R., Inthavongsack S., Laymanivong S., Thanchomnang T., Sadaow L. et al. High prevalence of opisthorchiasis in rural populations from Khammouane Province, central Lao PDR: serological screening using total IgG- and IgG4-based ELISA. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2021;115(12):1403–1409. DOI: 10.1093/trstmh/traab066.
8. www.who.int [Internet]. Foodborne trematode infections; [cited 2022 Dec 23]. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/foodborne-trematode-infections>
9. Позднякова Л.Л., Краснова Е.И., Кузнецова В.Г., Малов И.В. Описторхоз у взрослых: клинические рекомендации. М.: Некоммерческое партнерство «Национальное научное общество инфекционистов», 2014:53.
10. Siqueira L.M.V., Senra C., de Oliveira Á.A., Carneiro N.F.F., Gomes L.I., Rabello A. et al. A real-time PCR assay for the diagnosis of intestinal schistosomiasis and cure assessment after the treatment of individuals with low parasite burden. *Front. Immunol.* 2021;11:620417. DOI: 10.3389/fimmu.2020.620417.
11. Bärenbold O., Raso G., Coulibaly J.T., N’Goran E.K., Utzinger J., Vounatsou P. Estimating sensitivity of the Kato-Katz technique for the diagnosis of *Schistosoma mansoni* and hookworm in relation to infection intensity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017;11(10):e0005953. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005953.
12. Rahman M.O., Sassa M., Parvin N., Islam M.R., Yajima A., Ota E. Diagnostic test accuracy for detecting *Schistosoma japonicum* and *S. mekongi* in humans: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2021;15(3):e0009244. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009244.
13. Frickmann H., Lunardon L.M., Hahn A., Loderstädt U., Lindner A.K., Becker S.L. et al. Evaluation of a duplex real-time PCR in human serum for simultaneous detection and differentiation of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infections – cross-sectional study. *Travel. Med. Infect. Dis.* 2021;41:102035. DOI: 10.1016/j.tmaid.2021.102035.
14. Saadh M.J., Tanash S.A., Almaaytah A.M., Sa’adeh I.J., Al-

- dalaen S.M., Al-Hamaideh K.D. Immunodiagnosis of cattle fascioliasis using a 27 kDa *Fasciola gigantica* antigen. *Vet. World*. 2021;14(8):2097–2101. DOI: 10.14202/vet-world.2021.2097-2101.
15. Gillardie M.L., Babba O., Mahinc C., Duthel M., de Bengy C., Morineaud C. et al. Molecular approach to the epidemiology of urinary schistosomiasis in France. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2021;15(7):e0009515. DOI:10.1371/journal.pntd.0009515.
 16. Frickmann H., Loderstädt U., Nickel B., Poppert S., Odermatt P., Sayasone S. et al. Low sensitivity of real time PCRs targeting retrotransposon sequences for the detection of *Schistosoma japonicum* complex DNA in human serum. *Pathogens*. 2021;10(8):1067. DOI: 10.3390/pathogens10081067.
 17. Amiri S., Shemshadi B., Fallahi S., Shirali S. Detection of *Fasciola hepatica* in lori sheep using polymerase Chain reaction and conventional diagnostic methods in Western Iran. *Arch. Razi. Inst.* 2021;76(2):223–229. DOI:10.22092/ari.2020.128417.1413.
 18. Amiri S., Shemshadi B., Shirali S., Kheirandish F., Fallahi S. Accurate and rapid detection of *Fasciola hepatica* copro-DNA in sheep using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) technique. *Vet. Med. Sci.* 2021;7(4):1316–1324. DOI:10.1002/vms3.455.
 19. Coulibaly J.T., Ouattara M., D'Ambrosio M.V., Fletcher D.A., Keiser J., Utzinger J. et al. Accuracy of mobile phone and handheld Light microscopy for the diagnosis of *Schistosomiasis* and intestinal *Protozoa* infections in Côte d'Ivoire. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016;10(6):e0004768. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004768.
 20. Ephraim R.K., Duah E., Cybulski J.S., Prakash M., D'Ambrosio M.V., Fletcher D.A. et al. Diagnosis of *Schistosoma haematobium* infection with a mobile phone-mounted Foldscope and a reversed-lens CellScope in Ghana. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2015;92(6):1253–1256. DOI: 10.4269/ajtmh.14-0741.
 21. Mones A., Sherif M.M., Abdel Halim R.M. Superiority of rectal snip over serology in detection of schistosomiasis eradication: A pilot study. *Arab. J. Gastroenterol.* 2021;22(1):52–55. DOI: 10.1016/j.ajg.2020.11.001.
 22. Pearson M.S., Tedla B.A., Mekonnen G.G., Proietti C., Becker L., Nakajima R. et al. Immunomics-guided discovery of serum and urine antibodies for diagnosing urogenital schistosomiasis: a biomarker identification study. *Lancet Microbe*. 2021;2(11):e617–e626. DOI: 10.1016/S2666-5247(21)00150-6.
 23. Cai P., Mu Y., Weerakoon K.G., Olveda R.M., Ross A.G., McManus D.P. Performance of the point-of-care circulating cathodic antigen test in the diagnosis of *Schistosomiasis japonica* in a human cohort from Northern Samar, the Philippines. *Infect. Dis. Poverty*. 2021;10(1):121. DOI: 10.1186/s40249-021-00905-5.
 24. Zhang Y., Zhao J., Wang X., Xu X., Pan W. Evaluation of six novel antigens as potential biomarkers for the early immunodiagnosis of schistosomiasis. *Parasit. Vectors*. 2015;8:447. DOI: 10.1186/s13071-015-1048-2.
 25. Macalanda A.M.C., Angeles J.M.M., Moendeg K.J., Dang-Trinh M.A., Higuchi L., Kirinoki M. et al. *Schistosoma japonicum* cathepsin B as potential diagnostic antigen for Asian zoonotic schistosomiasis. *Parasitol Res.* 2019;118(9):2601–2608. DOI: 10.1007/s00436-019-06410-x.
 26. Chen Y., Giri B.R., Li X., He X., Jing Z., Cheng G. Preliminary evaluation of the diagnostic potential of *Schistosoma japonicum* extracellular vesicle proteins for *Schistosomiasis japonica*. *Acta. Trop.* 2020;201:105184. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.105184.
 27. Chimponda T.N., Mushayi C., Osakunor D.N.M., Vengesai A., Enwono E., Amanfo S. et al. Elevation of C-reactive protein, P-selectin and Resistin as potential inflammatory biomarkers of urogenital *Schistosomiasis exposure* in preschool children. *BMC Infect. Dis.* 2019;19(1):1071. DOI: 10.1186/s12879-019-4690-z.
 28. Ferrer E., Villegas B., Mughini-Gras L., Hernández D., Jiménez V., Catalano E. et al. Diagnostic performance of parasitological, immunological and molecular tests for the diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in a community of low transmission in Venezuela. *Acta. Trop.* 2020;204:105360. DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105360.
 29. Ji R., Shen Y., Shi B., Li H., Tang W., Xia C. et al. An ELISA based on soluble egg antigens for the serodiagnosis of animal schistosomiasis turkestanica. *PLoS One*. 2020;15(1):e0228184. DOI: 10.1371/journal.pone.0228184.
 30. Silva-Moraes V., Shollenberger L.M., Castro-Borges W., Rabello A.L.T., Harn D.A., Medeiros L.C.S. et al. Serological proteomic screening and evaluation of a recombinant egg antigen for the diagnosis of low-intensity *Schistosoma mansoni* infections in endemic area in Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019;13(3):e0006974. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006974.
 31. Rodpai R., Sadaow L., Boonroumkaew P., Phupiewkham W., Thanchomnang T., Limpanont Y. et al. Comparison of point-of-care test and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G antibodies in the diagnosis of human *Schistosomiasis japonica*. *Int. J. Infect. Dis.* 2021;107:47–52. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.04.039.
 32. Song H.B., Kim J., Jin Y., Lee J.S., Jeoung H.G., Lee Y.H. et al. Comparison of ELISA and urine microscopy for diagnosis of *Schistosoma haematobium* infection. *J. Korean. Med. Sci.* 2018;33(33):e238. DOI: 10.3346/jkms.2018.33.e238.
 33. Angeles J.M.M., Goto Y., Kirinoki M., Leonardo L.R., Moendeg K.J., Ybañez A.P. et al. Detection of canine *Schistosoma japonicum* infection using recombinant thioredoxin peroxidase-1 and tandem repeat proteins. *J. Vet. Med. Sci.* 2019;81(10):1413–1418. DOI: 10.1292/jvms.19-0126.
 34. Clements M.N., Corstjens P.L.A.M., Binder S., Campbell C.H. Jr., de Dood C.J. et al. Latent class analysis to evaluate performance of point-of-care CCA for low-intensity *Schistosoma mansoni* infections in Burundi. *Parasit. Vectors*. 2018;11(1):111. DOI: 10.1186/s13071-018-2700-4.
 36. Cai P., Weerakoon K.G., Mu Y., Olveda R.M., Ross A.G., Olveda D.U., McManus D.P. Comparison of Kato Katz, antibody-based ELISA and droplet digital PCR diagnosis of *Schistosoma japonicum*: Lessons learnt from a setting of low infection intensity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019;13(3):e0007228. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007228.
 37. Cai P., Weerakoon K.G., Mu Y., Olveda D.U., Piao X., Liu S. et al. A parallel comparison of antigen candidates for development of an optimized serological diagnosis of *Schistosoma ja-*

- ponicum* in the Philippines. *EBioMedicine*. 2017;24:237–246. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.09.011.
38. Liu S., Zhou X., Piao X., Hou N., Shen Y., Zou Y. et al. Saposin-like proteins, a multigene family of *Schistosoma* species, are biomarkers for the immunodiagnosis of *Schistosoma japonicum*. *J. Infect. Dis.* 2016;214(8):1225–1234. DOI: 10.1093/infdis/jiw188.
39. Chimponda T.N., Mduluzi T. Inflammation during *Schistosoma haematobium* infection and anti-allergy in pre-school-aged children living in a rural endemic area in Zimbabwe. *Trop. Med. Int. Health*. 2020;25(5):618–623. DOI: 10.1111/tmi.13376.
40. Kardoush M.I., Ward B.J., Ndao M. Serum carbonic anhydrase 1 is a biomarker for diagnosis of human *Schistosoma mansoni* infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2017;96(4):842–849. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0021.
41. Viana A.G., Gazzinelli-Guimarães P.H., Castro V.N., Santos Y.L.O.D., Ruas A.C.L., Bezerra F.S.M. et al. Discrepancy between batches and impact on the sensitivity of point-of-care circulating cathodic antigen tests for *Schistosoma mansoni* infection. *Acta. Trop.* 2019;197:105049. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.105049.
42. Fuss A., Mazigo H.D., Tappe D., Kasang C., Mueller A. Comparison of sensitivity and specificity of three diagnostic tests to detect *Schistosoma mansoni* infections in school children in Mwanza region, Tanzania. *PLoS One*. 2018;13(8):e0202499. DOI: 10.1371/journal.pone.0202499.
43. Ferreira F.T., Fidelis T.A., Pereira T.A., Otoni A., Queiroz L.C., Amâncio F.F. et al. Sensitivity and specificity of the circulating cathodic antigen rapid urine test in the diagnosis of *Schistosomiasis mansoni* infection and evaluation of morbidity in a low- endemic area in Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2017;50(3):358–364. DOI: 10.1590/0037-8682-0423-2016.
44. Armoo S., Cunningham L.J., Campbell S.J., Aboagye F.T., Boampong F.K., Hamidu B.A. et al. Detecting *Schistosoma mansoni* infections among pre-school-aged children in southern Ghana: a diagnostic comparison of urine-CCA, real-time PCR and Kato-Katz assays. *BMC Infect. Dis.* 2020;20(1):301. DOI: 10.1186/s12879-020-05034-2.
45. Bezerra D.F., Pinheiro M.C.C., Barbosa L., Viana A.G., Fujiwara R.T., Bezerra F.S.M. Diagnostic comparison of stool exam and point-of-care circulating cathodic antigen (POC-CCA) test for *Schistosomiasis mansoni* diagnosis in a high endemicity area in northeastern Brazil. *Parasitology*. 2021;148(4):420–426. DOI: 10.1017/S0031182020002164.
46. López Corrales J., Cwiklinski K., De Marco Verissimo C., Dorey A., Lalor R., Jewhurst H. et al. Diagnosis of sheep fasciolosis caused by *Fasciola hepatica* using cathepsin L enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). *Vet. Parasitol.* 2021;298:109517. DOI: 10.1016/j.vetpar.2021.109517.
47. Carnevale S., Malandrini J.B., Pantano M.L., Sawicki M., Kamenetzky L., Soria C.C. et al. Use of the PCR in a combined methodological approach for the study of human fascioliasis in an endemic area. *Acta. Parasitol.* 2021;66(2):455–460. DOI: 10.1007/s11686-020-00302-2.
48. Saad M.F., Attia M.M. Milk as a new diagnostic tool for rapid detection of fascioliasis in dairy goats using excretory/secretory antigen. *Acta. Parasitol.* 2021;66(2):336–345. DOI: 10.1007/s11686-020-00286-z.
49. Aghamolaei S., Kazemi B., Bandehpour M., Ranjbar M.M., Rouhani S., Javadi Mamaghani A. et al. Design and expression of polytopic construct of cathepsin-L1, SAP-2 and FhTP16.5 proteins of *Fasciola hepatica*. *J. Helminthol.* 2020;94:e134. DOI: 10.1017/S0022149X20000140.
50. Mokhtarian K., Akhlaghi L., Mohammadi M., Meamar A.R., Razmjou E., Khoshmirsafa M. et al. Evaluation of anti-cathepsin L1: a more reliable method for serodiagnosis of human fasciolosis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2016;110(9):542–550. DOI: 10.1093/trstmh/trw063.
51. Meshgi B., Jalousian F., Fathi S., Jahani Z. Design and synthesis of a new peptide derived from *Fasciola gigantica* cathepsin L1 with potential application in serodiagnosis of fascioliasis. *Exp. Parasitol.* 2018;189:76–86. DOI: 10.1016/j.exppara.2018.04.013.
52. Sugiyama T., Ichikawa-Seki M., Sato H., Kounosu A., Tanaka M., Maruyama H. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using recombinant *Fasciola* cathepsin L1 for the diagnosis of human fasciolosis caused by *Fasciola hepatica/gigantica* hybrid type. *Parasitol. Int.* 2021;82:102311. DOI: 10.1016/j.parint.2021.102311.
53. Xifeng W., Mengfan Q., Kai Z., Guowu Z., Jing L., Lixia W. et al. Development and evaluation of a colloidal gold immunochromatographic assay based on recombinant protein Cat-L1D for serodiagnosis of sheep fasciolosis. *J. Helminthol.* 2019;94:e98. DOI: 10.1017/S0022149X19000919.
54. Mokhtarian K., Akhlaghi L., Meamar A.R., Razmjou E., Manouchehri Naeini K., Gholami S. et al. Serodiagnosis of fasciolosis by fast protein liquid chromatography-fractionated excretory/secretory antigens. *Parasitol. Res.* 2016;115(8):2957–29665. DOI: 10.1007/s00436-016-5049-7.
55. Kueakhai P., Chaithirayanon K., Chaiwichien A., Samrit T., Osotprasit S., Suksomboon P. et al. Monoclonal antibody against *Fasciola gigantica* glutathione peroxidase and their immunodiagnosis potential for fasciolosis. *Vet. Parasitol.* 2019;276:108979. DOI: 10.1016/j.vetpar.2019.108979.
56. Aguayo V., Valdes B., Espino A.M. Assessment of *Fasciola hepatica* glutathione S-transferase as an antigen for serodiagnosis of human chronic fascioliasis. *Acta. Trop.* 2018;186:41–49. DOI: 10.1016/j.actatropica.2018.07.002.
57. Kwon S.B., Kim P., Woo H.S., Kim T.Y., Kim J.Y., Lee H.M. et al. Recombinant adenylate kinase 3 from liver fluke *Clonorchis sinensis* for histochemical analysis and serodiagnosis of clonorchiasis. *Parasitology*. 2018;145(12):1531–1539. DOI: 10.1017/S0031182018000434.
58. Teimoori S., Arimatsu Y., Laha T., Kaewkes S., Sereerak P., Tangkawattana S. et al. Immunodiagnosis of opisthorchiasis using parasite cathepsin F. *Parasitol. Res.* 2015;114(12):4571–4578. DOI: 10.1007/s00436-015-4703-9.
59. Teimoori S., Arimatsu Y., Laha T., Kaewkes S., Sereerak P., Sripa M. et al. Chicken IgY-based coproantigen capture ELISA for diagnosis of human opisthorchiasis. *Parasitol. Int.* 2017;66(4):443–447. DOI: 10.1016/j.parint.2015.10.011.
60. Worasith C., Kamamia C., Yakovleva A., Duenngai K., Wangboon C., Sithithaworn J. et al. Advances in the diagnosis of human opisthorchiasis: Development of *Opisthorchis viverrini* antigen detection in urine. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015;9(10):e0004157. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004157.

61. Worasith C., Wangboon C., Duenngai K., Kiatsopit N., Kopolrat K., Techasen A. et al. Comparing the performance of urine and copro-antigen detection in evaluating *Opisthorchis viverrini* infection in communities with different transmission levels in Northeast Thailand. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019;13(2):e0007186. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007186.
62. Kim J.G., Ahn C.S., Sripa B., Eom K.S., Kang I., Sohn W.M. et al. *Clonorchis sinensis* omega-class glutathione transferases are reliable biomarkers for serodiagnosis of clonorchiasis and opisthorchiasis. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019;25(1):109.e1–109.e6. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.03.042.
63. Taron W., Jammongkan W., Techasen A., Phetcharaburanin J., Namwat N., Sithithaworn P. et al. AuNPs-LISA, an efficient detection assay for *Opisthorchis viverrini* (Ov) antigen in urine. *Talanta.* 2020;209:120592. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120592.
64. Guegan H., Fillaux J., Charpentier E., Robert-Gangneux F., Chauvin P., Guemas E. et al. Real-time PCR for diagnosis of imported schistosomiasis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019;13(9):e0007711. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007711.
65. Wang N., Tang B., Hao Y., Bai X., Wang X., Li Y. et al. Acute shock caused by *Clonorchis sinensis* infection: a case report. *BMC. Infect. Dis.* 2019;19(1):1014. DOI: 10.1186/s12879-019-4644-5.
66. Lamaningao P., Kanda S., Laimanivong S., Shimono T., Darcy A.W., Phyluanglath A. et al. Development of a PCR assay for diagnosing trematode (Opisthorchis and Haplorchis) infections in human stools. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2017;96(1):221–228. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0165.
67. Meng X., Jian-Hai Y., Sheng-Kui C., Jian-Ping C., Xiao-Fan Z., Yu-Juan S. Comparison of efficiency of Kato-Katz technique and PCR assay for detecting *Clonorchis sinensis* infection. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi.* 2019;31(2):165–168. (In Chinese). DOI: 10.16250/j.32.1374.2018233.
68. Esiere R.K., Ibeneme E.O., Effanga E.O., Imalele E.E., Esiere M.K., Inyang-Etoh P.C. et al. Detecting *Schistosoma haematobium* infection by microscopy and polymerase chain reaction (PCR) in school children in three senatorial districts of Cross River State, Nigeria. *J. Parasit. Dis.* 2022;46(1):272–279. DOI: 10.1007/s12639-021-01446-2.
69. Meurs L., Brien E., Mbow M., Ochola E.A., Mboup S., Karanja D.M. et al. Is PCR the next reference standard for the diagnosis of *Schistosoma* in stool? A comparison with microscopy in Senegal and Kenya. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015;9(7):e0003959. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003959.
70. Pomari E., Perandin F., La Marca G., Bisoffi Z. Improved detection of DNA *Schistosoma haematobium* from eggs extracted by bead beating in urine. *Parasitol. Res.* 2019;118(2):683–686. DOI: 10.1007/s00436-018-6137-7.
71. Sun K., Xing W., Yu X., Fu W., Wang Y., Zou M. et al. Recombinase polymerase amplification combined with a lateral flow dipstick for rapid and visual detection of *Schistosoma japonicum*. *Parasit. Vectors.* 2016;9(1):476. DOI: 10.1186/s13071-016-1745-5.
72. Cabada M.M., Malaga J.L., Castellanos-Gonzalez A., Bagwell K.A., Naeger P.A., Rogers H.K. et al. Recombinase polymerase amplification compared to real-time polymerase chain reaction test for the detection of *Fasciola hepatica* in human stool. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2017;96(2):341–346. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0601.
73. Frimpong M., Kyei-Tuffuor L., Fondjo L.A., Ahor H.S., Adjei-Kusi P., Maiga-Ascofare O. et al. Evaluation of a real-time recombinase polymerase amplification assay for rapid detection of *Schistosoma haematobium* infection in resource-limited setting. *Acta. Trop.* 2021;216:105847. DOI: 10.1016/j.actatropica.2021.105847.
74. Lodh N., Mikita K., Bosompem K.M., Anyan W.K., Quartey J.K., Otchere J. et al. Point of care diagnosis of multiple schistosome parasites: Species-specific DNA detection in urine by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Acta. Trop.* 2017;173:125–129. DOI: 10.1016/j.actatropica.2017.06.015.
75. Rahman S.M.M., Song H.B., Jin Y., Oh J.K., Lim M.K., Hong S.T. et al. Application of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay targeting *cox1* gene for the detection of *Clonorchis sinensis* in human fecal samples. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017;11(10):e0005995. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005995.
76. Ghodsian S., Rouhani S., Fallahi S., Seyyedtabaei S.J., Taghipour N. Detection of spiked *Fasciola hepatica* eggs in stool specimens using LAMP technique. *Iran. J. Parasitol.* 2019;14(3):387–393.
77. Mesquita S.G., Neves F.G.D.S., Scholte R.G.C., Carvalho O.D.S., Fonseca C.T., Caldeira R.L. A loop-mediated isothermal amplification assay for *Schistosoma mansoni* detection in *Biomphalaria* spp. from schistosomiasis-endemic areas in Minas Gerais, Brazil. *Parasit. Vectors.* 2021;14(1):388. DOI: 10.1186/s13071-021-04888-y.
78. Cheng G., Li X., Qin F., Xu R., Zhang Y., Liu J. et al. Functional analysis of the *Frzb2* gene in *Schistosoma japonicum*. *Vet. Res.* 2019;50(1):108. DOI: 10.1186/s13567-019-0716-1.
79. Pillay P., Downs J.A., Chagalucha J.M., Brien E.A.T., Ramarokoto C.E., Leutscher P.D.C. et al. Detection of *Schistosoma* DNA in genital specimens and urine: A comparison between five female African study populations originating from *S. haematobium* and/or *S. mansoni* endemic areas. *Acta. Trop.* 2020;204:105363. DOI: 10.1016/j.actatropica.2020.105363.
80. Diab R.G., Mady R.F., Tolba M.M., Ghazala R.A. Urinary circulating DNA and circulating antigen for diagnosis of schistosomiasis mansoni: a field study. *Trop. Med. Int. Health.* 2019;24(3):371–378. DOI: 10.1111/tmi.13193.
81. Schols R., Carolus H., Hammoud C., Mulero S., Mudavanhu A., Huyse T. A rapid diagnostic multiplex PCR approach for xenomonitoring of human and animal schistosomiasis in a ‘One Health’ context. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2019;113(11):722–729. DOI: 10.1093/trstmh/trz067.
82. Pampa S., Phadungsil W., Grams R., Martviset P., Ruang-Areerate T., Munthin M. et al. Improvement of a PCR-based method for the detection of *Opisthorchis viverrini* eggs in human stool samples by targeting internal transcribed spacer-2 (ITS-2), cytochrome oxidase subunit 1 (*cox1*), and cytochrome b (*cyb*). *J. Parasit. Dis.* 2021;45(2):474–478. DOI: 10.1007/s12639-020-01329-y.
83. Ullah H., Arab S., Khan M.I.U., Li K., Muhammad N., Suleman Qadeer A. et al. Circulating cell-free mitochondrial DNA fragment: A possible marker for early detection of

- Schistosoma japonicum*. *Infect. Genet. Evol.* 2021;88:104683. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104683.
84. Cnops L., Huyse T., Maniewski U., Soentjens P., Bottieau E., van Esbroeck M. et al. Acute schistosomiasis with a *Schistosoma mattheei* × *Schistosoma haematobium* hybrid species in a cluster of 34 travelers infected in South Africa. *Clin. Infect. Dis.* 2021;72(10):1693–1698. DOI: 10.1093/cid/ciaa312.
 85. Meninger T., Lerman G., Regev-Rudzki N., Gold D., Ben-Dov I.Z., Sidi Y. et al. Schistosomal microRNAs isolated from extracellular vesicles in sera of infected patients: a new tool for diagnosis and follow-up of human schistosomiasis. *J. Infect. Dis.* 2017;215(3):378–386. DOI: 10.1093/infdis/jiw539.
 86. Mu Y., Cai P., Olveda R.M., Ross A.G., Olveda D.U., McManus D.P. Parasite-derived circulating microRNAs as biomarkers for the detection of human *Schistosoma japonicum* infection. *Parasitology*. 2020;147(8):889–896. DOI: 10.1017/S0031182019001690.
 87. Huang W., Gu M., Cheng W., Zhao Q.P., Ming Z., Dong H. Characteristics and function of cathepsin L3 from *Schistosoma japonicum*. *Parasitol. Res.* 2020;119(5):1619–1628. DOI: 10.1007/s00436-020-06647-x.
 88. Oyeyemi O.T., Corsini C.A., Gonçalves G., de Castro Borges W., Grenfell R.F.Q. Evaluation of schistosomula crude antigen (SCA) as a diagnostic tool for *Schistosoma mansoni* in low endemic human population. *Sci. Rep.* 2021;11(1):10530. DOI: 10.1038/s41598-021-89929-3.
 89. Halili S., Grant J.R., Pilote N., Gordon C.A., Williams S.A. Development of a novel real-time polymerase chain reaction assay for the sensitive detection of *Schistosoma japonicum* in human stool. 2021;15(10):e0009877. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009877.
 90. Wang H., Itoh S., Matsumoto Y., Nishie A., Kurihara T., Shimagaki T. et al. Surgically resected hepatic mass caused by fascioliasis. *Clin. J. Gastroenterol.* 2021;14(2):662–667. DOI: 10.1007/s12328-021-01339-0.
 91. Valluru B., Zhou Z., Sah D., Du W., Ali M.O., Adam A.A. et al. Analysis of CT characteristics in the diagnosis of *Schistosoma japonicum* associated appendicitis with clinical and pathological correlation: a diagnostic accuracy study. *Jpn. J. Radiol.* 2020;38(2):178–191. DOI:10.1007/s11604-019-00905-4.
 92. Castillo-Fernández N., Soriano-Pérez M.J., Lozano-Serrano A.B., Sánchez-Sánchez J.C., Villarejo-Ordóñez A., Cuenca-Gómez J.A. et al. Usefulness of ultrasound in sub-saharan patients with a serological diagnosis of schistosomiasis. *Infection*. 2021;49(5):919–926. DOI:10.1007/s15010-021-01612-x.
 93. Pershina A.G., Ivanov V.V., Efimova L.V., Shevelev O.B., Vtorushin S.V., Perevozchikova T.V. et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy for differential assessment of liver abnormalities induced by *Opisthorchis felinus* in an animal model. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017;11(7):e0005778. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005778.
 94. Lu C.Y., Zhao S., Wei Y. Cerebral schistosomiasis: MRI features with pathological correlation. *Acta. Radiol.* 2021;62(5):646–652. DOI: 10.1177/0284185120934475.
 95. Ebigbo A., Kahn M., Zellmer S., Messmann H. Advanced endoscopic imaging of colonic schistosomiasis. *Endoscopy*. 2021;53(7):E251–E252. DOI: 10.1055/a-1252-2637.
 96. Pereira C.L.D., Santos J.C., Arruda R.M., Rodrigues M.L., Siqueira E.S., Lemos R.S. et al. Evaluation of *Schistosomiasis mansoni* morbidity by hepatic and splenic elastography. *Ultrasound Med. Biol.* 2021;47(5):1235–1243. DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2021.01.022.
 97. Sotillo J., Pearson M.S., Becker L., Mekonnen G.G., Amoah A.S., van Dam G. et al. In-depth proteomic characterization of *Schistosoma haematobium*: Towards the development of new tools for elimination. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019;13(5):e0007362. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007362.
 98. Sotillo J., Pearson M.S., Loukas A. Trematode genomics and proteomics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2019;1154:411–436. DOI: 10.1007/978-3-030-18616-6_13.
 99. Aksorn N., Roytrakul S., Kittisenachai S., Leelawat K., Chanvorachote P., Topanurak S. et al. Novel potential biomarkers for *Opisthorchis viverrini* infection and associated cholangiocarcinoma. *In Vivo*. 2018;32(4):871–878. DOI: 10.21873/invivo.11321.
 100. Reamtong O., Simanon N., Thiangtrongjit T., Limpanont Y., Chusongsang P., Chusongsang Y. et al. Proteomic analysis of adult *Schistosoma mekongi* somatic and excretory-secretory proteins. *Acta. Trop.* 2020;202:105247. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.105247.

Информация об авторах

Перина Екатерина Александровна – мл. науч. сотрудник, центр доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, catherineperina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4273-8228>

Хмелевская Екатерина Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, центр биологических исследований и биоинженерии, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, kat.hmelevsk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1776-4149>

Федорова Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, проректор по научной работе и последипломной подготовке СибГМУ, г. Томск, olga.sergeevna.fedorova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7130-9609>

Иванов Владимир Владимирович – канд. биол. наук, доцент, руководитель центра доклинических исследований, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, ivanovvv1953@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3326-729X>

(✉) Перина Екатерина Александровна, catherineperina@gmail.com

Поступила в редакцию 02.11.2022;
одобрена после рецензирования 14.11.2022;
принята к публикации 07.12.2022

УДК 616.233-002-092:612.59:616.2-021.5:616.248
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-143-152>

Клинические и патогенетические аспекты нейтрофильного воспаления бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (обзор литературы)

Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Перельман Ю.М.

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

РЕЗЮМЕ

Представлены данные о влиянии нейтрофилии бронхиального воспаления на клиническое течение, функцию внешнего дыхания и формирование реакции дыхательных путей к холодному воздуху у больных бронхиальной астмой (БА). Согласно результатам современных исследований, активация структурно-функционального статуса нейтрофилов при смешанном паттерне воспаления связана с утяжелением течения и более сложным достижением контроля заболевания, выраженным нарушением проходимости бронхов вследствие стимуляции эпителиальной деструкции и ремоделирования, развитием и поддержанием холодовой гиперреактивности дыхательных путей.

Механизмы активации цитокинового профиля Th1, оксидативного и галогенирующего стресса, обуславливающие активность нейтрофилов и персистенцию хронического воспаления, приводят к оксидантно-повреждению паренхимы бронхов и эпителиальной дисфункции, что способствует холодовому бронхоспазму. Цитолиз и нетоз, выступающие в качестве альтернативных апоптозу путей гибели нейтрофилов в дыхательных путях астматиков, рассматриваются с позиций финальных этапов индуцированной активности лизосом нейтрофилов при смешанном фенотипе БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, смешанный паттерн воспаления, нейтрофилы, провоспалительные цитокины, оксидативный стресс, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, обзор

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: Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Пирогова Н.А., Перельман Ю.М. Клинические и патогенетические аспекты нейтрофильного воспаления бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей (обзор литературы). *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):143–152. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-143-152>.

Clinical and pathogenetic aspects of neutrophilic bronchial inflammation in asthma patients with cold-induced airway hyperresponsiveness (literature review)

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Perelman J.M.

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

✉ Пирогов Алексей Борисович, dncfpd@dncfpd.ru

ABSTRACT

The review presents data on the effect of neutrophilic bronchial inflammation on the clinical course, external respiration, and formation of the airway response to cold air in patients with asthma. According to the results of modern studies, activation of the structural and functional state of neutrophils in a mixed inflammatory pattern is associated with an increase in disease severity, more difficult achievement of asthma control, pronounced impairment of bronchial patency due to stimulation of epithelial destruction and remodeling, and development and maintenance of cold-induced airway hyperresponsiveness.

The mechanisms activating the Th1 cytokine profile and oxidative and halogenation stress and determining the activity of neutrophils and persistence of chronic inflammation lead to oxidative damage to lung parenchyma and epithelial dysfunction, which contributes to cold-induced bronchoconstriction. Cytolysis and NETosis, acting as alternative pathways of neutrophil death in the airways of asthma patients, are considered in terms of final stages of induced activity of neutrophil lysosomes in the mixed asthma phenotype.

Keywords: asthma, mixed inflammatory pattern, neutrophils, proinflammatory cytokines, oxidative stress, cold-induced airway hyperresponsiveness

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: Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Pirogova N.A., Perelman J.M. Clinical and pathogenetic aspects of neutrophilic bronchial inflammation in asthma patients with cold-induced airway hyperresponsiveness (literature review). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):143–152. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-143-152>.

НЕЙТРОФИЛЫ БРОНХОВ И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Бронхиальная астма (БА) долгое время ассоциировалась с эозинофильным воспалением, но исследования показывают, что у ряда больных имеет место повышенная инфильтрация нейтрофилами дыхательных путей [1–3]. Это свидетельствует о потенциально важной роли нейтрофилов в ее развитии, связанном с фенотипическими особенностями заболевания. У определенного числа больных БА формируется смешанный тип бронхиального воспаления, который характеризуется большим количеством эозинофилов и нейтрофилов и сопровождается более тяжелым течением заболевания [4, 5]. Клинически это проявляется стойкостью симптомов, снижением контроля над астмой, ухудшением функции внешнего дыхания, в большей степени проходимости мелких дыхательных путей [3].

Предполагается, что эозинофильный воспалительный фенотип сопровождается хорошим ответом больных БА на лечение ингаляционными глюкокортикостероидами (ИГКС), антилейкотриеновыми препаратами (АЛТ), блокаторами интерлейкина (IL) 5 [6]. Тяжелые больные со смешанным фенотипом имеют более частые обострения болезни, трудно поддаются терапии ИГКС, АЛТ и требуют продол-

жительного применения системных кортикостероидов (СКС) [4, 5], часто слабо отвечая на предложенную терапию [7]. Как свидетельствуют данные литературы, нейтрофилия сопровождает невосприимчивость к кортикостероидам и терапевтическую резистентность к высоким дозам СКС, она связана не только с тяжелым течением БА, но и с серьезностью ее обострений [8].

В период крайне тяжелых обострений, фатальных атак доминирующее в дыхательных путях нейтрофильное воспаление может приводить к летальному исходу [7, 8]. Так, при изучении бронхиальных биоптатов, полученных от больных с тяжелыми обострениями БА и эндотрахеальной интубацией по поводу дыхательной недостаточности, было показано, что в стадию обострения слизистая оболочка бронхов усиленно инфильтрируется эозинофилами и, в большей степени, нейтрофилами [9]. При этом ряд исследователей не исключает наличие у таких больных нейтрофилии в бронхиальном секрете и до обострения – в связи с предшествующим тяжелым течением астмы на фоне лечения высокими дозами ИГКС [10].

Однако нейтрофилы ответственны не только за тяжесть астмы, устойчивость к терапии ИГКС, но имеют прямое отношение к характеру патологического процесса, протекающего в дыхательных путях, инициируя либо сопровождая различные экзогенные реакции, например при воздействии холодного воз-

духа [3, 11]. Агрессивное действие холода приводит к формированию у значительного числа больных БА (60–80%) холодовой гиперреактивности дыхательных путей (ХГДП), что сопровождается утяжелением течения астмы в зимний период времени, сложностью в подборе адекватной терапии вследствие активации нейтрофилии, появлении смешанного (эозинофильно-нейтрофильного) паттерна бронхов [3].

Трудности в лечении таких больных связаны, прежде всего, с низкой эффективностью применения обычных режимов противовоспалительной терапии из-за поддержания высокого уровня активированного пула нейтрофилов мокроты [3]. Больные со смешанным паттерном воспаления даже при легком течении болезни, несмотря на получаемую базисную терапию ИГКС, чаще, чем больные с эозинофильным паттерном воспаления бронхов испытывают дыхательный дискомфорт и потребность в использовании препаратов неотложной помощи, имеют более низкие значения ОФВ₁ и МОС_{25–75}, более выраженную лабильность бронхов в ответ на ингаляционное введение β_2 -агониста короткого действия и при бронхопровокации холодным воздухом [3]. У больных со смешанным паттерном воспаления ХГДП встречается в 2 раза чаще, чем у больных с эозинофильным типом воспаления [3]. Проблема эндогенной регуляции воспаления, хемотаксиса, пролиферации, дифференцировки, апоптоза и функционирования гранулоцитов в поддержании нарушенного гомеостаза у больных БА с ХГДП остается мало исследованной.

ЭКСПРЕССИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И НЕЙТРОФИЛЬНОЕ ЗВЕНО ВОСПАЛЕНИЯ БРОНХОВ

Под воздействием холодового триггера нейтрофильный сегмент гранулоцитов генерирует в бронхах больных БА активные формы кислорода (АФК) и другие медиаторы клеточного окисления [11]. Последние представляют собой сигнальные молекулы, регулирующие активность ядерного фактора NF- κ B, который является одним из главных транскрипционных факторов, отвечающих за адаптивные реакции клеток, ассоциирован с активностью воспаления при астме и экспрессией провоспалительных цитокинов [12, 13]. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов активирует каскад воспалительных реакций, обуславливающих тяжесть течения БА [13].

Воздействие на дыхательную систему больных БА низких температур сопровождается увеличением концентрации в мокроте IL-10, IL-5 и IL-1b [14], что укладывается в концепцию антагонистических и синергических взаимоотношений цитокинов Th2 и Th1

эндотипов при БА. Доказано кардинальное влияние на ответ Th2 специфичного для БА транскрипционного фактора GATA-3, который участвует в индукции экспрессии цитокинов Th2, дифференцировке CD4+T-клеток в клетки типа Th2, ингибировании Th1 специфичных факторов и опосредующего такие компоненты клинического течения болезни, как бронхиальная гиперреактивность и ремоделирование бронхов [13, 15, 16].

Если ранее астма классифицировалась как преимущественно Th2-опосредованное воспаление, то в последние годы произошел сдвиг парадигмы. Становится все более очевидным, что ее утяжеление в значительной степени связано с нейтрофилами, которые присутствуют в большом количестве в мокроте больных БА с ХГДП [17]. Приоритетная роль в развитии нейтрофилии при смешанном паттерне хронического воспаления бронхов у больных БА принадлежит повышенной экспрессии цитокинов не Th2-типа, которыми являются IL-17 и провоспалительный интерферон (IFN) γ [1, 5]. Они могут считаться участниками иммунного ответа на воздействие физических и химических факторов окружающей среды [17, 18].

Экспрессию IL-17 связывают с явлениями нетоза нейтрофилов, часто развивающегося у астматиков по неаллергическому, или «жизненному», пути с образованием «энуклеированных цитопластов», индуцирующих дифференцировку наивных CD4+T-хелперных лимфоцитов (CD4+Th0) в субпопуляцию Т-хелперов 17 (Th17) – продуцентов IL-17 [5, 19]. «Энуклеированные цитопласты», найденные в легких в дополнение к «нейтрофильным внеклеточным ловушкам» (NETs), возникают вследствие десегментации ядра, распада на множество пузырьков ядерной оболочки и извержения деконденсированного хроматина через разрыв плазматической мембраны нейтрофилов с повторным запечатыванием цитолеммы. Если выброшенная двухцепочечная ДНК может взаимодействовать с дендритными клетками (ДК), локализованными среди покровных эпителиоцитов воздухоносных путей, через рецепторы TLR2, вызывая образование CD4+Th2, то активация ДК цитопластами, напротив, обуславливает дифференцировку Th0 в антигенспецифические Th17 [5, 11].

Взаимодействующие в Th17 и Th1 воспалительных ответах цитокины и активированные ферменты модифицируют структуру респираторного тракта больных БА, вызывая прогрессирование обструкции бронхов с их ремоделированием [20]. Известно, что IL-17 напрямую влияет на эпителиальные клетки дыхательных путей, фибробласты и гладкомышечные клетки [21], управляя как нейтрофильным, так и T2-звеном воспалительного каскада [22].

Интерес представляет дифференцировка клеток Th2 дыхательных путей в двойные положительные клетки Th2/Th17. Как следует из работ, выполненных *in vivo*, повышенная экспрессия клеток Th2/Th17 в бронхоальвеолярной лаважной жидкости ассоциируется с наиболее тяжелой обструкцией и гиперреактивностью дыхательных путей, приводя к увеличению кортикорезистентности при астме [2, 18, 23].

Гиперпродукция связанных с Th17 цитокинов, включая IL-17A и IL-17F, считается основной движущей силой для рекрутирования и активации нейтрофилов посредством индукции цитокинов и хемокинов CXCL8, IL-6, G-CSF и GM-CSF, IL-8, CXCL1 и CXCL5, экспрессия которых коррелирует с тяжестью астмы, нейтрофилией бронхиального воспаления [24]. Так, с нейтрофильным воспалительным фенотипом астмы ($\geq 40\%$ нейтрофилов в мокроте) сопряжено ухудшение функции легких, усиление симптомов болезни, увеличение содержания в мокроте IL-1b и воспалительного белка макрофагов MIP-3 alpha/CCL20 [4].

Как участнику нейтрофильного и системного воспаления важную роль отводят IL-8, который праймирует дыхательный взрыв нейтрофилов [25]. В числе провоспалительных цитокинов и хемокинов IL-8 преактивирует респираторные реакции клеток [26]. В качестве хемокина IL-8 играет ключевую роль в хемоаттракции нейтрофилов: стимулирует миграцию нейтрофилов из кровеносного русла в очаг воспаления, повышает в них концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} , что обеспечивает движение лейкоцитов и активирует пентозофосфатный шунт в этих клетках, вызывая продукцию свободных радикалов, дегрануляцию и экзоцитоз нейтрофильных ферментов [27]. Интеграция IL-8 с IL-1, GM-CSF, фактор некроза опухоли (TNF) α и другими провоспалительными цитокинами составляет цитокиновый фон, активирующий нейтрофилы [27], которые, в свою очередь, самостоятельно синтезируют и продуцируют цитокины – нейтрофилокины (GM-CSF, TNF α , IL-1, IL-6, IL-8), участвующие в кооперативном взаимодействии клеток фагоцитарной системы и действующие паракринно на макрофаги, аутокринно – на нейтрофилы [28].

Существует мнение, что нейтрофилы, стимулированные IL-8 при БА, путем модификации миграции эозинофилов через базальную мембрану слизистой оболочки бронхов приводят к эозинофилии дыхательных путей. Таким образом, вследствие усиленной миграции эозинофилов, индуцированной комплексом нейтрофилы + IL-8, приумножается возможность обострения болезни [29].

Экспрессия IL-8, TNF α и других хемокинов осуществляется под контролем NF-kB, оказывающего стимулирующее влияние на многочисленные гены, задействованные в иммунном, острофазовом, воспалительном ответах, реакции гладких мышц дыхательных путей [12]. В свою очередь, на активацию NF-kB оказывает синергичное прямое действие TNF α и бифункциональный фермент CD38, экспрессируемый в клетках иммунной системы, лейомиоцитах сосудов и бронхов. Молекула CD38, сочетающая активность рибозилциклазы аденозиндифосфата (АДФ) и гидролазы циклической АДФ-рибозы (цАДФР), служит маркером иммунопатологических процессов, характерных для БА [30]. Вызванная TNF α экспрессия CD38 потенцирует экспрессию множества провоспалительных генов, увеличивая сократимость гладких мышц, что приводит к повышению сопротивления дыхательных путей воздушному потоку и способствует развитию бронхиальной обструкции [30, 31]. Под воздействием холодного воздуха у больных с ХГДП происходит увеличение концентрации IL-1b, IL-8, TNF α [17]. Прослеживается тесная связь между содержанием TNF α в мокроте и выраженностью бронхоконстрикторной реакции на вдыхание холодного воздуха [17].

Кроме того, вполне вероятно, что у больных с ХГДП происходит снижение противовирусного иммунитета за счет подавления антивирусной и иммуномодуляторной активности IFN путем активации NF-kB и экспрессии генов провоспалительных цитокинов [32]. Это может являться причиной персистенции инфекции в дыхательных путях и рассматривается как один из потенциальных независимых механизмов неконтролируемого течения и обострения болезни [2, 13].

РЕСПИРАТОРНЫЙ ВЗРЫВ И АКТИВНОСТЬ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ БРОНХОВ

Провоспалительные цитокины GM-CSF, TNF α и IL-8 посредством феномена прайминга модулируют в нейтрофилах активность NADPH-оксидазы, многокомпонентной ферментной системы, катализирующей NADPH-зависимое восстановление кислорода до супероксида аниона O_2^{2-} . NADPH-оксидаза способна окислять восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADPH) и передислоцировать электроны с NADPH на молекулярный кислород [26]. Этот процесс (респираторный взрыв) регулируется многими рецепторными и нерепцепторными реакциями, которые завершаются конформационными изменениями компонентов NADPH-оксидазы и их готовностью вступать во взаимодействие друг с другом [26, 33].

Сборка единого NADPH-оксидазного комплекса находится в центре респираторного взрыва, запускается активацией клеточных рецепторов, киназ и гуанозинтрифосфатаз, приводящих к фосфорилированию и мембранной передислокации оксидантных компонентов [26, 33]. Принимая первый электрон, молекула кислорода превращается в супероксид анион-радикал O_2^- , при дальнейшем восстановлении происходит присоединение либо иона H^+ с появлением гидропероксид-радикала HO_2^* , либо электрона с образованием супероксид аниона O_2^{2-} .

В ходе респираторного взрыва спонтанно или под действием супероксиддисмутазы (СОД) происходит удаление агрессивного супероксид анион-радикала. К O_2^- присоединяется либо электрон, либо ион H^+ и образуется гидропероксид анион HO_2^- , который далее восстанавливается до более устойчивого пероксида водорода H_2O_2 . На этом этапе в респираторный взрыв встраивается высвобождаемая из лизосом нейтрофилов миелопероксидаза (МПО), конвертирующая на основе синтеза высокореакционноспособных галогенсодержащих соединений оксидативный стресс в галогенирующий [34, 35]. Главным продуктом взаимодействия МПО с H_2O_2 выступает хлорноватистая кислота (НОСЛ) – самый яркий из активных форм галогенов (АФГ) предшественник свободных радикалов [34, 35].

Каскад свободно-радикальных реакций, обусловленный оксидативным стрессом, вызывает нарушение структуры и функции биомембран, повреждение всех жизненно важных молекул в клетках респираторного тракта, приводя к дезорганизации паренхимы и стромы легких [36]. Участвующая в респираторном взрыве нейтрофилов МПО при взаимодействии с H_2O_2 катализирует окисление галогенид-ионов (Cl^- , Br^- , I^-), способствуя выработке гипогалогенитов, производных гипогалогенитов (НОСЛ, НОBr и НОI) и их ионизированных форм (гипохлорит, гипобромит и гипоиодит) [36]. В результате происходящих реакций обеспечивается связь между оксидативным и галогенирующим стрессом [34, 37].

МПО из азурофильных гранул нейтрофилов секретируется в межклеточное пространство в результате дегрануляции при респираторном взрыве. Показано, что у больных БА с ХГДП дегрануляция нейтрофилов в мокроте происходит до уровня деструкции [11]. Тотальной дегрануляции, которая в качестве предвестника деструкции реализует максимальные окислительные возможности нейтрофилов на пике респираторного взрыва, предшествует активация оксидаз, пропорциональная потребностям бронхиального воспаления в АФК и АФГ. Усиленный синтез и внутригранулярное депонирование

МПО с последующим экстрацеллюлярным экзцитозом фермента и продуктов его каталитической активности пролонгируют оксидативный стресс и провоцируют воспалительное повреждение эпителиальной паренхимы, сопровождая реакцию бронхов на холодное воздействие.

Накопление пероксидазных резервов нейтрофилов, стимулированное ускоренной утилизацией НОСЛ, гипохлорит-аниона и других ионизированных форм гипогалогенитов в матриксе бронхов, завершается функциональным истощением клеток, опустошением запаса пероксидазо-позитивных гранул, деструкцией и цитолизом с разрушением вначале цитоплазмы, затем ядра и клеточных лизисом [11]. Дифференциальным признаком трансформации физиологической дегрануляции как звена клеточной адаптации к холодному стрессу в патологическую деструкцию при БА являются вакуолизация и фрагментация цитоплазмы нейтрофилов [38].

В отличие от дегрануляции, при которой в межклеточное пространство секретируются преимущественно сохранившие структуру гранулы с депонированными в них ферментами, при деструкции нейтрофилов происходит лабильная мембран лизосом, и во внешнюю среду проникает лизосомный матрикс. В мазках мокроты содержание гранулоцитарной МПО определяется по реакции окисления бензидина в присутствии H_2O_2 [38]. Данная реакция показывает, насколько плотно, диффузно или зернисто может располагаться в цитоплазме гранулоцитов окрашенный в черный цвет продукт, маркирующий пероксидазную активность в условиях интенсивного синтеза и аккумуляции фермента в гранулах. Вследствие компактного расположения гранул размером свыше 0,3–0,4 мкм цитоплазма нейтрофилов либо заполняется интенсивно окрашенным диффузно-гранулярным материалом, маскирующим или не полностью маскирующим ядерные сегменты, либо приобретает однородную черную окраску, при которой бензидин, окисленный МПО, препятствует обнаружению клеточного ядра [38].

На фоне вакуолизированной просветленной цитоплазмы нейтрофилов при дегрануляции и деструкции пероксидазо-позитивные включения, маркированные бензидином, присутствуют в форме разреженных или единичных неярко окрашенных мелких гранул длиной до 0,2–0,3 мкм [38]. Низкое содержание МПО в нейтрофилах расценивается как следствие усиленной утилизации фермента при генерации АФГ, дегрануляции, деструкции и цитолиза клеток, связанных с респираторным взрывом и продукцией свободных радикалов. Все перечисленное стимулирует персистенцию воспаления, формирова-

ние чрезмерного ответа бронхов на холодовое воздействие, приводит к ухудшению функции внешнего дыхания и снижению контроля БА [3, 38].

ПРОФИЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ И ДЕСТРУКЦИЯ БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Наиболее выраженная деструкция эпителия наблюдается у больных БА со смешанным воспалительным паттерном вследствие происходящих интенсивных деструктивных процессов нейтрофильного пула [2, 39]. Деструкция эпителия слизистой оболочки бронхов оказывает негативное влияние на проходимость дыхательных путей, достижение контроля заболевания, внося свой вклад в формирование повышенного ответа бронхов на воздействие холода с появлением ХГДП [39].

Экспортируемая нейтрофилами генерация АФК и АФГ рассматривается в качестве причины свободно-радикального повреждения крист митохондрий и разрушения эндоплазматического ретикулума бронхиального эпителия с последующей гибелью клеток [40]. Предполагается, что в этом случае сигналы апоптоза передаются в эпителий не по прямому пути, от лигирования рецептора смерти до активации каспазного каскада и гибели клеток, а по пути, опосредованному дезэнергизацией эпителиоцитов [40]. Активно развивающаяся при астме дисфункция эпителия отождествляется с низким уровнем экспрессии факторов антиоксидантной защиты, в частности СОД, которая способствует увеличению восприимчивости эпителиальных клеток к агрессивному действию оксидантов [41]. С активацией нейтрофильного звена воспаления бронхов [42] связывают и более выраженную мукоцилиарную дисфункцию у больных БА, реагирующих на холодный воздух [43]. Так, у больных с ХГДП найдена тесная связь между нарушениями в структурной организации бокаловидного эпителия, высоким числом нейтрофилов мокроты и выраженностью холодового бронхоспазма, что служило фактором риска эскалации мукоцилиарной недостаточности [43].

По данным ряда источников, окислительное повреждение воздухоносного эпителия приводит к экзоцитозу из интраэпителиально расположенных нервных окончаний С-волокон (неадренэргических и(или) холинергических) субстанции Р, нейрокининов А и В – нейротрансмиттеров, обладающих выраженными бронхоконстрикторными и вазодилаторными эффектами [41]. Продуцируемые вещества активируют тучные клетки, макрофаги, Т- и В-лимфоциты, служат хемоаттрактантами для эозинофилов и нейтрофилов. Происходит ингибирование синтеза нейросекреторными клетками бронхиально-

го покрова вазоактивного интестинального пептида, нарушение выработки PgE_2 , экспрессируются поверхностные клеточные рецепторы, провоспалительные цитокины, хемоаттрактанты, GM-CSF [41].

Имеются сведения, что эпителиальные клетки из бронхобиоптатов больных БА характеризуются значительным усилением продукции GM-CSF и экспрессией провоспалительных IL-6, IL-8, содержание которых резко возрастает под воздействием экзогенных факторов [2]. Воздействие на дыхательные пути холодного воздуха у больных с ХГДП сопровождается гиперпродукцией IL-8, TNF α , нарастанием цитоза, повышением доли нейтрофилов в мокроте, приводя к дисбалансу в системе связанных с бронхоспазмом цитокинов [17]. Параллельно происходит снижение числа клеток бронхиального эпителия, которое сопряжено с индукцией Th1 цитокинов и сдвигом гуморального воспаления в Th1 цитокиновый профиль. Помимо того, снижение связывают с эпителиальной деструкцией, паренхиматозной модификацией дыхательных путей, экспрессией фактора NF- κ B и высвобождением провоспалительных медиаторов при оксидативном повреждении [2, 17]. Двухнаправленное поведение NF- κ B, который индуцирует цитокины и индуцируется с помощью цитокинов, контролируя экспрессию генов провоспалительных цитокинов, является основополагающим моментом, объединяющим оксидантные функции нейтрофилов и провоспалительную активность эпителия дыхательных путей, что вносит важный вклад в патогенез гиперреактивности и ремоделирования бронхов [30].

Помимо окислительного повреждения, нейтрофилы продуцируют протеазы. Совместное действие обоих факторов вызывает прямое неспецифическое повреждение тканей легкого. Продукция матриксных металлопротеиназ (ММП) способствует деградации внеклеточного матрикса при БА [2]. Как оказалось, ММП-9 может разрушать компоненты внеклеточного матрикса, включая IV тип коллагена базальной мембраны, который вносит значительный вклад в целостность эндотелия и (или) эпителия [2]. Исследования показывают, что процессы ремоделирования вызваны дифференцировкой мезенхимальных клеток субэпителиального слоя бронхов в миофибробласты [44] с уплотнением ретикулярной базальной мембраны, интерстициальным фиброзом и атрофией покровного эпителия [45]. Следовательно, активация нейтрофильного сегмента гранулоцитарного воспаления у больных БА не только ассоциируется с разрушением эпителиального пласта респираторного тракта и бронхиальной гиперреактивностью, но и манифестирует эскалацию ремоделирования бронхов, переводя астму в более тяжелую форму.

ЦИТОЛИЗ И НЕТОЗ КАК АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ АПОПТОЗУ ВАРИАНТЫ ГИБЕЛИ НЕЙТРОФИЛОВ БРОНХОВ ПРИ АСТМЕ

Если деструкция гранулоцитов представляет собой процесс, отражающий общебиологические закономерности динамики их функциональной активности [46], то интенсификация деструкции и цитоллиз трактуются как результат стимулированной функциональной активности, ассоциированной с прогрессирующей воспалительной альтерацией, лизисом клеточной мембраны, изоляцией и некрозом клетки [47].

При БА в гранулоцитах наблюдается IL-5-зависимое увеличение экспрессии генов *bcl-2*, обуславливающее супрессию апоптоза, пролонгацию повреждающей активности гранулоцитов и увеличение доли некротически гибнущих клеток [48]. Регулирующие апоптоз антиапоптозные факторы образуются в очаге воспаления, между тем как в межмембранном пространстве митохондрий нейтрофилов содержатся проапоптозные белки, проникающие при апоптозе в цитозоль [49].

При заболеваниях дыхательной системы самым уязвимым звеном в патогенезе повреждения субклеточных структур являются мембраны митохондрий. Изменения в митохондриях вызывают нарушения процессов биологического окисления и клеточного дыхания, приводят к снижению интенсивности энергообмена, дефициту аденозинтрифосфорной кислоты и развитию деструкции в других органеллах и клетке в целом [5]. Снижение способности нейтрофилов к апоптозу коррелирует с деструкцией митохондриальных крист и свидетельствует о деэнергизации клеток [46, 49], при этом у больных БА отмечается двукратное (в 2,1 раза по сравнению с контролем) увеличение пула низкоэнергизованных клеток, характеризующихся разрушением крист и наружной мембраны митохондрий [46]. К стимуляции цитолиза нейтрофилов непосредственно причастен и феномен активации лизосомных фосфатаз, обуславливающий при БА повышение активности кислой фосфатазы нейтрофилов на 22,0% [49].

Наиболее вероятно, что к механизму, ответственному за уменьшение количества нейтрофилов в дыхательных путях больных БА, помимо цитолиза, принадлежит такой альтернативный апоптозу вариант судьбы нейтрофилов, как «классический» нетоз – процесс программируемой кислородозависимой гибели клеток. Его целью является получение в ответ на действие раздражителей высокоактивных «нейтрофильных внеклеточных ловушек» (neutrophil extracellular traps, NETs) – важного инструмента фагоцитоза и элиминации патогенов и продуктов вос-

паления [50–53]. Провоспалительными агентами, стимулирующими нетоз, могут выступать H_2O_2 , бактериальные липополисахариды, митоген фолболмиристатацетат, хемокин IL-8 и продукт расщепления 5-го компонента комплемента во время его активации в сыворотке крови (C5a), но только после праймирования нейтрофилов интерферонами (IFN γ + C5a, IFN α + C5a) или GM-CSF (GM-CSF + C5a) [51]. Как полагают, способностью к нетозу обладают практически все нейтрофилы ввиду наличия в этих клетках регуляторных механизмов старта программы, завершающейся образованием NETs [50].

Формирование NETs начинается с праймирования нейтрофилов, запуска NADPH-оксидазного ферментного комплекса, дыхательного взрыва, образования АФК, индуцирующих нейтрофильную эластазу и PAD-4, превращая аргинин и остатки метиларгинина в цитруллин в гистоновых белках ядра [51, 54]. Вследствие этого происходит деконденсация хроматина с одновременным нарушением структурной целостности мембран цитоплазматических гранул [51, 53]. При смешивании деконденсированного хроматина (нити ДНК, гистоны) с ферментами гранул лизосом сетеподобные NETs секретируются во внеклеточное пространство [50–53].

В состав NETs входят МПО, нейтрофильная эластаза, катепсин G, желатиназа, антибактериальные пептиды, гистоны, гуморальный паттерн-распознающий рецептор пентраксин 3 и белки, распознающие пептидогликан [51]. В процессе образования NETs путем смешивания ядерного хроматина с содержащим лизосомных гранул активированный нейтрофил еще сохраняет свою жизнеспособность и функциональную активность. Гибель активированной («поврежденной») клетки происходит только после высвобождения сетеподобных структур во внеклеточное пространство [49]. Следовательно, речь идет о существовании «жизненных» NETs, играющих роль в воспалении не типа Th2, коррелирующих с уровнем IL-17 и нейтрофилией бронхоальвеолярного лаважа [5, 19] и обнаруживаемых в дыхательных путях больных в результате атак риновирусных инфекций, провоцирующих обострения БА [19]. Прижизненный, или витальный, выброс хроматина нейтрофилами, праймированными провоспалительными цитокинами GM-CSF и IL-5/IFN γ и сохраняющими свои эффекторные функции еще некоторое время после образования NETs, развивается значительно быстрее классического («суицидального») нетоза. Однако в любом случае после уничтожения патогена и завершения инфекционного процесса NETs должны быть элиминированы при участии ДНКазы I и лизиса макрофагами. Гиперпродукция NETs, а так-

же нарушение механизмов их устранения, например в отсутствие ДНКазы I, способны явиться причиной развития воспалительной или аутоиммунной патологии [55].

Таким образом, даже альтернативные апоптозу пути гибели нейтрофилов дыхательных путей – цитоллиз как исход индуцированной респираторным взрывом ферментативной активности клеток и нетоз как инструмент секреции медиаторов воспаления стимулированными АФК NETs – могут рассматриваться с позиций участия данных явлений в патофизиологических механизмах активности нейтрофилов при смешанном воспалительном фенотипе БА.

На основании изложенных данных можно определить некоторые потенциальные области дальнейшего исследования проблемы смешанного гранулоцитарного паттерна воспаления у больных БА с ХГДП. Так, целесообразно изучить NETs в качестве маркера IL-17-опосредованного нейтрофильного воспаления, негативно воздействующего на клинические проявления астмы, поскольку установлено индуцирующее воздействие NETs на дифференцировку CD4⁺ T-клеток в Th17 и продукцию IL-17 [19]. Как известно, IL-17A совместно с TNF α индуцирует продукцию нейтрофильного хемокина CXCL-8 бронхиальным эпителием за счет дефекта ингибиции экспрессии CXCL-8 внутренним белком-репрессором, что вызывает гиперреактивность и дисфункцию эпителия [56]. Нормализация в бронхиальном эпителии цитоплазматической транслокации белка-репрессора, ингибирующего CXCL-8, является потенциальной терапевтической мишенью при нейтрофильной астме. Помимо определения в мокроте и бронхиальном эпителии больных БА с ХГДП уровня IL-17 (IL-17A, IL-17F), играющего ключевую роль при нейтрофильном воспалительном эндотипе, необходимо определение компонентов сигнального пути IL-17, активирующего транскрипцию целевых IL-17A-генов провоспалительных цитокинов. Ключевым компонентом канонического сигнального пути IL-17 рассматривается регулятор TRAF6 (фактор 6, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли), модификация которого приводит к активации NF-kB и путей MAPK.

Наконец, учитывая, что рекрутинг нейтрофилов в дыхательные пути связан с повышением уровня протеолитических ферментов, включая нейтрофильную эластазу и матриксную металлопротеиназу-9 (MMP9) [57], перспективно изучение активности в мокроте данных ферментов, вызывающих деструкцию коллагеновых волокон и участвующих в ремоделировании бронхов. Высокие уровни нейтрофильной эластазы и MMP9 могут рассматриваться в

качестве маркеров активации протеолиза, интенсифицирующего ремоделирование дыхательных путей и контролируемого эффектами IL-17A.

В качестве потенциальных мишеней для таргетной терапии БА у больных с ХГДП со смешанным гранулоцитарным паттерном воспаления следует рассматривать создание биологических препаратов на основе моноклональных антител – ингибиторов и антагонистов клеток Th17, IL-17, TNF α , IL-8, IL-6, NF-kB-зависимых провоспалительных цитокинов, иммунных реакций Th1.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Gibson P.G., Foster P.S. Neutrophilic asthma: welcome back! *Eur. Respir. J.* 2019;54(5):1901846. DOI: 10.1183/13993003.01846-2019
2. Snelgrove R.J., Patel D.F., Patel T., Lloyd C.M. The enigmatic role of the neutrophil in asthma: Friend, foe or indifferent? *Clin. Exp. Allergy.* 2018;48(10):1275–1285. DOI: 10.1111/cea.13191.
3. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Ульянычев Н.В. Профиль воспаления бронхов и особенности течения легкой бронхиальной астмы. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2018;70:8–14. DOI: 10.12737/article_5c1261aede84.53569846.
4. Hastie A.T., Moore W.C., Meyers D.A., Vestal P.L., Li H., Peters S.P. et al. Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010;125(5):1028–1036. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.02.008.
5. Duvall M.G., Krishnamoorthy N., Levy B.D. Non-type 2 inflammation in severe asthma is propelled by neutrophil cytoplasm and maintained by defective resolution. *Allergol. Int.* 2019;68(2):143–149. DOI: 10.1016/j.alit.2018.11.006.
6. Salter B., Lacy P., Mukherjee M. Biologics in asthma: A molecular perspective to precision medicine. *Front. Pharmacol.* 2022;12:793409. DOI: 10.3389/fphar.2021.793409.
7. Огородова Л.М., Селиванова П.А., Геренг Е.А., Богомяков В.С., Волкова Л.И., Плешко Р.И. Патоморфологическая характеристика нестабильной бронхиальной астмы (фенотип brittle). *Терапевтический архив.* 2008;80(3):39–43.
8. Zhang X., Xu Z., Wen X., Huang G., Nian S., Li L. et al. The onset, development and pathogenesis of severe neutrophilic asthma. *Immunol. Cell Biol.* 2022;100(3):144–159. DOI: 10.1111/imcb.12522.
9. Qiu Y., Zhu J., Bandi V., Guntupalli K.K., Jeffery P.K. Bronchial mucosal inflammation and upregulation of CXC chemoattractants and receptors in severe exacerbations of asthma. *Thorax.* 2007;62(6):475–482. DOI: 10.1136/thx.2006.066670.
10. Turato G., Baraldo S., Zuin R., Sassetta M. The laws of attraction: chemokines, neutrophils and eosinophils in severe exacerbations of asthma. *Thorax.* 2007;62(6):465–466. DOI: 10.1136/thx.2006.070656.
11. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Бородин Е.А., Ушакова Е.В., Макарова Г.А. и др. Особенности бронхиального воспаления у больных астмой с гиперреактивностью дыхательных путей на холодовой и осмо-

- тические триггеры. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(2):159–169. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-2-159-169.
12. Mindt B.C., Krisna S.S., Duerr C.U., Mancini M., Richer L., Vidal S.M. et al. The NF- κ B transcription factor c-Rel modulates group 2 innate lymphoid cell effector functions and drives allergic airway inflammation. *Front. Immunol.* 2021;12:664218. DOI: 10.3389/fimmu.2021.664218.
 13. Куликов Е.С., Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., Деев И.А., Селиванова П.А., Федосенко С.В. и др. Молекулярные механизмы тяжелой бронхиальной астмы. *Молекулярная медицина*. 2013;2:24–32.
 14. Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Афанасьева Е.Ю., Котова О.О., Шелудько Е.Г., Ушакова Е.В. Особенности цитокинового профиля индуцированной мокроты у больных бронхиальной астмой при холодовом воздействии. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2019;72:8–15. DOI: 10.12737/article_5d09d1aff1f5f6.43795360.
 15. Peebles R.S. Jr., Aronica M.A. Proinflammatory pathways in the pathogenesis of asthma. *Clin. Chest Med.* 2019;40(1):29–50. DOI: 10.1016/j.ccm.2018.10.014.
 16. Курбачева О.М., Дынева М.Е., Шиловский И.П., Савлевич Е.Л., Ковчина В.И., Никольский А.А. и др. Особенности молекулярных механизмов патогенеза бронхиальной астмы в сочетании с полипозным риносинуситом. *Пульмонология*. 2021;31(1):7–19. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-1-7-19.
 17. Пирогов А.Б., Наумов Д.Е., Гассан Д.А., Афанасьева Е.Ю., Котова О.О., Шелудько Е.Г. и др. Клеточное воспаление и профиль цитокинов бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2020;75:21–31. DOI: 10.36604/1998-5029-2020-75-21-31.
 18. Irvin C., Zafar I., Good J., Rollins D., Christianson C., Gorska M.M. et al. Increased frequency of dual-positive TH2/TH17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014;134(5):1175–1186. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.05.038.
 19. Krishnamoorthy N., Douda D.N., Brüggemann T.R., Ricklefs I., Duvall M.G., Abdulnour R.E. et al. Neutrophil cytoplasts induce TH17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma. *Sci. Immunol.* 2018;3(26):eaao4747. DOI: 10.1126/sciimmunol.aao4747.
 20. Esteban-Gorgojo I., Antolín-Amérigo D., Domínguez-Ortega J., Quirce S. Non-eosinophilic asthma: current perspectives. *J. Asthma Allergy*. 2018;11:267–281. DOI: 10.2147/jaa.s153097.
 21. Hynes G.M., Hinks T.S.C. The role of interleukin-17 in asthma: a protective response? *ERJ Open Res.* 2020;6(2):00364–2019. DOI: 10.1183/23120541.00364-2019.
 22. Lim H.F., Nair P. Airway inflammation and inflammatory biomarkers. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2018;39(1):56–63. DOI: 10.1055/s-0037-1606217.
 23. Никольский А.А., Шиловский И.П., Юмашев К.В., Вишнякова Л.И., Барвинская Е.Д., Ковчина В.И. и др. Влияние локального подавления экспрессии гена *Stat3* на нейтрофильное воспаление легких в экспериментальной модели на мышах. *Иммунология*. 2021;42(6):600–614. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-6-600-614.
 24. Wisam A.R., Préfontaine D., Chouiali F., Martin J.G., Olivenstein R., Lemiére C. et al. TH17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma. *Allergy Clin. Immunol.* 2009;123(5):1185–1187. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.02.024.
 25. Wood L.G., Baines K.I., Fu J., Scott H.A., Gibson P.G. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. *Chest*. 2012;142(1):86–93. DOI: 10.1378/chest.11-1838.
 26. Sheppard F.R., Kelher M.R., Moore E.E., McLaughlin N.J.D., Banerjee A., Silliman C.C. Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation. *J. Leukoc. Biol.* 2005;78(5):1025–1042. DOI: 10.1189/jlb.0804442.
 27. Серебrenникова С.Н., Семинский И.Ж. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение 1). *Сибирский медицинский журнал*. 2008;81(6):5–8.
 28. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами. *Иммунология*. 2000;5:11–7.
 29. Kikuchi I., Kikuchi S., Kobayashi T., Hagiwara K., Sakamoto Y., Kanazawa M. et al. Eosinophil trans-basement membrane migration induced by interleukin-8 and neutrophils. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2006;34(6):760–765. DOI: 10.1165/rcmb.2005-0303OC.
 30. Соловьева И.А., Собко Е.А., Крапошина А.Ю., Демко И.В., Салмина А.Б. Современные представления о роли CD38 в патогенезе бронхиальной астмы. *Пульмонология*. 2013;23(5):81–84. DOI: 10.18093/0869-0189-2013-0-5-81-84.
 31. Tirumurugan K.G., Kang B.N., Panettieri R.A., Foster D.N., Walseth T.F., Kannan M.S. Regulation of the cd38 promoter in human airway smooth muscle cells by TNF-alpha and dexamethasone. *Respir. Res.* 2008;9(1):26. DOI: 10.1186/1465-9921-9-26.
 32. Wei L., Sandbulte M.R., Thomas P.G., Webby R.J., Homayouni R., Pfeffer L.M. NF κ B negatively regulates interferon-induced gene expression and anti-influenza activity. *J. Biol. Chem.* 2006;281(17):11678–11684. DOI: 10.1074/jbc.m513286200.
 33. Маянский А.Н. НАДФ-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция. *Цитокины и воспаление*. 2007;6(3):3–13.
 34. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры. *Вестник Российской АМН*. 2010;1:27–39.
 35. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. Хлорноватистая кислота как предшественник свободных радикалов в живых системах. *Успехи биологической химии*. 2013;53:195–244.
 36. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. *Пульмонология*. 2012;22(1):5–10. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10.
 37. Senthilmohan R., Kettle A.J. Bromination and chlorination reactions of myeloperoxidase at physiological concentrations of bromide and chloride. *Arch. Biochem. Biophys.* 2006;445(2):235–244. DOI: 10.1016/j.abb.2005.07.005.
 38. Пирогов А.Б., Зиновьев С.В., Перельман Ю.М., Семи-реч Ю.О., Семенова Г.В., Колосов А.В. Активность миелопероксидазы нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов

- индуцированной мокроты у больных бронхиальной астмой с холодовой бронхиальной гиперреактивностью. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2014;53:50–56.
39. Пирогов А.Б., Гассан Д.А., Зиновьев С.В., Приходько А.Г., Колосов В.П., Перельман Ю.М. Деструкция эпителия бронхов у больных тяжелой бронхиальной астмой при различных паттернах воспаления и холодовой гиперреактивности дыхательных путей. *Терапевтический архив*. 2019;91(3):31–35. DOI: 10.26442/00403660.2019.03.000091.
40. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling. *Cell. Mol. Immunol.* 2007;4(6):419–429.
41. Конищева А.Ю., Гervазиева В.Б., Лаврентьева Е.Е. Особенности структуры и функции респираторного эпителия при бронхиальной астме. *Пульмонология*. 2012;22(5):85–91. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-85-91.
42. Mall M.A. Role of cilia, mucus, and airway surface liquid in mucociliary dysfunction: lessons from mouse models. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug. Deliv.* 2008;21(1):13–24. DOI: 10.1089/jam.2007.0659.
43. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Перельман Ю.М., Чжоу С.Д., Ли Ц. Особенности структурной организации бокаловидного эпителия бронхов у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2018;67:17–24. DOI: 10.12737/article_5a9f25a71c7b18.21464221.
44. Holgate S.T. The sentinel role of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Immunol. Rev.* 2011;242(1):205–219. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01030.x.
45. Геренг Е.А., Суходоло И.В., Плешко Р.И., Огородова Л.М., Селиванова П.А., Дзюман А.Н. Цитоморфологический анализ ремоделирования бронхиальной стенки при различных типах бронхиальной астмы. *Клиническая медицина*. 2012;90(2):24–27.
46. Киселева Р.Е., Федотова Г.Г. Апоптоз и его роль в ответе нейтрофилов. *Современные наукоемкие технологии*. 2005;8:75–76.
47. Невзорова В.А., Пазыч С.А., Бархатова Д.А., Кудрявцева В.А. Роль процессов клеточной гибели в развитии воспаления при бронхиальной астме. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2006;2:54–58.
48. Иванчук И.И., Сазонов А.Э., Петровский Ф.И., Лещева И.С., Копьева А.П., Петрова И.В. Роль интерлейкина-5 в механизмах апоптотической гибели эозинофилов периферической крови больных бронхиальной астмой. *Бюллетень сибирской медицины*. 2003;2:38–43.
49. Киселева Р.Е., Федотова Г.Г. Деструктивные изменения в лейкоцитах при бронхолегочной патологии. *Современные наукоемкие технологии*. 2007;1:81–82.
50. Williams T.L., Rada B., Tandon E., Gestal M.C. “NETs and EETs, a Whole Web of Mess”. *Microorganisms*. 2020;8(12):1925. DOI: 10.3390/microorganisms8121925.
51. Köckritz-Blickwede von M., Nizet V. Innate immunity turned inside-out: antimicrobial defense by phagocyte extracellular traps. *J. Mol. Med.* 2009;87(8):775–783. DOI: 10.1007/s00109-009-0481-0.
52. Коротина О.Л., Генералов И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2012;4:23–32.
53. Кравцов А.Л. Формирование внеклеточных ловушек – эффективный механизм защиты организма от патогена. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012;112:69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-69-74.
54. Chen F., Yu M., Zhong Y., Wang L., Huang H. Characteristics and role of neutrophil extracellular traps in asthma. *Inflammation*. 2022;45(1):6–13. DOI: 10.1007/s10753-021-01526-8.
55. Vorobjeva N.V. Neutrophil extracellular traps: new aspects. *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2020;75(4):173–188. DOI: 10.3103/S0096392520040112.
56. Ravi A., Chowdhury S., Dijkhuis A., Bonta P.I., Sterk P.J., Lutter R. Neutrophilic inflammation in asthma and defective epithelial translational control. *Eur. Respir. J.* 2019;54(2):1900547. DOI: 10.1183/13993003.00547-2019
57. Lindén A., Dahlén B. Interleukin-17 cytokine signalling in patients with asthma. *Eur. Respir. J.* 2014;44(5):1319–1331. DOI: 10.1183/09031936.00002314.

Информация об авторах

Пирогов Алексей Борисович – канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, dncfpd@dncfpd.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5846-3276>

Приходько Анна Григорьевна – д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, prih-anya@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2847-7380>

Пирогова Наталья Алексеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск, dncfpd@dncfpd.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6350-7392>

Перельман Юлий Михайлович – член-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор, руководитель лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, ДНЦ ФПД, jperelman@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9411-7474>

(✉) **Пирогов Алексей Борисович**, dncfpd@dncfpd.ru

Поступила в редакцию 14.04.2022;
одобрена после рецензирования 08.07.2022;
принята к публикации 08.09.2022

УДК 614.79:614.25

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-153-163>

Мировые практики привлечения и удержания медицинских работников в сельских районах (обзор литературы)

Чигрина В.П., Тюфилин Д.С., Деев И.А., Кобякова О.С.

Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения (ЦНИИОИЗ)

Россия, 127254, г. Москва, ул. Добролюбова, 11

РЕЗЮМЕ

Привлечение и удержание врачей и среднего медицинского персонала, особенно для работы в сельских районах, является глобальной проблемой системы здравоохранения, ставящей под угрозу непрерывность и доступность оказания медицинской помощи значительной части населения.

Целью данного исследования является обобщение имеющихся на сегодняшний день данных о практиках привлечения медицинского персонала, прежде всего в сельскую местность, и ключевых факторах, влияющих на удержание работников в сфере здравоохранения, что в будущем поможет разработать научно обоснованные мероприятия и подходы к привлечению и удержанию медицинского персонала и тем самым позволит сократить кадровый дефицит в системе здравоохранения Российской Федерации. Поиск отечественной и зарубежной литературы проведен в базах данных PubMed, Science Direct, Cochrane Library, Google Scholar, eLibrary.

Все изучаемые в настоящем исследовании факторы, влияющие на привлечение и удержание медицинских работников в сельской местности, объединены в четыре основные группы: финансовые, социальные, карьерные (профессиональные), личностные. Современные стратегии по привлечению персонала можно разделить на три направления: финансовые, организационные и образовательные.

Результаты обзора свидетельствуют, что в Российской Федерации реализуется большая часть мировых практик по привлечению и удержанию специалистов в сельских районах. Однако существуют мероприятия, которые не нашли своего применения в нашей стране. Данные практики могут стать дополнительными при формировании региональных программ по развитию кадрового потенциала здравоохранения, увеличивающие их эффективность.

Ключевые слова: привлечение, удержание, медицинские работники, сельские районы, стратегии, обзор

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

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

Для цитирования: Чигрина В.П., Тюфилин Д.С., Деев И.А., Кобякова О.С. Мировые практики привлечения и удержания медицинских работников в сельских районах (обзор литературы). *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):153–163. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-153-163>.

Global best practices in recruiting and retaining healthcare workers in rural areas (literature review)

Chigrina V.P., Tyufilin D.S., Deev I.A., Kobayakova O.S.

Russian Research Institute of Health

11, Dobrolyubova Str., Moscow, 127254, Russian Federation

ABSTRACT

A significant issue for global healthcare is recruitment and retention of doctors and nurses, especially in rural areas. It threatens continuity and accessibility of medical care for a large segment of the population.

The aim of this article was to summarize currently available data on healthcare recruitment practices, particularly in rural areas, and key factors influencing retention of healthcare professionals. This will allow to develop evidence-based strategies for recruitment and retention of healthcare workers in the Russian Federation and reduce personnel shortage. International and Russian full-text articles were searched for in PubMed, ScienceDirect, Cochrane Library, Google Scholar, and eLibrary databases.

All the studied factors influencing recruitment and retention of healthcare professionals in rural areas were grouped into four main categories: financial, social, professional, and personal. Modern healthcare recruitment strategies were divided into three groups: financial, organizational, and instructional.

The review results suggest that the Russian Federation uses the majority of global strategies to recruit and retain healthcare professionals in rural areas. However, there are some activities that have not been adopted in our country. They may be included in healthcare management practices to increase the effectiveness of regional programs for development of human capital in healthcare.

Keywords: recruitment, retention, strategies, healthcare workers, rural areas, overview

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: Chigrina V.P., Tyufilin D.S., Deev I.A., Kobayakova O.S. Global best practices in recruiting and retaining healthcare workers in rural areas (literature review). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):153–163. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-153-163>.

ВВЕДЕНИЕ

Дефицит врачей и среднего медицинского персонала, особенно в сельских и отдаленных районах, является глобальной проблемой здравоохранения, ставящей под угрозу непрерывность и доступность медицинской помощи [1]. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, уже к 2030 г. прогнозируемый дефицит медицинских работников составит 17 млн человек [2]. В соответствии с информацией от Всемирного экономического форума к 2030 г. дефицит медицинских кадров достигнет 14,5 млн специалистов [3]. Согласно данным Росстата, дефицит специалистов сферы здравоохранения в Российской Федерации на 2021 г. составляет 24,7 тыс. врачей и 127,1 тыс. средних медицинских работника [4]. Причинами этого, согласно мнению большинства исследователей, могут являться про-

блемы в медицинском образовании, низкий социальный статус врачей, высокая рабочая нагрузка, условия труда и низкий уровень заработной платы [5]. Кроме абсолютного дефицита регистрируется и неравномерное распределение медицинского персонала по специальностям и географическим районам [6, 7].

Для решения проблемы кадрового дефицита во всем мире активно разрабатываются и внедряются стратегии, способствующие привлечению и удержанию специалистов в отрасли [8, 9]. Учитывая, что на мотивацию медицинских работников влияет комплекс взаимосвязанных факторов, для их эффективного привлечения и удержания требуется правильно подобранная комбинация различных мероприятий [10].

Целью данного исследования является обобщение имеющихся на сегодняшний день данных о прак-

тиках привлечения медицинского персонала, прежде всего в сельскую местность, и ключевых факторах, влияющих на удержание работников в сфере здравоохранения, что в будущем поможет разработать научно обоснованные мероприятия и подходы по сокращению кадрового дефицита в системе здравоохранения Российской Федерации.

Поиск публикаций проведен в базах данных PubMed, ScienceDirect, Cochrane Library, Google Scholar, eLibrary. В качестве ключевых слов использованы: attract, recruitment, retention, health workers, привлечение, сохранение, медицинские работники и др. Период публикаций: 2015–2022 гг. По отдельным вопросам проведен более глубокий поиск данных. Всего проанализировано 3 890 источников, из которых отобрано 540 репрезентативных исследований, в итоговую версию обзора включили 65, посвященных мероприятиям по привлечению и удержанию медицинского персонала.

ФАКТОРЫ ПРИВЛЕЧЕНИЯ И УДЕРЖАНИЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ В СЕЛЬСКОЙ МЕСТНОСТИ

Решение специалистов остаться или оставить работу в сельской местности является комплексным и зависит от множества аспектов [11]. На основании анализа публикаций все факторы, влияющие на это решение, объединены в четыре основные группы.

Финансовые факторы включают: уровень заработной платы, возмещение стоимости обучения, предоставление пособий и субсидий. В большинстве исследований уровень оплаты являлся одним из основных стимулов к работе специалистов в медицинских организациях села. Например, по данным J Witt (2017, $n = 2478$, Канада) заработная плата, продолжительность рабочего дня и частота вызовов на дом являлись наиболее важными факторами при выборе места работы [12]. В рамках исследования N. Nurelhuda и соавт. (2018, $n = 455$) студенты медвузов считали важным предоставление стипендий в период обучения региональным здравоохранением [13]. В аналогичном исследовании F. Efendi и соавт. (2016) в Индонезии ($n = 400$) получены сопоставимые данные и выявлена важность наличия современного оборудования высокого качества [14]. По результатам опроса S.C. Okoroafor и соавт. (2021, $n = 198$, Нигерия), вероятность согласия работать в селе была в 2,7 раза выше при получении надбавки к заработной плате и в 4 раза – при предоставлении жилья или жилищного пособия [15].

Согласно результатам глубинного интервью L. Berman и соавт. (2021), малазийские врачи ($n = 472$)

в 6,67 раза чаще выбирали бы работу в селе при условии повышения заработной платы на 50% (95%-й доверительный интервал (95%ДИ): 5,66–8,08) [16]. В российском исследовании В.А. Смиянова и соавт. (2017, $n = 167$) большинство врачей согласились бы на увеличение рабочей нагрузки за дополнительную плату, однако они не были готовы поменять работу на более оплачиваемую [17]. В исследовании О.А. Доцанниковой и соавт. (2020, $n = 561$) $16,8 \pm 1,6\%$ врачей приняли решение уехать из села по окончании срока участия в Программе социально-экономической поддержки. Наиболее весомыми аргументами были «низкая заработная плата» ($39,3 \pm 2,1\%$) и «семейные обстоятельства» ($21,3 \pm 1,73\%$) [18]. Проведенный M.L. Prust и соавт. (2021) опрос 259 врачей и 215 студентов медвузов из Замбии свидетельствует, что участники чаще выбирали бы работу в труднодоступных районах при предоставлении им жилья в селе (ОШ = 5,04, 95% ДИ: 4,12–6,18), в городе (ОШ = 2,21, 95%ДИ: 1,86–2,62) или выплаты после 4 лет работы в сельской медицинской организации (95%ДИ: 1,69–2,33) [19].

Социальные факторы включают условия жизни и работы. Так, по результатам австралийского опроса медицинских сестер, проведенного M. Prengaman и соавт. (2017), наличие материалов и оборудования для работы оказало наибольшее влияние на привлечение и удержание медицинских сестер в сельской местности [20]. Согласно S.C. Okoroafor и соавт. (2022, Нигерия, $n = 145$), вероятность работы в селе увеличивалась в 6,17 раз при наличии школьного образования для детей, в 14,6 раз – при предоставлении жилья и в 14,4 раз – при улучшении условий жилья и работы [21]. В исследовании U. Lawan и соавт. (2017, $n = 262$, Нигерия) ключевыми факторами являлись инфраструктура и наличие оборудования (92,3%), улучшение жилищных условий (91,2%), наличие питьевой воды и электричества (91,5%), а также школ для детей (91,5%) [22]. Согласно опросу S.B. Boadi-Kusi и соавт. (2018, $n = 333$, Нигерия), для 71,2% улучшение жилищных условий играло ключевую роль при решении переехать в сельскую местность [23].

В представленном ранее исследовании L. Berman и соавт. (2021) жилье, качество рабочих помещений и уровень рабочей нагрузки являлись наиболее важными факторами при выборе места работы. Так, респонденты в 2,04 раза чаще выбирали бы работу в сельской местности при улучшении жилищных условий (95%ДИ: 1,71–2,44) и в 1,7 раза чаще – рабочего места (95%ДИ: 1,47–1,96) [16].

Карьерные (профессиональные) факторы включают возможность дополнительного обучения и

занятия научной и педагогической деятельностью, повышения квалификации за счет средств работодателя, карьерного роста, а также поддержку со стороны профессионального сообщества [24–26]. Важность указанных факторов доказана во вьетнамских исследованиях V.A.T. Nguyen и соавт. (2020, 2021, $n = 167$) [25, 26]. В опросе S. Mollahaliloğlu и соавт. (201, $n = 1\,340$) сельские медицинские работники утверждали, что удаленное местонахождение медицинской организации мешало им в развитии профессиональных навыков [27]. В ранее упомянутом исследовании S.B. Boadi-Kusi и соавт. (2018) продвижение по карьерной лестнице было важным для 71,3% респондентов [23]. Согласно О.А. Дощанниковой (2020), $19,7 \pm 1,68\%$ врачей уехали бы из села по причине «отсутствия перспективы карьерного и профессионального роста» [18]. В опросе студентов последнего курса медвузов ($n = 280$) Г.Ю. Окуновой и соавт. (2021) 35,9% участников сообщили, что не хотят работать в селе из-за отсутствия профессионального и карьерного роста [28].

Существуют и противоположные данные, например, в опросе С. Morken и соавт. (2018, $n = 16$) возможности профессионального роста не оказали большого влияния на удержание медицинского персонала в селе [29]. В исследовании S.C. Okoroafor и соавт. (2021) работники, имеющие ученые степени кандидата или доктора наук, были на 4% меньше склонны работать в удаленных районах [15].

Личностные факторы включают демографические показатели (возраст, пол), уровень образования, семейное положение, наличие детей, место рождения и жительства (таблица).

По результатам исследования в Израиле ($n = 6\,673$) медицинские работники из села в 17 раз чаще оставались работать там же (95%ДИ: 6,8–43,8), а не имеющие опыта работы в труднодоступных районах на 28% реже оставались работать в селе по сравнению с остальными коллегами (95%ДИ: 0,66–0,92). Кроме того, женщины статистически значимо реже выбирали работу в малонаселенных районах по сравнению с мужчинами (отношение шансов (ОШ) = 0,66; 95%ДИ: 0,56–0,78) [30].

Результаты опроса 184 студентов из Западной Африки, проведенного С.С. Sidibé и соавт. (2019), свидетельствуют о том, что проживание ($p = 0,003$) и месторасположение образовательной организации в сельской местности ($p = 0,03$) связаны с большей склонностью остаться работать там же [31]. Согласно работе L. Berman и соавт. (2021), студенты, ранее проживавшие в сельской местности (ОШ = 3,4; 95%ДИ: 1,71–6,79), а также те, у кого было заключено соглашение о целевом обучении, значительно чаще сообщали, что останутся работать там же (ОШ = 3,66; 95%ДИ: 2,22–6,04) [16]. В уже упомянутом исследовании M.L. Prust и соавт. (2021) подтверждается важность наличия опыта работы в сельской местности при выборе места работы [19].

Семейное положение, в частности состояние в браке, является одним из главных факторов принятия решения о работе в селе [32–34]. При изучении личных дел 30 569 врачей семейной медицины Ирана выявлено, что состояние в браке являлось значимым предиктором выбора места работы в селе (ОШ = 1,34; 95%ДИ: 1,25–1,43) [33]. Кроме того, по результатам исследования S.C. Okoroafor и соавт. (2021) специалисты, имеющие детей, в 6 раз чаще устраивались на работу в сельские медицинские организации [15].

Таблица

Факторы, влияющие на привлечение и удержание медицинских работников				
Автор	Год	n^*	Страна	Факторы привлечения и удержания медработников
Witt и соавт.	2017	2 487	Канада	Заработная плата, продолжительность рабочего дня, количество вызовов врача на дом
Nurelhuda и соавт.	2018	455	Судан	Предоставление стипендий в период обучения, улучшение оснащенности медицинского образования
Okoroafor и соавт.	2021	198	США	Предоставление жилья, надбавка к заработной плате, улучшение условий труда
Berman и соавт.	2021	472	ЮАР	Предоставление жилья, нагрузка, условия труда, карьерный рост, проживание в сельской местности
Efendi и соавт.	2016	400	Индонезия	Стипендии в период обучения, заработная плата, условия труда, современное оборудование
Ashkenazi и соавт.	2019	736	Израиль	Условия труда, карьерный рост, трудоустройство супруга/супруги, проживание родителей в селе
Nguyen и соавт.	2020	167	Вьетнам	Непрерывное медицинское образование, повышение квалификации, проживание родителей в селе
Prengaman и соавт.	2017	16	Австралия	Поддержка профессионального сообщества, наличие необходимых материалов и оборудования
Morken и соавт.	2018	16	США	Удовлетворенность работой, баланс между работой и личной жизнью, поддержка со стороны семьи и профессионального сообщества

Окончание табл.

Автор	Год	<i>n</i> *	Страна	Факторы привлечения и удержания медработников
Taati Keley и соавт.	2016	6 673	Иран	Проживание в селе, прохождение производственной практики и опыт работы в селе, мужской пол
Boonluksiri и соавт.	2018	10 018	Таиланд	Местонахождение образовательного учреждения в сельской местности
Ehsani-Chimeh и соавт.	2018	30 569	Иран	Состояние в браке, развитая инфраструктура, заработная плата
Flores и соавт.	2021	102	Филиппины	Условия труда, состояние в браке, карьерный рост, заработная плата, предоставление жилья
Prust и соавт.	2019	474	Замбия	Опыт работы в селе, улучшение жилищных условий/предоставление жилья, выплата стипендий
Sidibé и соавт.	2019	186	Зап. Африка	Проживание в селе, месторасположение образовательного учреждения в сельской местности
Mollahalilodlu и соавт.	2015	1 340	Турция	Возможность карьерного роста и развития профессиональных навыков
Okoroafor и соавт.	2022	145	Нигерия	Условия работы и жилья, наличие качественного школьного образования в сельской местности
Lawan и соавт.	2017	261	Нигерия	Развитая инфраструктура, питьевая вода и электричество, школы для детей
Boadi-Kusi и соавт.	2018	337	Гана	Материальное стимулирование, улучшение жилищных условий, карьерный рост
Дошанникова О.А. и соавт.	2020	561	Россия	Зарботная плата, карьерный и профессиональный рост, родственные связи, жилищные условия
Окунева Г.Ю. и соавт.	2021	280	Россия	Материальное стимулирование, предоставление жилья, проживание в сельской местности, возможности профессионального и карьерного роста, улучшение условий труда

* количество участников.

Практики привлечения и удержания медицинских работников в сельской местности

На основании анализа публикаций все стратегии соответственно применяемым в них мерам можно объединить в три основные направления: финансовое, организационное и образовательное.

Финансовые меры привлечения и удержания медицинских работников

Согласно анализу исследований, существует три варианта применения финансовых мер привлечения и удержания медицинского персонала. Первый вариант – продолжительное ежемесячное стимулирование, при котором работник получает фиксированную надбавку к заработной плате. Такая система внедрена, например, в Индии: к 2011 г. было трудоустроено 1 319 специалистов, и число вакантных мест в медицинских организациях сократилось с 90 до 45% [35]. В Бангладеш предусмотрены финансовые льготы для врачей, работающих в отдаленных районах, в размере 33% от базовой ставки заработной платы, но не более 38 долл. в месяц [36]. В Танзании предусмотрена выплата суточных и жилищных пособий, а также приняты меры для размещения прибывающих в малонаселенные районы специалистов в домах других медицинских работников до того, как первые снимут жилье [37].

Второй вариант финансового стимулирования – надбавка к стипендии для студентов целевого обучения. Согласно данным Z. Marsh и соавт. (2019), в Великобритании с начала внедрения стипендиальной программы за 3 года удалось привлечь более 220 медицинских сестер [38]. Также существует ва-

риант единоразовых выплат с незначительным повышением размера оплаты. В Китае внедрена программа, учитывающая стаж работы в отдаленных районах: при стаже работы >5 лет – 50–200 тыс. юаней; выпускники медвузов, отработавшие в селе >1 года, получают премию 10–30 тыс. юаней. С начала реализации программы доля специалистов, желающих работать в сельских районах, выросла с 1,09% в 2013 г. до 6,49% в 2016 г. [39].

Организационные меры привлечения и удержания медицинских работников

По результатам исследований финансовые стимулы являлись второстепенными и менее эффективными по сравнению с нематериальными факторами [29]. Согласно C. Marchand и соавт. (2017), стратегии, направленные на признание профессиональным сообществом, удовлетворенность работой, являются более важными, чем финансовые [40]. Аналогичные результаты получены в исследовании L. Tudor Car и соавт. (2021) [41]. По данным N. Sirili и соавт. (2018), для удержания врачей в сельских медицинских организациях эффективна разработка индивидуальных планов профессионального и карьерного роста респондентов [37]. Внедрение практики наставничества также оказывает значительное влияние на удержание специалистов в сельской местности. Согласно D.M. Gumede и соавт. (2021), внедрение практики наставничества с 2002 г. позволило привлечь к работе в труднодоступные районы Южной Африканской Республики более 300 врачей [42].

По данным R. Schaefer и соавт. (2021), введение гибкого графика работы и возможность трудоустрой-

ства на неполный рабочий день для врачей и среднего медицинского персонала позволило удержать наиболее ценные кадры, предотвратить профессиональное выгорание, обеспечить стабильность и преемственность в команде специалистов [43]. Аналогичная стратегия успешно применяется в Австралии: согласно результатам исследования V.P. Weale и соавт. (2017, $n = 108$), она позволила увеличить удовлетворенность работой, а также поддерживать баланс между работой и личной жизнью [44]. В исследовании A. Honda и соавт. (2015, Мозамбик) предоставление возможностей для профессионального развития в медицинских организациях оказывало существенное влияние на удовлетворенность работой [45].

Образовательные меры привлечения и удержания медицинских работников

Важно поддерживать потребность специалистов здравоохранения в непрерывном обучении на протяжении всей карьеры. В проекте, описанном R. Shah и соавт. (2021), за 2017 г. в пять труднодоступных районов Гвинеи направлены 611 медицинских работников, из них по истечении 12 мес 18% собирались покинуть свое место работы, а с оставшимися проведены полуструктурированные интервью, показавшие, что мотивацией врачей работать в труднодоступных районах являлась возможность дальнейшего непрерывного обучения [46].

В Южной Африканской Республике работает программа обучения врачей на базе сельских медицинских организаций (децентрализованно), ориентированная на потребности специалистов. По состоянию на 2020 г., девять выпускников закончили обучение и остались работать в труднодоступных районах [47]. В США, штат Висконсин, с 2007 г. реализуется программа обучения студентов из села на базе сельских медвузов: 51% студентов остаются там работать [48]. Данные образовательные программы также эффективно применялись в Канаде, Австралии, Филиппинах, Южной Африке, Мали, Таиланде и других странах [49–51].

По результатам исследования T. Woolley и соавт. (2018, $n = 283$), 31% выпускников учреждений социально ответственного медобразования на базе сельских медицинских организаций остались работать в малонаселенных районах по сравнению с 7% выпускников обычных образовательных учреждений ($p < 0,001$) [52]. Проведенное M.R. McGrail и соавт. (2016, $n = 610$) исследование в Австрии показало сильную связь между происхождением и обучением респондентов в сельской местности и выбором

последующего места работы: 74–91% респондентов, имеющих сельское происхождение, и 87–95% прошедших обучение в сельской местности, оставались работать там же на протяжении первых 5 лет после аккредитации, при этом этот эффект усиливался в сочетании с сельским происхождением (ОШ = 24; 95%ДИ: 13–43) [53]. В исследовании P. Boonluksiri и соавт. (2018) с участием 10 018 врачей, из которых 21% проживали в сельской местности, работу в сельских медицинских организациях выбрали 5 774 человека (57,6%), и те, кто окончил подобную программу в Таиланде, существенно чаще оставались работать в селе по сравнению с остальными коллегами (62,3% и 49,0%, $p < 0,001$) [54].

В Норвегии с 2014 г. применяется модель ранней регистрации и приоритетного зачисления выпускников в ординатуру на базе сельских медицинских организаций. Согласно исследованию M. Gaski и соавт. (2018, $n = 388$), доля выпускников, записавшихся в ординатуру раньше срока и оставшихся работать в труднодоступных районах (29%), была в 2 раза больше по сравнению с остальными респондентами (15%) [55].

ПРАКТИКИ ПРИВЛЕЧЕНИЯ И УДЕРЖАНИЯ МЕДРАБОТНИКОВ В СЕЛЬСКОЙ МЕСТНОСТИ В РОССИИ

Ряд вышеуказанных мер успешно применяется и в здравоохранении Российской Федерации. С 2012 г. реализуются программы «Земский доктор», с 2015 г. – «Земский фельдшер», по которым медицинским работникам (врачам, фельдшерам), прибывшим на работу в село, либо рабочие поселки, либо поселки городского типа, либо города с населением до 50 тыс. человек, предоставляется единовременная выплата в размере до 2 млн руб.¹ Согласно В.М. Чернышевой и соавт. (2022), реализация программ «Земский доктор» и «Земский фельдшер» в Сибирском федеральном округе не привела к росту обеспеченности медицинскими работниками. В 2016–2020 гг. обеспеченность врачами сократилась с 15,1 до 13,5 (на 10 тыс. населения); обеспеченность средним медицинским персоналом – с 59,1 до 54,2 (на 10 тыс. населения). Однако ограничением данного исследования стало сравнение участия в программе с обеспеченностью кадрами; не учитывалось количество специалистов, выбывших из профессии [56].

Согласно Д.А. Бугаеву и соавт. (2019), наибольшее число договоров по программе «Земский доктор» в Ставропольском крае было заключено в 2012 г. ($n = 259$), наименьшее – в 2016 г. ($n = 70$) [57]. По ре-

¹ Постановление Правительства Российской Федерации (2022) «О внесении изменений в приложение № 5 к государственной программе Российской Федерации "Развитие здравоохранения"» от 22.04.2022 № 739.

зультатам исследования В.В. Зубкова и соавт. (2019), за период реализации программы (2012–2017 гг.) дефицит врачей в сельских районах Хабаровского края сократился на 30%, а к работе в медицинских организациях всех районов было привлечено 202 врача [58]. В исследовании М.В. Кинчагуловой (2018) в Тюменской области, благодаря реализации программы, общая численность врачей села в 2017–2011 гг. выросла на 30,2% (844 человека) [59]. По итогам мониторинга А.В. Данилова (2018), в Воронежской области за 2012–2017 гг. 466 медицинских работников переехали в сельскую местность, 74 – в рабочие поселки и 23 – в поселки городского типа [60]. Всего с 2012 по 2021 г. в реализации программы приняли участие 52 тыс. медицинских работников. В 2021 г., благодаря единовременным денежным выплатам, было привлечено около 6 тыс. человек.

В ряде субъектов Российской Федерации реализуются иные меры поддержки. В Ленинградской области с 2013 г. предусмотрена поддержка работников в виде ежегодных выплат в размере 120 тыс. руб. В 2017 г. выплаты получили 530 человек из числа следующих специалистов стационаров: врачи анестезиологи-реаниматологи, врачи-неонатологи, врачи-психиатры, врачи-психотерапевты, врачи-фтизиатры [61]. В Калининградской области врачам предоставляется единовременная выплата при первом трудоустройстве в государственную медицинскую организацию в размере от 300 до 900 тыс. руб.¹ В Ленинградской, Псковской, Мурманской, Новгородской, Владимирской, Оренбургской, Воронежской и ряде других областей специалистам, проживающим в сельской местности, предоставляется компенсация расходов на оплату жилищно-коммунальных услуг, служебные жилые помещения, льготная ипотека, а также производится частичная оплата найма жилья [60, 62, 63]. Согласно О.А. Доцанниковой и соавт. (2018), в Нижегородской области в период 2006–2017 гг. в результате реализации программ поддержки молодых специалистов в сельских районах удалось привлечь более 1 200 врачей [64].

В Ханты-Мансийском автономном округе – Югре в качестве мер социальной поддержки лиц, прибыв-

ших из других регионов Российской Федерации и заключивших трудовые договоры, выступает оплата стоимости переезда работника и членов его семьи в автономный округ в пределах территории Российской Федерации; оплачиваемый отпуск продолжительностью семь календарных дней для обустройства на новом месте, единовременная выплата в размере двух должностных окладов плюс пособие на каждого члена семьи, а также возмещение расходов по найму жилого помещения приглашенным специалистам в размере от 50 до 100% стоимости найма². Кроме того, выпускникам учреждений среднего и высшего профессионального образования в возрасте до 30 лет, заключившим трудовой договор с медицинской организацией, предусмотрена единовременная выплата в размере до двух месячных фондов оплаты труда.

В Оренбургской области с 2017 г. реализуется практика наставничества, направленная на повышение уровня компетенций молодых специалистов первые 12–24 мес их работы³. В 2017–2019 гг. к данной практике привлечено 65 медицинских организаций, 1 470 молодых специалистов и 740 наставников.

Аналогичные меры применяются в Ульяновской области. С 2013 г. более 2 000 медицинских работников включены в систему наставничества, а количество трудоустроенных выпускников увеличилось с 64 до 83% в 2016–2018 гг.⁴

Еще одним важным мероприятием по привлечению и удержанию молодых специалистов, реализуемым в Российской Федерации, является стимулирующая ежемесячная выплата в период обучения в медвузах при заключении договора о целевом обучении, которое реализуется по всей стране. В Сахалинской области, например, студентам помимо ежемесячной выплаты в период обучения предусмотрено покрытие дополнительных платных образовательных услуг, оказываемых за рамками образовательной программы, компенсация расходов на оплату стоимости найма (поднайма) жилых помещений в период обучения, а также оплата проезда к месту прохождения практики, практической части ординатуры и доплата на период ее прохождения⁵.

¹ Постановление Правительства Калининградской области от 15.08.2014 № 520 «Об установлении порядка предоставления мер социальной поддержки отдельным категориям лиц, обучающихся, завершивших обучение в государственных организациях, осуществляющих образовательную деятельность по программам интернатуры или ординатуры».

² Приказ Департамента здравоохранения Ханты-Мансийского автономного округа – Югры от 29.10.2015 № 13-нп «Об утверждении Примерного положения об установлении системы оплаты труда работников медицинских организаций, подведомственных Департаменту здравоохранения Ханты-Мансийского автономного округа – Югры».

³ Распоряжение Министерства здравоохранения Оренбургской области от 07.09.2017 № 1949 «Об утверждении Положения о наставничестве в медицинских организациях государственной системы здравоохранения Оренбургской области».

⁴ Постановление Правительства Российской Федерации от 7 октября 2019 года № 1296 «Об утверждении Положения о наставничестве на государственной гражданской службе Российской Федерации».

⁵ Паспорт регионального проекта «Обеспечение медицинских организаций системы здравоохранения квалифицированными кадрами (Сахалинская область)».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ литературы показал, что существует множество факторов, влияющих на выбор места работы медицинских работников, их привлечение и удержание в селе. Все изучаемые в настоящем исследовании факторы объединены в четыре основные группы: финансовые, социальные, карьерные (профессиональные), личностные. При этом для отдельных категорий специалистов данные факторы имели разную степень значимости. Наиболее часто упоминаемыми в научной литературе оказались финансовые факторы: уровень заработной платы, наличие стипендий и субсидий в период обучения, которые были актуальными для молодых специалистов. Особого внимания заслуживают личностные факторы: сельское происхождение, а также обучение и прохождение производственной практики медицинскими работниками в селе. Результаты многочисленных исследований доказали их связь с удержанием и желанием работать в труднодоступных районах. Вместе с тем необходимы дополнительные исследования для понимания «профиля» будущего сельского врача, включающего географическое происхождение, пол, черты характера и другие факторы, что послужит основой для политики отбора и приема на работу, а также консультирования абитуриентов и старшеклассников перед поступлением в вузы.

На сегодняшний день для решения проблемы привлечения и удержания специалистов в отрасли применяются различные стратегии – довольно часто наблюдается сочетание разнообразных методов и практик. Выбор конкретных мер должен основываться на глубоком понимании особенностей кадровых ресурсов в здравоохранении, что требует всестороннего анализа рынка труда, распределения кадров по географическим районам, а также факторов, влияющих на решение остаться или покинуть сельские районы.

По результатам проведенного анализа современные стратегии можно разделить на три направления: финансовые, организационные и образовательные. Первым, наиболее эффективным, малозатратным и доступным, с точки зрения проведенного исследования, блоком мероприятий являются образовательные меры. На основании изученного опыта зарубежных стран образовательные меры включают: проведение производственной практики в селе с целью знакомства студентов с особенностями работы в сельских медицинских организациях; организацию децентрализованного обучения на базе сельских медицинских организаций; работу с абитуриентами, проживающими в селе в рамках приемной кампании; размещение медицинских колледжей и вузов в сельских районах;

разработку программ непрерывного медицинского образования и профессионального развития, отвечающих потребностям сельских работников.

Вторым блоком мероприятий является финансовое стимулирование: стипендии для студентов, обучающихся по целевому договору; единовременные выплаты при работе в сельской местности; повышающий коэффициент к заработной плате.

Важное значение для специалистов имеет возможность выбора одного из описанных выше мер финансового стимулирования. Третьим блоком являются организационные меры, среди которых: повышение удовлетворенности работой за счет улучшений условий труда в сельской местности, внедрения гибкого графика работы; улучшение условий жизни (повышение социального статуса медицинского работника); создание возможности для развития карьеры; создание устойчивых горизонтальных коммуникаций между городскими и сельскими медицинскими организациями.

Несмотря на то что существующие практики признают многомерное и взаимосвязанное влияние различных аспектов, часто они сложны и не поддерживают разработку стратегических действий. Кроме того, в большинстве стран не проводится оценка эффективности проводимых мероприятий, что тормозит масштабируемость и передачу накопленного опыта. Приверженность к мониторингу и оценке внедренных мероприятий имеет важное значение для выявления ограничений при их реализации, пересмотра политик по мере необходимости, извлечения ценных уроков, создания доказательной базы и улучшения понимания того, как и почему конкретные вмешательства работают в одних, но не работают в других условиях. Именно поэтому мониторинг и оценка должны быть интегрированы в план реализации предложенных мероприятий.

Результаты, полученные в ходе проведения настоящего обзора, свидетельствуют, что в Российской Федерации реализуется большая часть мировых практик по привлечению и удержанию специалистов в сельских районах. Однако существуют мероприятия, которые не нашли своего применения в нашей стране: разработка индивидуальных планов профессионального и карьерного роста для респондентов со степенью кандидата или доктора наук; введение гибкого графика работы для врачей дефицитных специальностей; обучение на базе сельских медицинских организаций, в том числе децентрализованно; разработка и реализация программ ординатуры на базе сельских медицинских организаций с выездной аккредитацией.

Данные практики могут стать дополнительными при формировании региональных программ по раз-

витию кадрового потенциала здравоохранения, увеличивающие их эффективность.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Obamiro K.O., Tesfaye W.H., Barnett T. Strategies to increase the pharmacist workforce in rural and remote Australia: a scoping review. *Rural Remote Health*. 2020;20(4):5741. DOI: 10.22605/RRH5741.
- WHO. 2016. Global Strategy on Human Resources for Health: Workforce 2030. Geneva, Switzerland.
- Инвестиции с социальной отдачей – Газета Коммерсантъ № 93 (7294) от 30.05.2022. URL: <https://www.kommersant.ru/doc/5379613>
- Федеральная служба государственной статистики. URL: <https://rosstat.gov.ru>
- Marchand C., Peckham S. Addressing the crisis of GP recruitment and retention: a systematic review. *Br. J. Gen. Pract.* 2017;67(657):e227–237. DOI: 10.3399/bjgp17X689929.
- Nguyen V.A.T., Könings K.D., Wright E.P., Luu H.N., Scherpier A.J.J.A., van Merriënboer J.J.G. Working in preventive medicine or not? Flawed perceptions decrease chance of retaining students for the profession. *Hum. Resour. Health*. 2019;17(1):31. DOI: 10.1186/s12960-019-0368-2.
- Hu Y., Xu J., Dong W., Yuan Z., Sun X. Strategies to correct the shortage of paediatricians in China. *Lancet Lond. Engl.* 2018;392(10145):385. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31192-9.
- Chotchoungchatchai S., Marshall A.I., Witthayapipopsakul W., Panichkriangkrai W., Patcharanarumol W., Tangcharoensathien V. Primary health care and sustainable development goals. *Bull. World Health Organ.* 2020;98(11):792–800. DOI: 10.2471/BLT.19.245613.
- Danish A., Champagne F., Blais R. Theoretical analysis of policies to improve the recruitment and retention of rural physicians. *Aust. J. Rural Health*. 2020;28(5):427–433. DOI: 10.1111/ajr.12666.
- Buchan J., Couper I.D., Tangcharoensathien V., Thepannya K., Jaskiewicz W., Perfilieva G. Early implementation of WHO recommendations for the retention of health workers in remote and rural areas. *Bull. World Health Organ.* 2013;91(11):834–840. DOI: 10.2471/BLT.13.119008.
- Malatzky C., Cosgrave C., Gillespie J. The utility of conceptualisations of place and belonging in workforce retention: A proposal for future rural health research. *Health Place*. 2020;62:102279. DOI: 10.1016/j.healthplace.2019.102279.
- Witt J. Physician recruitment and retention in Manitoba: results from a survey of physicians' preferences for rural jobs. *Can. J. Rural Med.* 2017;22(2):43–53.
- Nurelhuda N., Bashir A., ElKogali S., Mustafa M., Kruk M., Aziz M.A. Encouraging junior doctors to work in rural Sudan: a discrete choice experiment. *East. Mediterr. Health J.* 2018;24(9):838–845. DOI: 10.26719/2018.24.9.838.
- Efendi F., Chen C.M., Nursalam N., Andriyani N.W.F., Kurniati A., Nancarrow S.A. How to attract health students to remote areas in Indonesia: a discrete choice experiment. *Int. J. Health Plann. Manage.* 2016;31(4):430–445. DOI: 10.1002/hpm.2289.
- Okoroafor S.C., Ongom M., Salihu D., Mohammed B., Ahmat A., Osuor M. et al. Retention and motivation of health workers in remote and rural areas in Cross River State, Nigeria: a discrete choice experiment. *J. Public Health Oxf. Engl.* 2021;43(1):i46–53. DOI: 10.1093/pubmed/fdaa236.
- Berman L., Nkhoma L., Prust M., McKay C., Teshome M., Banda D. et al. Analysis of policy interventions to attract and retain nurse midwives in rural areas of Malawi: A discrete choice experiment. *PloS One*. 2021;16(6):e0253518. DOI: 10.1371/journal.pone.0253518.
- Смиянов В.А., Смиянова О.И., Грузиева Т.С., Выговская Л., Руденко Л.А. Изучение мотивационных факторов у врачей в отношении повышения качества медицинской помощи. *Wiadomosci Lekarskie*. 2017;70(1):27–31.
- Дошанникова О.А., Поздеева Т.В., Филиппов Ю.Н. Социальный портрет современного сельского врача – реалии и перспективы. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2020;66(1):7. DOI: 10.21045/2071-5021-2020-66-1-7.
- Prust M.L., Kamanga A., Ngosa L., McKay C., Muzongwe C.M., Mukubani M.T. et al. Assessment of interventions to attract and retain health workers in rural Zambia: a discrete choice experiment. *Hum. Resour. Health*. 2019;17(1):26. DOI: 10.1186/s12960-019-0359-3.
- Prengaman M., Terry D.R., Schmitz D., Baker E. The nursing community apgar questionnaire in rural Australia: An evidence based approach to recruiting and retaining nurses. *Online J. Rural Nurs. Health Care*. 2017;17(2):148–171.
- Okoroafor S.C., Osuor M.K., Nwachukwu C. Factors influencing attraction and retention of frontline health workers in remote and rural areas in Nigeria: a discrete choice experiment. *J. Public Health Policy*. 2022;43(3):347–359. DOI: 10.1057/s41271-022-00351-z.
- Lawan U., Amole G., Khayi J. Rural posting experience, requests for transfer, and perspectives about critical factors for staff retention among primary health care workers in urban Kano, Nigeria. *Niger. J. Clin. Pract.* 2017;20(1):25. DOI: 10.4103/1119-3077.178946.
- Boadi-Kusi S.B., Kyei S., Okyere V.B., Abu S.L. Factors influencing the decision of GHANAIAN optometry students to practice in rural areas after graduation. *BMC Med. Educ.* 2018;18(1):188. DOI: 10.1186/s12909-018-1302-3.
- Ashkenazi Y., Gordon M., Rosen B. Using financial incentives to attract medical residents to the periphery: The Israeli experience. *Health Policy Amst. Neth.* 2019;123(1):80–86. DOI: 10.1016/j.healthpol.2018.10.006.
- Nguyen V.A.T., Könings K.D., Wright E.P., Kim G.B., Luu H.N., Scherpier A.J.J.A. et al. Why do graduates choose to work in a less attractive specialty? A cross-sectional study on the role of personal values and expectations. *Hum. Resour. Health*. 2020;18(1):32. DOI: 10.1186/s12960-020-00474-y.
- Thi Nguyen V.A., Könings K.D., Scherpier A.J.J.A., van Merriënboer J.J.G. Attracting and retaining physicians in less attractive specialties: the role of continuing medical education. *Hum. Resour. Health*. 2021;19(1):69. DOI: 10.1186/s12960-021-00613-z.
- Mollahaliloğlu S., Uđurluođlu Ö., İpýk O., Kosdak M., Tapkaya S. Factors affecting the work of physicians in rural areas of Turkey. *Rural Remote Health*. 2015;15(3):3048.

28. Окунева Г.Ю., Лусевич Е.С., Щербакова А.И. Мнение студентов-медиков о трудоустройстве в сельской местности, о программе «Земский доктор». Актуальные вопросы общественного здоровья и здравоохранения на уровне субъекта Российской Федерации: Материалы Всероссийской научно-практической конференции (с международным участием). Иркутск: Иркутский научный центр хирургии и травматологии, 2021:127–132.
29. Morken C., Bruksch-Meck K., Crouse B., Traxler K. Factors influencing rural physician retention following completion of a rural training track Family Medicine Residency Program. *WMJ Off. Publ. State Med. Soc. Wis.* 2018;117(5):208–210.
30. Taati Keley E., Ravaghi H., Salehi M., Nasiripour A.A., Abdi Z., Meshkini A. Relationship between personal characteristics of specialist physicians and choice of practice location in Iran. *Rural Remote Health.* 2016;16(2):3412.
31. Sidibé C.S., Touré O., Broerse J.E.W., Dieleman M. Rural pipeline and willingness to work in rural areas: Mixed method study on students in midwifery and obstetric nursing in Mali. *PloS One.* 2019;14(9):e0222266. DOI: 10.1371/journal.pone.0222266.
32. Lee J., Walus A., Billing R., Hillier L.M. The role of distributed education in recruitment and retention of family physicians. *Postgrad. Med. J.* 2016;92(1090):436–440. DOI: 10.1136/postgradmedj-2015-133577.
33. Ehsani-Chimeh E., Majdzadeh R., Delavari S., Gharebelagh M.N., Rezaei S., Rad E.H. Physicians' retention rate and its effective factors in the Islamic Republic of Iran. *East. Mediterr. Health J.* 2018;24(9):830–837. DOI: 10.26719/2018.24.9.830.
34. Flores E.L.L., Manahan E.M.R., Lacanilao M.P.B., Ladaw I.M.B.T., Mallillin M.M.B., Mappatao N.T.Q. et al. Factors affecting retention in the Philippine National Rural Physician Deployment Program from 2012 to 2019: a mixed methods study. *BMC Health Serv. Res.* 2021;21(1):1201. DOI: 10.1186/s12913-021-07219-0.
35. Lisam S., Nandi S., Kanungo K., Verma P., Mishra J.P., Mairembam D.S. Strategies for attraction and retention of health workers in remote and difficult-to-access areas of Chhattisgarh, India: Do they work? *Indian J. Public Health.* 2015;59(3):189–195. DOI: 10.4103/0019-557X.164656.
36. Rawal L.B., Joarder T., Islam S.M.S., Uddin A., Ahmed S.M. Developing effective policy strategies to retain health workers in rural Bangladesh: a policy analysis. *Hum. Resour. Health.* 2015;13:36. DOI: 10.1186/s12960-015-0030-6.
37. Sirili N., Frumence G., Kiwara A., Mwangu M., Anaali A., Nyamhanga T. et al. Retention of medical doctors at the district level: a qualitative study of experiences from Tanzania. *BMC Health Serv. Res.* 2018;18(1):260. DOI: 10.1186/s12913-018-3059-0.
38. Marsh Z., Walford L., Baker R.R., Cannaby A.M., Singh B.M. Attracting and retaining nurses through a clinical fellowship programme. *Br. J. Nurs.* 2019;28(18):1207–1209. DOI: 10.12968/bjon.2019.28.18.1207.
39. Jing L., Liu K., Zhou X., Wang L., Huang Y., Shu Z. et al. Health-personnel recruitment and retention target policy for health care providers in the rural communities: A retrospective investigation at Pudong New Area of Shanghai in China. *Int. J. Health. Plann. Manage.* 2019;34(1):e157–167. DOI: 10.1002/hpm.2618.
40. Marchand C., Peckham S. Addressing the crisis of GP recruitment and retention: a systematic review. *Br. J. Gen. Pract.* 2017;67(657):e227–237. DOI: 10.3399/bjgp17X689929.
41. Tudor Car L., Teng Y.S., How J.W., Nazri N.N.B.M., Tan A.L.X., Quah J. et al. Priorities for family physician and general practitioner recruitment and retention in Singapore: a PRIORITIZE study. *BMC Fam. Pract.* 2021;22(1):229. DOI: 10.1186/s12875-021-01570-1.
42. Gumede D.M., Taylor M., Kvalsvig J.D. Engaging future healthcare professionals for rural health services in South Africa: students, graduates and managers perceptions. *BMC Health. Serv. Res.* 2021;21(1):220. DOI: 10.1186/s12913-021-06178-w.
43. Schaefer R., Jenkins L.S., North Z. Retaining doctors and reducing burnout through a flexible work initiative in a rural South African training hospital. *Afr. J. Prim. Health Care Fam. Med.* 2021;13(1):e1–5. DOI: 10.4102/phcfm.v13i1.2799.
44. Weale V.P., Wells Y.D., Oakman J. Flexible working arrangements in residential aged care: applying a person-environment fit model. *Asia Pac. J. Hum. Resour.* 2017;55(3):356–374. DOI: 10.1111/1744-7941.12142.
45. Honda A., Vio F. Incentives for non-physician health professionals to work in the rural and remote areas of Mozambique—a discrete choice experiment for eliciting job preferences. *Hum. Resour. Health.* 2015;13:23. DOI: 10.1186/s12960-015-0015-5.
46. Shah R., Nayar V., Grzesiak A. A survey of the retention of GPs following the induction and refresher scheme in London. *Educ. Prim. Care.* 2021;32(4):226–229. DOI: 10.1080/14739879.2021.1907791.
47. Bruksch-Meck K., Crouse B., Quinn G., McCart L., Traxler K. Graduate Medical Education Initiatives to Develop the Physician Workforce in Rural Wisconsin. *WMJ Off. Publ. State Med. Soc. Wis.* 2018;117(5):201–207.
48. Bryden B., Bryden M., Steer-Massaro J., Malope S. Family Medicine Training in Lesotho: A strategy of decentralized training for rural physician workforce development. *Front. Med.* 2021;7:582130. DOI: 10.3389/fmed.2020.582130.
49. Strasser R. Learning in context: education for remote rural health care. *Rural Remote Health.* 2016;16(2):4033.
50. O'Sullivan B.G., Couper I., Kumar P., McGrail M.R. Editorial: Effective Strategies to Develop Rural Health Workforce in Low and Middle-Income Countries (LMICs). *Front. Public Health.* 2021;9:702362. DOI: 10.3389/fpubh.2021.702362.
51. Johnson G., Byun R., Foster K., Wright F., Blinkhorn A. A longitudinal workforce analysis of a Rural Clinical Placement Program for final year dental students. *Aust. Dent. J.* 2019;64(2):181–192. DOI: 10.1111/adj.12691.
52. Woolley T., Cristobal F., Siega-Sur J., Ross S., Neusy A.J., Halili S. et al. Positive implications from socially accountable, community-engaged medical education across two Philippines regions. *Rural Remote Health.* 2018;18(1):4264. DOI: 10.22605/RRH4264.
53. McGrail M.R., Russell D.J., Campbell D.G. Vocational training of general practitioners in rural locations is critical

- for the Australian rural medical workforce. *Med. J. Aust.* 2016;205(5):216–221. DOI: 10.5694/mja16.00063.
54. Boonluksiri P., Tumviriyakul H., Arora R., Techakehaki W., Chamnan P., Umthong N. Community-based learning enhances doctor retention. *Educ. Health Abingdon Engl.* 2018;31(2):114–118. DOI: 10.4103/efh.Efh_153_17.
 55. Gaski M., Abelsen B. Designing medical internships to improve recruitment and retention of doctors in rural areas. *Int. J. Circumpolar. Health.* 2017;76(1):1314415. DOI: 10.1080/22423982.2017.1314415.
 56. Чернышев В.М., Воевода М.И., Стрельченко О.В., Мингазов И.Ф. Сельское здравоохранение России. Состояние, проблемы, перспективы. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2022;42(4):4–14. DOI: 10.18699/SSMJ20220401.
 57. Бугаев Д.А. Кадровое обеспечение травматолого-ортопедической службы субъекта Российской Федерации в условиях реализации программы «Земский доктор». *Менеджер здравоохранения.* 2019;2:53–58.
 58. Зубков В.В. Миграционный потенциал молодежи в системе мер государственной региональной политики. *Власть и управление на Востоке России.* 2019;1(86):147–155.
 59. Кинчагулова М.В., Брынза Н.С., Горбунова О.П., Решетникова Ю.С. Результаты реализации программы «Земский доктор» в Тюменской области. *Здравоохранение Российской Федерации.* 2018;62(6):89–294. DOI: 10.18821/0044-197X-2018-62-6-289-294.
 60. Данилов А.В., Литвинова Т.Д., Загитова В.А. Итоги реализации программы «Земский доктор» на территории Воронежской области за 2012–2017 годы. *Прикладные информационные аспекты медицины.* 2018;21(1):24–32.
 61. Привлечение медицинских работников на работу в учреждения здравоохранения, в т.ч. в сельское здравоохранение. Лужская межрайонная больница. URL: <http://lugamb.ru/job/invite-new-workers>
 62. Льготы и субсидии врачам и медицинским работникам ГБУЗов Владимирской области. URL: <https://medicine33.com/subsidies>
 63. Никулина Ю.Н. Актуальные аспекты кадрового обеспечения учреждений здравоохранения. *Образование и наука: современные тренды.* 2016;1:104–112.
 64. Дошанникова О.А., Поздеева Т.В., Филиппов Ю.Н., Хлапов А.Л. Роль региональных программ социально-экономического стимулирования в привлечении врачебных кадров в систему сельского здравоохранения. *Здравоохранение Российской Федерации.* 2018;62(4):172–180. DOI: 10.18821/0044-197X-2018-62-4-172-180.

Информация об авторах

Чигрина Валерия Петровна – мл. науч. сотрудник, отдел научных основ организации здравоохранения, ЦНИИОИЗ, г. Москва, chigrinavp@mednet.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5044-4836>

Тюфиллин Денис Сергеевич – начальник управления стратегического развития здравоохранения, ЦНИИОИЗ, г. Москва, tyufilinds@mednet.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9174-6419>

Деев Иван Анатольевич – д-р мед. наук, профессор, зам. директора по организации здравоохранения, ЦНИИОИЗ, г. Москва, deevia@mednet.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4449-4810>

Кобякова Ольга Сергеевна – д-р мед. наук, профессор, директор ЦНИИОИЗ, г. Москва, kobyakovaos@mednet.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0098-1403>

(✉) **Чигрина Валерия Петровна**, chigrinavp@mednet.ru

Поступила в редакцию 11.10.2022;
одобрена после рецензирования 03.11.2022;
принята к публикации 10.11.2022

УДК 616.89-02:[616.98:578.834.1]-06
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-164-169>

Загадочные «резиновые» слепки бронхов: малоизвестное заболевание в медицинской практике

Вишняк Д.А.¹, Шевченко О.В.^{1,2}, Зармаева М.Б.¹, Койлыбаева А.М.¹

¹ Сургутский государственный университет (СурГУ)
Россия, 628412, г. Сургут, пр. Ленина, 1

² «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Сургут»
Россия, 628412, г. Сургут, ул. Мечникова, 3

РЕЗЮМЕ

Представлено клиническое наблюдение пациентки, впервые обратившейся за медицинской помощью в возрасте 51 года по поводу приступообразного кашля с отхождением слепков бронхов. Верифицирован диагноз лимфопластического бронхита. Нозология, ранее не нашедшая подробного отражения в литературе, трудность верификации основного диагноза на фоне полисимптомной клинической картины, характеризующейся летальностью в 50–80%, сочетанное течение с новой коронавирусной инфекцией, а также резистентность к проводимой терапии и низкая настороженность медицинского сообщества определяют актуальность и ценность данного клинического наблюдения.

Ключевые слова: слепки бронхов, пластический бронхит, лимфопластический бронхит, бронхообструктивный синдром

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: Вишняк Д.А., Шевченко О.В., Зармаева М.Б., Койлыбаева А.М. Загадочные «резиновые» слепки бронхов: малоизвестное заболевание в медицинской практике. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):164–169. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-164-169>.

Mysterious plastic bronchitis: a little-known disease in medical practice

Vishnyak D.A.¹, Shevchenko O.V.^{1,2}, Zarmaeva M.B.¹, Koilybaeva A.M.¹

¹ Surgut State University (SurGU)
1, Lenina Str., 628412, Surgut, Russian Federation

² Clinical Hospital “Russian Railways – Medicine” of Surgut
3, Mechnikova Str., 628412, Surgut, Russian Federation

ABSTRACT

The article presents a clinical case of a 51-year-old patient first seeking medical care with complaints of paroxysmal cough bringing up bronchial casts. The diagnosis of plastic bronchitis was verified. The disease which has not been well described in the literature, difficulty of verifying the underlying diagnosis due to polysymptomatic clinical

presentation characterized by the mortality rate of 50–80%, COVID-19 coinfection, resistance to therapy, and little concern of medical specialists determine the relevance and value of this clinical case.

Keywords: bronchial casts, plastic bronchitis, lymphatic plastic bronchitis, bronchial obstruction syndrome

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: Vishnyak D.A., Shevchenko O.V., Zarmaeva M.B., Koilybaeva A.M. Mysterious plastic bronchitis: a little-known disease in medical practice. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):164–169. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-164-169>.

ВВЕДЕНИЕ

Возросший интерес к патологии органов дыхания в последние годы объясним пандемией новой коронавирусной инфекции (НКВИ) SARS-CoV-2. Однако причиной бронхообструктивного синдрома у взрослых могут быть и редкие нозологические формы, к числу которых относится и пластический бронхит.

Пластический бронхит (ПБ) (хронический фибринозный бронхит, псевдомембранозный бронхит, mucoid impaction, бронхит Хоффмана, лимфатический (лимфоидный, лимфопластический) бронхит) – хроническое рецидивирующее воспаление бронхов, характеризующееся образованием богатых фибрином пробок (в виде слепков бронхов, более плотных, чем обычные слизистые выделения), приводящих к обструкции дыхательных путей и дыхательной недостаточности [1–7].

Первые упоминания о бронхиальных слепках относятся ко временам Галена (131–200 гг. н. э.) и описаны им как «скопления экспекторированных сосудов из легких» [4, 8]. В 1750 г. Bussiere сообщил о посмертном обследовании пациента, страдающего туберкулезом, у которого также был обнаружен «бронхиальный гипс» *in situ* [4]. В 1902 г. M. Bettman представил несколько случаев ПБ с бронхиальными слепками, а в 1951 г. R. Shaw описал случаи mucoid impaction [8]. До 1960 г. в литературе было описано около 300 случаев [9, 10], а к 2008 г. зарегистрировано около 420 наблюдений ПБ [2, 10].

По запросу «пластический бронхит» в англоязычной текстовой базе данных PubMed в 2022 г. можно отыскать 513 публикаций, в то время как детализация поиска с указанием «пластический бронхит взрослых» выдает лишь четвертую часть – 127 публикаций. За период с 1965 по 2022 г. отмечен тренд роста числа рукописей, посвященных данной тематике, а наибольшее количество статей, обзоров, случаев приходится на последнее десятилетие.

В нашей стране до настоящего времени имеются лишь единичные публикации с описанием подобных клинических ситуаций, при этом большая часть из них, так же как и в зарубежной литературе, посвящена тематике педиатрического профиля. Это вполне объяснимо особенностями заболевания, которое диагностируется чаще у детей и в молодом возрасте, у взрослых заболевание регистрируется крайне редко [1–6, 8, 9]. Эти случаи в отсутствие инфекционного и аллергического генеза можно назвать казуистическими. Женщины болеют чаще, чем мужчины [5]. Вместе с тем есть мнение о небольшом преобладании мужчин [4]. Более высокая распространенность отмечается в сухих и жарких районах на фоне изменения физико-химических свойств секретов дыхательных путей в результате дегидратации слизистых [10].

К сожалению, масштабных эпидемиологических исследований ПБ у взрослых не проводилось. Истинная заболеваемость и распространенность не могут быть точно определены, поскольку существует вероятность того, что многие эпизоды заболевания остаются не диагностированными. Наиболее масштабный пул наблюдений ПБ лимфогенной природы у взрослых ($n = 44$) был опубликован в 2022 г. С. О'Leary и соавт. [11]. В России данные наблюдения наибольшей когорты пациентов с ПБ ($n = 20$) за период с 1990 по 2012 г. опубликованы В. Молодцовой и соавт. [5]. Японские ученые Y. Murata и соавт. в 2021 г. описали случай самой возрастной 74-летней пациентки, имеющей множественную миелому и ПБ, ассоциированный с перенесенной вирусной инфекцией (вирус гриппа А) [11]. Трагизм проблемы определяется не только гиподиагностикой данного состояния, а также и высоким процентом летальности, который, по мнению ряда авторов, находится в диапазоне 50–80% [4, 6, 7, 9].

Вопрос этиологии и патогенеза заболевания до настоящего времени остается полностью нерешенным (таблица).

Таблица

Этиология пластического бронхита*	
Этиология	Ассоциированные заболевания
Первичные и вторичные лимфатические аномалии	Врожденная сердечная недостаточность (пороки сердца) с хирургической коррекцией (операция Фонтана, Гленна, Блелока – Тауссига). Травма грудной клетки. Лимфатические аномалии, лимфангиоэктазии, лимфангиоматоз
Вирусные инфекции	Вирус гриппа А, аденовирусная инфекция, риновирусная инфекция, респираторно-синцитиальный вирус, вирус парагриппа, SARS-CoV-2
Другие заболевания легких	Бронхиальная астма, бронхолегочный аспергиллез, бронхоэктатическая болезнь, муковисцидоз
Бактериальные инфекции	Стрептококки, гемофильная палочка, микобактерия туберкулеза, клебсиеллы и др.
Гематологические заболевания	Острый респираторный дистресс-синдром при серповидноклеточной анемии
Профессиональные заболевания	Силикоз
Онкология	Саркома Капоши с возможным вовлечением лимфатических путей. Эндобронхиальные метастазы рака почки

*Переведено и адаптировано из [4], [13].

Клиническая картина ПБ включает кашель, одышку, хрипы в легких, отхождение мокроты в виде слепков бронхов. Течение заболевания осложняется возникновением ателектазов, бронхообструктивного синдрома и смертельной асфиксии [1, 3, 4]. Диагноз ПБ подтверждается наличием слепков, которые были откашляны или визуализированы во время фиброbronхоскопии (ФБС). Диагностика требует полного клинико-лабораторного обследования [10]. Золотым стандартом верификации и коррекции лимфопластического бронхита является динамическая магнитно-резонансная лимфангиография с контрастным усилением и интранодальная лимфангиография, эмболизация легочных лимфатических сосудов [10, 11] (рис. 1).

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентка В., 51 год, уроженка г. Когалым, врач, впервые обратилась за медицинской помощью в апреле 2020 г. с жалобами на приступообразный кашель с отхождением мокроты в виде слепков бронхов плотной консистенции (каучукообразные, «резиновые») белого цвета (рис. 2) (преимущественно ночью и в утренние часы), иногда с обильным выделением жидкой мокроты молочно-белого цвета, «мучительный» кашель, «захлебывание» мокротой по ночам, повышение температуры тела до фебрильных значений, одышку с затрудненным выдохом при обычной физической нагрузке.

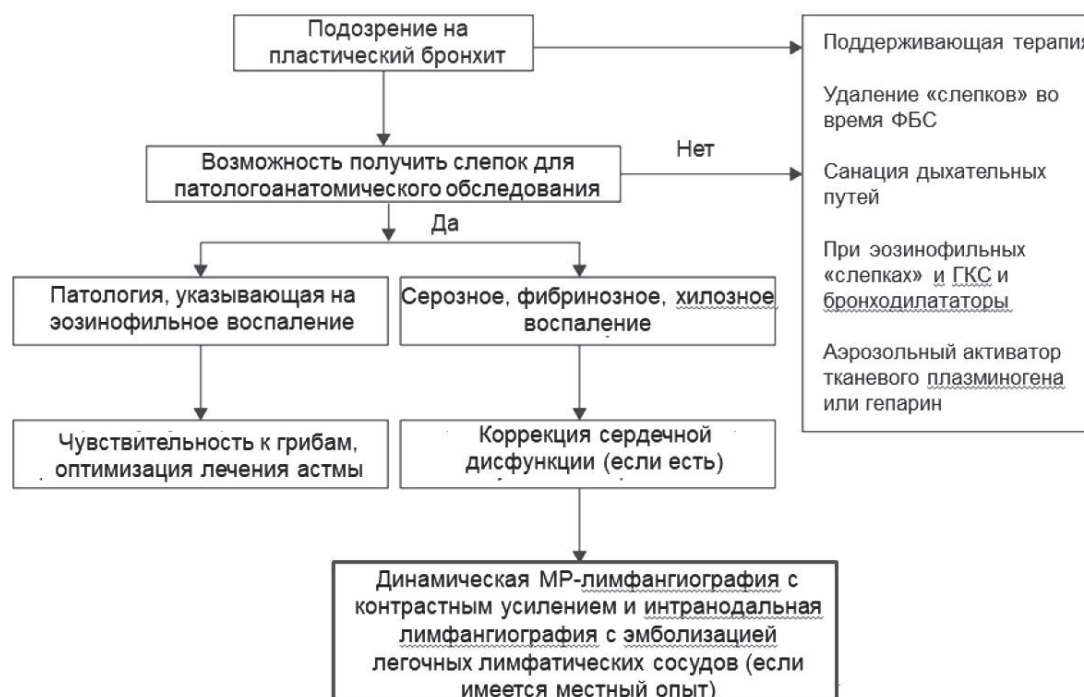


Рис. 1. Алгоритм диагностики и ведения пациентов с ПБ. Перевод из [4]

Заболела остро в марте 2020 г., когда появилась клиника острой респираторно-вирусной инфекции (повышение температуры тела до 38 °С, насморк, приступообразный кашель). На фоне проводимой терапии (противовирусная, отхаркивающая, муколитическая) была отмечена слабоположительная динамика в виде уменьшения кашля, снижения температуры тела, купирования ринореи. Спустя 2 нед пациентку стало беспокоить обильное отхождение мокроты молочного цвета, а также впервые появились мелкие, скудные «резиновые» слепки бронхов при откашливании. В анамнезе: гипертоническая болезнь и сахарный диабет 2-го типа верифицированы 5 лет назад. В 2010 г. проведена мастэктомия слева по поводу *cancer* молочной железы. При объективном осмотре обнаружены изменения: послеоперационный рубец в области левой молочной железы, без особенностей, индекс массы тела 33,3 кг/м², жесткое дыхание слева в нижних отделах легких и сатурация кислорода 96%.

На основании имеющихся данных был детектирован диагноз «острый бронхит», назначена антибактериальная терапия, без эффекта. Спустя месяц после контакта с больным НКВИ женщина отметила ухудшение состояния: повышение температуры тела до 39 °С, усиление кашля, увеличение объема выделяемой мокроты, появление одышки. Установлена НКВИ, проведен дифференциально-диагностический поиск с пневмониями иного инфекционного генеза, туберкулезом, аллергическим поражением легких. Примечательными оказались данные ФБС: слева устье верхнедолевого бронха обтурировано творожистыми некротическими массами, слизистая инъецирована, в просвете находилось умеренное количество мутной слизистой мокроты. Пациентка получала лечение согласно временным клиническим рекомендациям по НКВИ, а также симптоматическую терапию, проведена некрэктомия в ходе ФБС, а также санация дыхательных путей. После выписки состояние пациентки стремительно ухудшалось: выросла одышка, кашель стал носить надсадный характер, усиливался, равно как и объем отхаркиваемой мокроты, ночью, по утрам, вновь появились слепки бронхов в мокроте (рис. 2). Выделением слепка завершался каждый пароксизм кашля. Усугубление симптоматики послужило поводом для обращения в Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии (23.06.2022–13.07.2022).

В ходе обследования по данным компьютерной томографии легких обнаружено двустороннее полисегментарное поражение легких в фазе регрессии, поражение левого легкого по типу «матового стекла», реактивная лимфоаденопатия внутригрудных

лимфатических узлов. Проведено цитологическое исследование слепков: тяжи слизи с группами клеток реактивно-измененного бронхиального эпителия, немногочисленные макрофаги с примесью лейкоцитов (слепки бронхов), примесь «путевой» крови. Данных за опухолевый рост нет (рис. 3). На основании имеющихся данных был заподозрен ПБ.

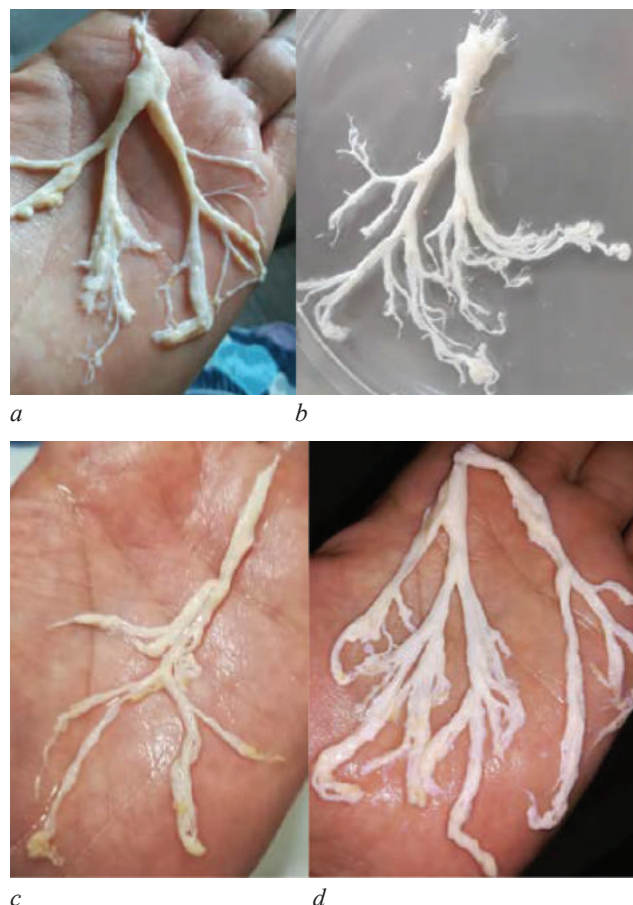


Рис. 2. Пациентка В., 51 год.
Мокрота в виде слепков бронхов

Женщина консультирована торакальным хирургом, доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом Российской академии наук, заведующим хирургическим отделением Клинического центра имени И.М. Сеченова Владимиром Дмитриевичем Паршиным. Также дистанционно проведена консультация торакального хирурга, профессора радиологии в больнице Пенсильванского университета, директора Центра лимфатической визуализации и вмешательств (г. Филадельфия, США) Максима Иткина. На основании признаков, которые можно отнести к критериям заболевания, а именно: «матовое стекло» одного легкого по данным компьютерной томографии, мокрота в виде слепков бронхов, лимфоаденопатия внутригрудных лимфа-

тических узлов, ожирение, усиление отхождения мокроты после приема жирной пищи, отсутствие убедительных данных за аллергический процесс, был подтвержден ПБ предположительно лимфатического генеза. Дополнительным критериальным фактором являлось бы обнаружение в промывных водах бронхов нейтрального жира, однако данное исследование не проводилось.

В феврале 2021 г. в отделении торакальной хирургии Университетской клинической больницы № 1 Сеченовского Университета была проведена перевязка грудного протока над диафрагмой, пересечение лимфатических сосудов корня левого легкого по типу скелетизации корня.

За 30 мин до проведения оперативного вмешательства с целью выявления нарушения герметичности лимфатического сосуда пациентке было предложено выпить жирную смесь (сметана (20%), сливки (10%) и сливочное масло) в объеме 200 мл. После

чего в момент вскрытия грудной клетки был выявлен лимфатический сосуд, из которого наблюдалась обильная лимфоррея. Также интраоперационно была обнаружена киста грудного лимфатического протока. В раннем послеоперационном периоде начато пероральное питание обезжиренной пищей с постепенным расширением диеты. Заключительный диагноз: киста грудного лимфатического протока (парабронхиальная коллатераль слева). Лимфопластический бронхит (хилобронхорея). Лимфаденопатия средостения. Рекомендовано: прием пищи с небольшим содержанием жиров (1 мес), расширение диеты спустя 1–1,5 мес, ограничение физической нагрузки в течение 2 мес, коррекция массы тела. Спустя год женщина не предъявляет жалоб, отмечает полное купирование вышеперечисленной симптоматики, диету не соблюдает. По данным компьютерной томографии легких (апрель 2022 г.), сохраняется фиброз легочной ткани левого легкого.

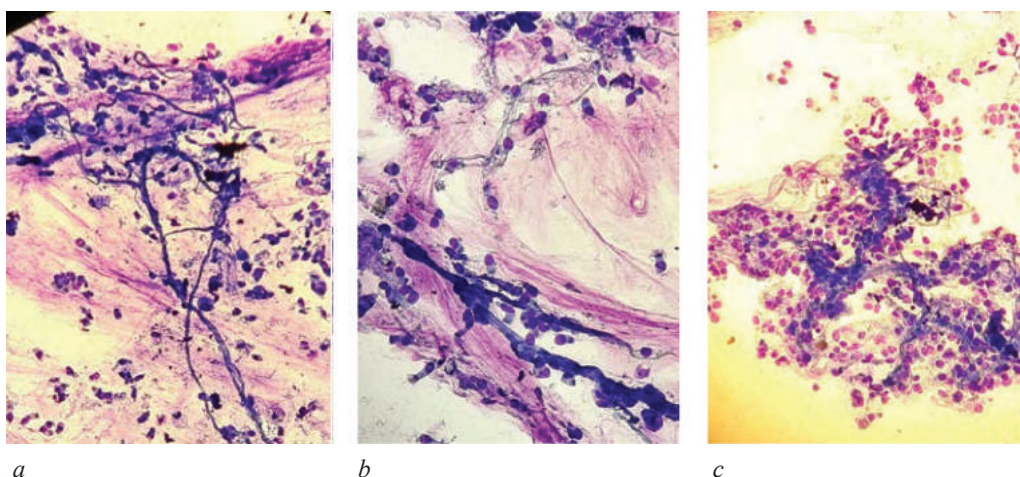


Рис. 3. Цитологическое исследование слепков бронхов пациентки В.

ОБСУЖДЕНИЕ

Трудности диагностики данного случая были связаны с клиническим полиморфизмом заболевания, малой информативностью специалистов в отношении данной патологии, сочетанным течением с НКВИ, которая могла стать как инициирующим маркером, так и, напротив, маскирующим фактором, а также отсутствием убедительных данных в ходе проведенного обследования за дефект лимфатического сосуда, обуславливающего симптоматику пациентки.

Остается открытым вопрос истинной этиологии патологических изменений у наблюдаемой женщины. Возможно воздействие нескольких причин и факторов. В последние годы когорта ученых считает одной из основных причин ПБ аномальную ком-

муникацию и попадание лимфатической жидкости в дыхательные пути. Обструкция лимфатического протока может объяснять ПБ при кардиохирургических вмешательствах, при сердечной недостаточности или травме [9, 12]. Многие случаи идиопатического ПБ у взрослых имеют лимфатическую основу, что дает основание переименовать диагноз у этих субъектов в «лимфатический ПБ, лимфопластический бронхит» [7, 11]. Не исключено, что проведенная 12 лет назад мастэктомия слева послужила причиной патологических изменений у данной пациентки. Повышение давления в лимфатических сосудах, наблюдаемое при врожденных лимфангиэкстазиях или лимфоангиоматозе, может привести к ретроградному лимфотоку, дренированию лимфы в просвет бронхов и развитию хилоторакса [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заболевание, крайне скудно освещенное в литературе, сложность детекции диагноза на фоне полисимптомной клинической картины, маскирующейся под различные варианты бронхолегочной патологии и характеризующейся летальностью в 50–80%, сочетанное течение с НКВИ, неэффективность проводимой терапии и низкая настороженность медицинского сообщества определяют актуальность и ценность данного клинического наблюдения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Скударнов Е.В., Лобанов Ю.Ф., Строзенко Л.А., Даулетова Я.А., Дорохов Н.А., Малюга О.М. и др. Пластический бронхит у ребенка (клиническое наблюдение). *Мать и дитя в Кузбассе*. 2020;1(80):53–58.
2. Eberlein M.H., Drummond M.B., Haponik E.F. Plastic bronchitis: a management challenge. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2008;335(2):163–169. DOI: 10.1097/MAJ.0b013e318068b60e.
3. Mehta I., Patel K. Lymphatic Plastic Bronchitis. *The New England Journal of Medicine*. 2022;386(8):19. DOI: 10.1056/NEJM2107066.
4. Ntiamoah P., Mukhopadhyay S., Ghosh S. Recycling plastic: diagnosis and management of plastic bronchitis among adults. *European Respiratory Journal*. 2021;30(161):210096. DOI: 10.1183/16000617.0096-2021.
5. Молодцова В., Собченко С., Старевская С. Роль бронхоскопии в лечении пластического бронхита. *Врач*. 2015;7:8–12.
6. Mouhadi S., Taille C., Cazes A., Arrivé L. Plastic bronchitis related to idiopathic thoracic lymphangiectasia. Noncontrast magnetic resonance lymphography. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2015;192(5):632–633. DOI: 10.1164/rccm.201503-0631im.
7. Itkin M.G., McCormack F.X., Dori Y. Diagnosis and treatment of lymphatic plastic bronchitis in adults using advanced lymphatic imaging and percutaneous embolization. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016;13(10):1689–1696. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201604-292OC.
8. Орлов А.В., Кузьмина М.С., Желенина Л.А., Матвеев В.С. Четыре случая пластического бронхита у детей 2–7 лет. Лечение с использованием бронхоскопии, аэрозоль илопроста и 3% раствора NaCl. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2014;6(2):113–119.
9. Камалтынова Е.М., Кривошеков Е.В., Янулевич О.С., Кавардакова Е.С. Пластический бронхит, ассоциированный с корригированным пороком сердца у ребенка. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017;16(2):180–186. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-2-180-186
10. Kunder R., Kunder C., Sun H. Pediatric plastic bronchitis: case report and retrospective comparative analysis of epidemiology and pathology. *Hincawi Publishing Corporation Case Reports in Pulmonology*. 2013;2013:649365. DOI: 10.1155/2013/649365.
11. O'Leary C., Itkin M., Roshkovan L., Katz S., Cao Q., Hershtman M. et al. CT features of lymphatic plastic bronchitis in adults: correlation with multimodality lymphatic imaging. *Radiol. Cardiothorac. Imaging*. 2022;4(2):210048. DOI: 10.1148/ryct.210048.
12. Yuichi M., Sayoko I., Yoriko S., Takanori O. Plastic bronchitis associated with influenza: an adult case. *Internal Medicine*. 2021;60(10): 647–648. DOI: 10.2169/internalmedicine.5313-20.
13. Healy F., Hanna B.D., Zinman R. Pulmonary complications of congenital heart disease. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2012;13(1):10–15. DOI: 10.1016/j.prrv.2011.01.007.

Информация об авторах

Вишняк Диана Анатольевна – канд. мед. наук, доцент, кафедра внутренних болезней, СурГУ, г. Сургут, Diana100187@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8473-5930>

Шевченко Ольга Владимировна – канд. мед. наук, ст. преподаватель, кафедра внутренних болезней, СурГУ; врач, «КБ «РЖД-Медицина» г. Сургут», г. Сургут, kov6767@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6814-951X>.

Зармаева Милена Бислановна – студент, СурГУ, г. Сургут, zarmaeva.m@mail.ru.

Койлыбаева Азиза Мурзаевна – студент, СурГУ, г. Сургут, koilybaeva2000@mail.ru

✉ **Вишняк Диана Анатольевна**, Diana100187@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.06.2022;
одобрена после рецензирования 11.07.2022;
принята к публикации 08.09.2022

УДК 616.89-02:[616.98:578.834.1]-06
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-170-173>

Клинический случай психического расстройства на фоне новой коронавирусной инфекции

Джумагалиева М.Б.¹, Аяганов Д.Н.¹, Юлдашев В.Л.², Ахмадеева Л.Р.²

¹ Запдно-Казахстанский медицинский университет (ЗКМУ) им. М. Оспанова
Республика Казахстан, 030012, г. Актобе, ул. Маресьева, 68

² Башкирский государственный медицинский университет (БГМУ)
Россия, 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, 3

РЕЗЮМЕ

В новом тысячелетии человечество столкнулось с глобальной проблемой – новой коронавирусной инфекцией COVID-19, вызванной вирусом SARS-CoV-2. Помимо системных и респираторных симптомов, вирус SARS-CoV-2 вызывает неврологические расстройства, так как обладает нейротропностью. Многие ученые предполагают, что SARS-CoV-2 способен проникать в нервную систему через функциональный рецептор ангиотензин-превращающего фермента 2, который присутствует в глиальных клетках, нейронах, скелетных мышцах и других органах. Осложнения со стороны нервной системы проявлялись поражениями различных структур: центральной нервной системы, периферической нервной системы и черепно-мозговых нервов, а также психическими расстройствами. Психические заболевания развиваются вследствие нейровоспаления и гибели нейронов после заражения мозга SARS-CoV-2.

Описан клинический случай новой коронавирусной инфекции у мужчины 63 лет с впервые выявленным психическим расстройством. Приведенный клинический пример демонстрирует важность изучения причинно-следственной связи между COVID-19 и психическим заболеванием. В среднесрочной и долгосрочной перспективе ожидается, что COVID-19 приведет к проблемам психического здоровья в период постковидного восстановления, также ожидается увеличение количества пациентов с психическими расстройствами, которые были психически здоровы до заражения COVID-19.

Ключевые слова: SARS-COV-2, COVID-19, коронавирус, психические заболевания, психические расстройства

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 комитетом ЗКМУ им. М. Оспанова (протокол № 1 от 21.01.2021).

Для цитирования: Джумагалиева М.Б., Аяганов Д.Н., Юлдашев В.Л., Ахмадеева Л.Р. Клинический случай психического расстройства на фоне новой коронавирусной инфекции. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):170–173. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-170-173>.

A clinical case of co-occurring mental disorder and coronavirus infection

Jumagaliyeva M.B.¹, Ayaganov D.N.¹, Yuldashev V.L.², Akhmadeeva L.R.²

¹ West Kazakhstan Marat Ospanov Medical University
68, Maresyeva Str., Aktobe, 030012, Republic of Kazakhstan

² Bashkir State Medical University
3, Lenina Str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450008, Russian Federation

ABSTRACT

In the new millennium, humanity has faced with a global challenge in the form of the novel coronavirus infection (COVID-19). In addition to systemic and respiratory symptoms, SARS-CoV-2 causes neurological disorders, as it is a neurotropic virus. Many scientists assume that SARS-CoV-2 can enter the nervous system through the functional receptor of angiotensin-converting enzyme 2, which is present in glial cells, neurons, skeletal muscles, and other organs. Neurological complications are manifested by damage to the central nervous system, peripheral nervous system, and cranial nerves, as well as by mental disorders. Mental illnesses develop due to neuroinflammation and neuronal death after brain infection with SARS-CoV-2.

The article describes a clinical case of a 63-year-old man with the co-occurring novel coronavirus infection and obvious mental disorder who has never had any mental illnesses before. The given clinical example demonstrates the importance of studying the cause-and-effect relationship between COVID-19 and mental illness. In the medium- and long-term perspective, COVID-19 is expected to result in mental health disorders during COVID-19 recovery. Besides, an increase in the number of patients with mental disorders who were mentally healthy before COVID-19 infection is also expected.

Keywords: SARS-COV-2, COVID-19, coronavirus, mental illnesses, mental disorders

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 West Kazakhstan Marat Ospanov Medical University (Protocol No. 1 of 21.01.2021).

For citation: Jumagaliyeva M.B., Ayaganov D.N., Yuldashev V.L., Akhmadeeva L.R. A clinical case of co-occurring mental disorder and coronavirus infection. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):170–173. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-170-173>.

ВВЕДЕНИЕ

Новая коронавирусная инфекция (COVID-19) – это глобальная чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения, оказывающая огромное влияние на психическое здоровье. К настоящему времени установлено, что COVID-19 поражает не только легкие, но и клетки центральной нервной системы; увеличиваются данные о нейроинвазии SARS-CoV-2 [1–3] и нейропсихиатрических последствиях вызываемого им заболевания [4]. Известно, что у 0,9–4% инфицированных людей развиваются расстройства психотического спектра. Связь между COVID-19 и психическим заболеванием была отмечена во многих обсервационных исследованиях, но причинно-следственная связь еще не может быть достоверно установлена.

М. Taquet и соавт. [5] обнаружили, что первый психиатрический диагноз чаще встречается у пациентов с COVID-19 в течение 14–90 дней после первых симптомов COVID-19, а психиатрический диагноз может быть независимым фактором риска COVID-19. Эти ученые расширяют свои выводы, оценивая показатели заболеваемости и относительные риски 14 неврологических и психиатрических диагнозов у пациентов в течение 6 мес после постановки диагноза COVID-19. Отек мозговой ткани и частичная нейродегенерация наблюдались в патологоанатомических работах, что указывает на возможную роль вируса в развитии острых психиатрических симптомов и долгосрочных психоневрологических последствий COVID-19.

Нейропсихиатрические состояния сопровождаются глубокими изменениями морфологии и функ-

ции микроглии, приводящими к секреции провоспалительных факторов, в то время как aberrантный фагоцитоз влияет на нейронные цепи. Концептуально длительное нарушение функции нейроглии в итоге влияет на синаптическую связность, баланс возбуждения/торможения и обработку информации, внося фундаментальный вклад в патогенез нервно-психических расстройств. J. Rogers и соавт. считают, что возникающие нейропсихиатрические проявления могут возникать из-за воздействия вируса не прямых иммунных реакций или проводимого лечения на мозг [6]. Однако психические расстройства, развивающиеся в остром периоде, могут возникать из-за опасений по поводу последствий заболевания, таких как социальная изоляция, карантин [7], безработица, финансовые трудности [8] и стигма [9].

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент А., 63 лет, поступил в перепрофилированный инфекционный стационар г. Актобе в апреле 2021 г. с жалобами на одышку при физической нагрузке, непродуктивный кашель, бессонницу, снижение качества сна, отсутствие вкуса и запаха, повышение температуры тела до 39 °С, выраженную общую слабость.

Из анамнеза известно, что пациент наблюдается у кардиолога с диагнозами гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца. Регулярно принимает лизиноприл 5 мг, аторвастатин 20 мг, ацетилсалициловую кислоту + магния гидроксид 75 мг. Вредные привычки – курение, стаж 35 лет, по половине пачки в день.

Из анамнеза жизни: наследственность психическими заболеваниями неотягощена. Рос и развивался соответственно возрасту.

При объективном осмотре: общее состояние тяжелой степени тяжести, сознание ясное, телосложение правильное. Отмечается повышение температуры тела до 38–39 °С. Зев гиперемирован, влажный, частота сердечных сокращений 97 уд./мин (тахикардия), артериальное давление 160/90 мм рт. ст. Уровень сатурации 91% на комнатном воздухе. Мазок из носоглотки методом полимеразной цепной реакции на SARS-CoV-2 был положительным. В легких дыхание ослабленное в нижних отделах, выслушиваются мелкопузырчатые влажные хрипы, частота дыхательных движений – 22–24 в минуту.

Из лабораторных анализов: С-реактивный белок – 80 мг/л (нормальный диапазон <10 мг/л), D-димер – 980 мг/л (<250 мг/л), ферритин – 216 мкг/мл (<120 мкг/л), интерлейкин (IL) – 11,6 пг/мл (<7 пг/мл), другие маркеры воспаления были в пределах нормы. В общем анализе крови: лимфопения – 9%,

тромбоцитопения – 156/л, лейкоцитоз – 19/л, нейтрофилы – 80%, гемоглобин – 96 г/л, креатинин – 157,0 мкмоль/л, мочевина – 15 ммоль/л. На рентгенограмме органов грудной клетки: двусторонняя полисегментарная пневмония.

Психическое состояние больного при поступлении характеризовалось суеверностью, тревогой, двигательным беспокойством. Госпитализирован в инфекционный стационар на 11-й день заболевания. На 4-й день госпитализации в связи с изменением психического состояния, характеризующемся ажитацией, агрессивным поведением, бессонницей. Пациент был осмотрен психиатром и неврологом. При осмотре пациент предъявлял жалобы на бессонницу, страх и тревогу за свою жизнь, повторял, что «все умрут от коронавируса, это все китайцы, они хотят нас убить, Назарбаев и Токаев меня предали, они ошиблись, грех совершили, мы все в опасности». На вопросы врачей высказывался, что «пришла смерть, надо ее встречать достойно», соседей по палате просил купаться и одеваться в чистую одежду. В течение 4 дней госпитализации стал малообщительным, уединялся, вел себя подозрительно, заявлял, что скоро наступит конец света, «дух умершего брата хочет забрать его душу», в последние две ночи не спал, ему казалось, что «дьявол пришел забрать его душу». Начал звонить по мобильному телефону в Министерство чрезвычайных ситуаций и В. Путину.

Психический статус: в ясном сознании, внешне неопятен, контакту доступен, напряжен, подозрителен, тревожен, без чувства дистанции, речь в виде спонтанного монолога. Во время беседы вскакивает со стула выходит в коридор, подходит к окнам, потом вновь возвращается, говорит: «это все китайцы, они хотят нас убить, Назарбаев и Токаев меня предали, они ошиблись, грех совершили, мы все в опасности», «нас убивают китайцы». Болезненные переживания не раскрывает, пребывает в мире болезненных переживаний. Озирается по сторонам, прислушивается, иногда сам по себе улыбается. Мышление непоследовательное, паралогичное, ускоренное. В поведении наблюдалось двигательное беспокойство, пациент был импульсивен с признаками выраженной эмоционально-волевой неустойчивости. Интеллектуально-мнестические функции грубо не страдают при ограниченном круге интересов. В клинической картине острого психоза преобладают выраженный аффективно-бредовый синдром и отсутствие критической оценки своего состояния. Выставлен диагноз «органическое бредовое расстройство».

В неврологическом статусе очаговой неврологической симптоматики не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, одним из осложнений со стороны нервной системы при COVID-19 являются психические расстройства. Пациенты с сопутствующей патологией входят в группу риска по развитию тяжелого течения COVID-19. Выраженная гипоксия, гипоксическая энцефалопатия проявляются диффузным поражением головного мозга и гибелью его клеток. У одних пациентов может развиваться выраженный делирий, у других – энцефалопатия, сонливость и нарушение уровня сознания.

У данного пациента наблюдался повышенный иммунный ответ. Высокие уровни интерлейкина IL-6 говорят о снижении иммунокомпетентности организма. Иммунный ответ хозяина на инфекцию SARS-CoV-2, возможные прямые вирусные инфекции центральной нервной системы представляют собой потенциальные механизмы, способные вызвать нейropsychиатрические последствия [10]. Известно, что провоспалительные цитокины, изменяя активность нейронов и глии, могут вызывать дегенерацию аксонов, что приведет к изменению психического статуса, нейрокогнитивным расстройствам, головной боли, энцефалиту, миелиту, инсульту, миопатии, синдрому Гийена – Барре и полиневропатиям [11]. Системное воспаление усугубляет опосредованное цитокинами повреждение головного мозга и гематогенное распространение SARS-CoV-2 в головной мозг [12].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Iadecola C., Anrather J., Kamel H. Effects of COVID-19 on the nervous system. *Cell*. 2020;183(1):16–27.e1. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.028.
2. Li Y., Bai W., Hashikawa T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *J. Med. Virol.* 2020;92(6):552–555. DOI: 10.1002/jmv.25728.
3. Orsini A., Corsi M., Santangelo A., Riva A., Peroni D., Foia deli T. et al. Challenges and management of neurological and psychiatric manifestations in SARS-CoV-2 (COVID-19) patients. *Neurol. Sci.* 2020;41(9):2353–2366. DOI: 10.1007/s10072-020-04544-w.
4. Mao L., Jin H., Wang M., Hu Y., Chen S., He Q. et al. Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.* 2020;77(6):683–690. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.1127.
5. Taquet M., Luciano S., Geddes J., Harrison P. Disentangling the complex bidirectional associations between COVID-19 and psychiatric disorder – Authors’ reply. *Lancet Psychiatry.* 2021;8(3):179. DOI: 10.1016/S2215-0366(21)00028-6.
6. Rogers J., Chesney E., Oliver D., Pollak T., McGuire P., Fusa-Poli P. et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: a systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry.* 2020;7(7):611–627. DOI: 10.1016/S2215-0366(20)30203-0.
7. Brooks S., Webster R., Smith L., Woodland L., Wessely S., Greenberg N. et al. The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. *Lancet (London, England).* 2020;395(10227):912–920. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30460-8.
8. Chaves C., Castellanos T., Abrams M., Vazquez C. The impact of economic recessions on depression and individual and social well-being: the case of Spain (2006–2013). *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.* 2018;53(9):977–986. DOI: 10.1007/s00127-018-1558-2.
9. Banerjee D. The COVID-19 outbreak: crucial role the psychiatrists can play. *Asian J. Psychiatr.* 2020;50:102014. DOI: 10.1016/j.ajp.2020.102014.
10. Troyer E., Kohn J., Hong S. Are we facing a crashing wave of neuropsychiatric sequelae of COVID-19? Neuropsychiatric symptoms and potential immunologic mechanisms. *Brain Behav. Immun.* 2020;87:34–39. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.04.027.
11. Zhao H., Shen D., Zhou H., Liu J., Chen S. Guillain – Barré syndrome associated with SARS-CoV-2 infection: causality or coincidence? *Lancet Neurol.* 2020;19(5):383–384. DOI: 10.1016/S1474-4422(20)30109-5.
12. Mehta P., McAuley D., Brown M., Sanchez E., Tattersall R., Manson J. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020;395(10229):1033–1034. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0.

Информация об авторах

Джумагалиева Мерей Бакытжановна – Ph.D. 3-года обучения по специальности «Медицина», ЗКМУ им. М. Оспанова, г. Актобе, Республика Казахстан, aliyevalamerey7@gmail.com, <http://orcid.org/0000-002-5162-0870>

Аяганов Динмухамед Нурныязович – Ph.D., руководитель кафедры неврологии с курсом психиатрии и наркологии, ЗКМУ им. М. Оспанова, г. Актобе, Республика Казахстан, dimash.83@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1694-8301>

Юлдашев Владимир Лабирович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой психиатрии и наркологии с курсом Института дополнительного профессионального образования, БГМУ, г. Уфа, uvlprof@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-7387-138X>

Ахмадеева Лейла Ринатовна – д-р мед. наук, профессор кафедры неврологии, БГМУ, г. Уфа, Leila_ufa@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1177-6424>

(✉) Джумагалиева Мерей Бакытжановна, aliyevalamerey7@gmail.com

Поступила в редакцию 15.04.2022;
одобрена после рецензирования 22.08.2022;
принята к публикации 19.03.2022

УДК 616.8-039.42-085.373.032.14
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-174-182>

Опыт применения препаратов иммуноглобулина человека для внутривенного введения в лечении редких неврологических заболеваний

Терещенко Н.М., Кушнир Я.Б., Абрамова М.П., Готовчиков А.А., Краснов В.С., Соколов А.Ю., Тотолян Н.А., Амелин А.В.

*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет (ПСПбГМУ) им. акад. И.П. Павлова
Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6-8*

РЕЗЮМЕ

Целью работы является обобщение опыта применения иммуноглобулина человека нормального у пациентов с иммуноопосредованными неврологическими заболеваниями по данным одного клинического центра.

Материалы и методы. С 2016 по 2021 г. на базе неврологического отделения № 1 ПСПбГМУ им. И.П. Павлова проведено лечение иммуноглобулином человека нормальным 20 пациентов с различными аутоиммунными неврологическими заболеваниями периферической и центральной нервной системы. Оценку эффективности лечения проводили, анализируя динамику данных неврологического осмотра в соответствии со специализированными для конкретных заболеваний или клинических проявлений шкалами (INCAT, QMGs, MoCA, EDSS). Безопасность терапии оценивали с учетом инструкции по применению лекарственного препарата.

Результаты. У подавляющего числа пациентов лечение позволило стабилизировать течение болезни или сопровождалось выраженным регрессом симптомов.

Заключение. Рассмотренные клинические случаи применения препаратов иммуноглобулина человека нормального демонстрируют возможность их использования в лечении ряда аутоиммунных неврологических заболеваний по незарегистрированным показаниям.

Ключевые слова: иммуноглобулин человека нормальный, миастения, острая и хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия, мультифокальная моторная нейропатия, аутоиммунный энцефалит, синдром Гийена – Барре, иммунотерапия, внутривенное введение

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: Терещенко Н.М., Кушнир Я.Б., Абрамова М.П., Готовчиков А.А., Краснов В.С., Соколов А.Ю., Тотолян Н.А., Амелин А.В. Опыт применения препаратов иммуноглобулина человека для внутривенного введения в лечении редких неврологических заболеваний. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):174–182. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-174-182>.

Best practices in the use of human immunoglobulin preparations for intravenous administration in the treatment of rare neurological diseases

Tereshchenko N.M., Kushnir Ya.B., Abramova M.P., Gotovchikov A.A., Krasnov V.S., Sokolov A.Y., Totolyan N.A., Amelin A.V.

*Pavlov First Saint Petersburg State Medical University
6–8, Lva Tolstogo Str., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To describe best practices in using human normal immunoglobulin in patients with immune-mediated neurological disorders according to the data of one clinical center.

Materials and methods. From 2016 to 2021, 20 patients with various autoimmune disorders of the peripheral and central nervous system were treated with human normal immunoglobulin at the Neurology Unit No.1 of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University. Treatment efficacy was assessed by changes in the neurological examination data according to specialized scales for specific diseases or clinical manifestations (INCAT, QMGs, MoCA, EDSS). Safety of the therapy was assessed considering the instructions to the drug.

Results. In the vast majority of patients, treatment allowed to stabilize the course of the disease or was accompanied by pronounced regression.

Conclusion. The considered clinical cases of the use of human normal immunoglobulin preparations demonstrate the possibility of their use in the treatment of a number of autoimmune neurological diseases for unregistered indications.

Keywords: human normal immunoglobulin, myasthenia gravis, chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, multifocal motor neuropathy, autoimmune encephalitis, Guillain – Barré syndrome, immunotherapy, intravenous administration

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: Tereshchenko N.M., Kushnir Ya.B., Abramova M.P., Gotovchikov A.A., Krasnov V.S., Sokolov A.Y., Totolyan N.A., Amelin A.V. Best practices in the use of human immunoglobulin preparations for intravenous administration in the treatment of rare neurological diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):174–182. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-174-182>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для лечения широкого спектра иммуноопосредованных заболеваний центральной и периферической нервной системы (синдрома Гийена – Барре (СГБ), хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии (ХВДП), аутоиммунного энцефалита и др.) применяются препараты с различными запатентованными названиями и единым международным непатентованным наименованием «иммуноглобулин человека нормальный». Лекарственные формы этих препаратов предназначены в основном для внутривенного введения и часто обозначаются как «внутривенные иммуноглобулины» (ВВИГ).

Препараты ВВИГ содержат человеческие полиспецифичные иммуноглобулины (Ig), преиму-

щественно класса G, получаемые из плазмы крови здоровых доноров, в составе которых присутствуют антитела (АТ) ко множеству антигенов, при условии соблюдения высокого уровня вирусной безопасности [1, 2]. Они могут отличаться по соотношению содержания Ig классов А и G и по механизмам инактивации антигенов. Для максимального терапевтического эффекта препарат должен содержать не менее 95% IgG при сопоставимом с нормальной сывороткой распределении по подклассам 1–4 и при минимальном количестве IgA [2, 3].

ВВИГ используются не только как средства заместительной терапии при различных иммунодефицитах, но и в качестве иммуномодулирующих агентов, при этом механизм их фармакобиологического действия изучен не полностью. В зависимости от преимущественного участия в реакциях Fab- (fragment

antigen binding) или Fc- (fragment crystallizable region) фрагментов иммуноглобулина рассматривают два возможных механизма [1, 3].

К первому относят Fab-опосредованную нейтрализацию аутоантител, провоспалительных цитокинов и активированных компонентов комплемента, индукцию апоптоза, блокаду молекул адгезии лейкоцитов и восстановление работы идиотип-антиидиотипической сети. Считается, что антиидиотипические АТ могут связывать ауто-АТ, например, к Nm-рецепторам ацетилхолина при миастении или ганглиозидам при СГБ [3]. Второй вероятный механизм, с участием Fc-фрагмента, включает активацию или ингибирование макрофагов, моноцитов, дендритных клеток, а также подавление аутореактивных В-лимфоцитов и взаимодействие с натуральными киллерами [3]. Перечисленные эффекты отчасти развиваются уже в процессе инфузии, однако клинически значимое действие после введения ВВИГ обычно регистрируется после 2-х сут и длится около 3–5 нед в зависимости от периода полувыведения конкретного препарата, который определяется как свойствами молекулы, так и в ряде случаев – факторами организма. Именно фармакокинетические параметры определяют среднюю продолжительность курса ВВИГ, которая составляет 3–5 сут [3]. По данным исследований, препараты ВВИГ обладают противовоспалительным действием именно в высоких дозах, в то время как в низких дозах они могут оказывать нежелательный провоспалительный эффект [1]. При выборе препарата ВВИГ для лечения аутоиммунных неврологических заболеваний очень важны отсутствие ограничений по разовой и суточной дозам, максимально допустимая скорость введения, а также используемый при изготовлении стабилизатор [2].

Согласно действующим в Российской Федерации инструкциям (<https://grls.rosminzdrav.ru>), показания к применению ВВИГ в неврологии ограничены СГБ, хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатией (ХВДП) и мультифокальной моторной невропатией (ММН) (табл. 1).

Таблица 1

Препараты иммуноглобулина человека нормального для внутривенного введения, зарегистрированные в РФ для лечения неврологических заболеваний (Государственный реестр лекарственных средств, 02.09.2021)	
Заболевание	Торговое наименование препарата ВВИГ*
Синдром Гийена – Барре	Киовиг, иммуноглобулин сигардис, иммуноглобулин сигардис МТ, привиджен, октагам, интратект, октагам 10%, гаприоглобин-IgG, флебогамма 5% ДИФ, И.Г. Вена, гамулекс-С

Окончание табл.

Заболевание	Торговое наименование препарата ВВИГ*
Хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия	Привиджен, интратект, гамулекс-С
Мультифокальная моторная невропатия	Киовиг, интратект

Примечание. Согласно инструкции по применению лекарственных средства, предназначенные для внутривенного введения пентаглобин, имбиоглобулин, иммуновенин, гаприоглобин и иммуноглобулин человека нормальный (производства АО «НПО «Микроген» и ГБУЗ «Нижегородский областной центр крови им. Н.Я. Климовой») могут использоваться только для заместительной терапии при иммунодефицитах.

Несмотря на то что в ряде случаев использование ВВИГ является оптимальным с позиций безопасности и эффективности, существует принципиальная проблема в виде отсутствия в инструкции по медицинскому применению лекарственного средства показаний для некоторых редких неврологических расстройств. Препараты иммуноглобулина человека широко применяют в международной практике для терапии миастенического криза, идиопатических воспалительных миопатий, синдрома ригидного человека, демиелинизирующей полинейропатии, ассоциированной с моноклональной гаммапатией неясного значения (МГНЗ), некоторых форм эпилепсии, активного рассеянного склероза у женщин в период беременности. При указанных нозологиях ВВИГ используются вне инструкции (англ. off-label). В то же время они включены в стандарты оказания медицинской помощи при ХВДП, миастении гравис (МГ) и остром диссеминированном энцефаломиелите [3, 4].

Цель настоящей работы – обобщение опыта применения иммуноглобулина человека нормального в терапии иммуноопосредованных неврологических заболеваний, полученного на базе неврологического отделения № 1 ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моноцентровое обсервационное ретроспективно-проспективное когортное исследование эффективности и безопасности ВВИГ при лечении иммуноопосредованных неврологических заболеваний проводилось на базе неврологического отделения № 1 ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова в период с 2016 по 2021 г. В исследование включены 20 человек (14 женщин и шесть мужчин), медиана возраста дебюта заболевания равна 49,5 [35,3; 58,5] лет. Из них три пациента с диагнозом ММН, девять – ХВДП,

три – миастенический криз, два – аутоиммунный энцефалит, два – заболевание спектра оптиконейромиелита (ЗСОНМ), один – синдром ригидного человека (табл. 2). Препараты ВВИГ применялись на основании медицинских показаний согласно инструкции или по решению консилиума специалистов в случаях применения вне инструкции при оценке соотношения «польза – риск» согласно приказу Минздравсоцразвития Российской Федерации от 09.08.2005 г. № 494 «О порядке применения лекарственных средств у больных по жизненным показаниям» и Федеральному закону «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 № 323-ФЗ. В терапии использовались препараты иммуноглобулина человека нормального разных торговых наименований.

Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на проведение лечения препаратами ВВИГ. Лекарственные средства вводились внутривенно обученным медперсоналом непосредственно в палате пациента; процедура осуществлялась в соответствии с инструкцией и клиническими рекомендациями или согласно данным экспертных рабочих групп в случае применения off-label. Перед инфузией проводилась адекватная гидратация, определение гематокрита, уровня IgA и креатинина [2], оценивались риски тромбоэмболии. С целью предотвращения развития системных постинфузионных реакций во всех случаях проводилась премедикация парацетамолом (1 000 мг, внутрь) и хлоропирамин (20 мг, внутримышечно) [5]. В период инфузии и в течение 1 ч после ее окончания пациент находился под наблюдением врача.

Динамику неврологического статуса оценивали ежедневно с использованием шкал, разработанных для соответствующих заболеваний (INCAT, QMGs, MoCA, EDSS). Безопасность ВВИГ оценивали по наличию и выраженности нежелательных явлений [5]. Время наблюдения с момента начала терапии составило от 2 до 30 мес.

Статистическая обработка полученных результатов не проводилась ввиду малой выборки пациентов и неоднородности данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Основные характеристики пациентов, а также схемы и результаты терапии препаратами ВВИГ представлены в табл. 2.

Среди пациентов с ХВДП фенотип сенсорно-моторной невропатии был представлен у семи пациентов, преимущественно моторный фенотип – у двух. В четырех случаях наблюдалось прогрессирующее течение полиневропатии, в пяти – рецидивирующее. У двух пациентов (22%) с ХВДП на фоне 2 курсов

терапии ВВИГ по данным шкалы INCAT отмечался частичный регресс симптомов. У пяти пациентов (56%) наблюдались стабилизация и отсутствие прогрессирования симптомов после проведения 2 курсов терапии с применением ВВИГ в дозе 2 г/кг. У четверых (80%) из пяти пациентов с рецидивирующим типом течения удалось предупредить новые обострения во время всего периода наблюдения.

У пациентки с ХВДП, ассоциированной с МГНЗ, в течение 7 мес непрерывной ежемесячной терапии ВВИГ со стартовой дозой в 1-й мес 2 г/кг (134 г в течение 5 сут) и последующими ежемесячными курсовыми дозами 1 г/кг (67 г в течение 3 сут) наблюдалась полная клиническая ремиссия. У пациента с атипичным вариантом ХВДП и сопутствующей подцитопатией после курса терапии в суммарной дозе 2 г/кг развилось обострение через 5 сут после окончания терапии.

В случае пациентки с синдромом ригидного человека на фоне 7 курсов регулярной терапии ВВИГ (в дозе 1–2 г/кг) наблюдалось клиническое улучшение в виде снижения гипертонуса аксиальной мускулатуры и мышц конечностей, а также уменьшения выраженности дизартрии. У двух пациентов с аутоиммунным энцефалитом, ассоциированным с антителами к GAD, на фоне 6- и 12-месячного лечения, соответственно, наблюдались стабилизация состояния, отсутствие прогрессирования когнитивного дефицита и регресс эпилептических приступов.

У пациентки с обострением ЗСОНМ во II триместре беременности и клинической картиной полного поперечного миелита на шейном уровне после курса ВВИГ отмечался существенный регресс симптомов с динамикой по шкале EDSS с 4,0 до 2,5 баллов. На фоне последующего введения препарата в поддерживающих дозах в течение 2 мес за полугодовой период наблюдения обострений не наблюдалось.

Пациентке с ЗСОНМ, ассоциированной с СКВ и выраженной лимфопенией, ежемесячно в стартовой дозе 2 г/кг и поддерживающих 0,4 г/кг в течение 3 мес проводилась противорецидивная терапия ВВИГ до восстановления уровня лимфоцитов. За период наблюдения обострений и отрицательной динамики по шкале EDSS не зарегистрировано. В дальнейшем переведена на терапию ритуксимабом.

У всех больных с миастеническим кризом со степенью тяжести по MGFA IVB и V отмечались частичный регресс симптомов и улучшение по шкале QMGs на 13 баллов. Переносимость терапии препаратами ВВИГ оценена как хорошая. Ни в одном случае не было зарегистрировано системных инфузионных реакций. Отсроченных нежелательных явлений за период наблюдения также не выявлено.

Таблица 2

Клинико-демографические характеристики пациентов, получивших терапию препаратами ВВИГ, и особенности терапии									
№	Пол/ возраст дебюта болезни/ начала терапии ВВИГ, года	Диагноз	Терапия до назначения ВВИГ	Курсовая доза, количество курсов (1 курс—5 сут, ежемесячно)	Длительность наблюдения с начала терапии, мес	Динамика состояния за период наблюдения	Оценка по стандартным шкалам		
							До лечения	После лечения	
1	Ж/47/55	ХВДП	ГКС	2 г/кг 1 курс	2	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 3, для ног 3	INCAT для рук 3, для ног 3	
2	М/50/51	ХВДП	ГКС	2 г/кг 2 курса	4	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 4, для ног 2	INCAT для рук 2, для ног 2	
3	Ж/60/60	ХВДП	ГКС, плазмаферез	2 г/кг 2 курса	4	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 4, для ног 3	INCAT для рук 1, для ног 0	
4	М/58/59	ХВДП	ГКС	2 г/кг 1 курс	2	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 1, для ног 2	INCAT для рук 1, для ног 2	
5	Ж/58/58	ХВДП	Не было	2 г/кг 2 курса	2	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 3, для ног 2	INCAT для рук 3, для ног 2	
6	М/27/27	ХВДП	ГКС	2 г/кг 1 курс	2	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 4, для ног 3	INCAT для рук 4, для ног 3	
7	М/64/65	ХВДП	ГКС Плазмаферез	2 г/кг 1 курс	2	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 3, для ног 1	INCAT для рук 3, для ног 1	
8	Ж/33/34	ХВДП + МГНЗ	Плазмаферез	2 г/кг 1 курс 1 г/кг 6 курсов	7	О-, П-, ПР	INCAT для рук 1, для ног 1	INCAT для рук 0, для ног 0	
9	М/56/56	ХВДП + подопитопатия	ГКС Плазмаферез	2 г/кг 1 курс	4	О+, П+, ЧР	INCAT для рук 4, для ног 5	INCAT для рук 4, для ног 5	
10	Ж/67/69	ММН	Не было	2 г/кг и 1 г/кг 2 курса	4	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 3, для ног 0	INCAT для рук 3, для ног 0	
11	Ж/38/41	ММН	Не было	2 г/кг 24 курса	30	О-, П-, ПР	INCAT для рук 4, для ног 0	INCAT для рук 1, для ног 0	
12	М/52/56	ММН	Не было	2 г/кг 1 курс	2	О-, П-, ЧР	INCAT для рук 3, для ног 0	INCAT для рук 2, для ног 0	
13	Ж/49/50	Синдром ригидного человека	ГКС	2 г/кг 3 курса 1 г/кг 4 курса	11	О-, П-, ЧР	*	*	*

14	Ж/30/30	АЭ, GAD +	ГКС, ритуксимаб	2 г/кг 1 курс 0,4 г/кг 6 курсов	12	О-, П-, ЧР	**MoCA 11	**MoCA 11
15	Ж/37/40	АЭ, GAD +	Не было	2 г/кг 5 курсов	6	О-, П-, ЧР	***	***
16	Ж/26/30	ЗСОНМ, AQP4-IgG+, обострение. Беременность 23 нед	Не было	2 г/кг 0,4 г/кг 0,4 г/кг 3 курса	6	О-, П-, ЧР	EDSS 4,0	EDSS 2,5
17	Ж/36/37	ЗСОНМ AQP 4- IgG+, СКВ, иммунодефи- цит	ГКС Ритуксимаб	2 г/кг 0,4 г/кг 0,4 г/кг 3 курса	4	О-, П-, ЧР	EDSS 1,5	EDSS 1,5
18	Ж/21/25	МГ, криз	ГКС, азатиоприн, плазмаферез	2 г/кг 1 г/кг 1 г/кг 1 г/кг 4 курса	4	О-, П-, ЧР	QMGs 26	QMGs 13
19	Ж/67/68	МГ, криз	ГКС	2 г/кг 1 курс	2	О-, П-, ЧР	QMGs 23	QMGs 10
20	Ж/63/64	МГ, криз	ГКС, азатиоприн, плазмаферез	2 г/кг 1 курс	2	О-, П-, ЧР	QMGs 26	QMGs 13

Примечание. АЭ – аутоиммунный энцефалит; ГКС – глюкокортикостероиды; Ж – женщина; ЗСОНМ – заболевание спектра оптиконейромиелита; М – мужчина; МГ – миастения гравис; МГНЗ – моноклональная гаммапатия неясного значения; ММН – мультифокальная моторная нейропатия; О – обострение есть (+)/нет (-); П – прогрессирование (П) есть (+)/нет (-); ПР/ЧР – полный/частичный регресс симптомов; СКВ – системная красная волчанка; ХВДП – хроническая воспалительная демиелинизирующая полинейропатия; AQP4-IgG – антитела к аквапорину 4; EDSS – расширенная шкала оценки степени инвалидизации; GAD – антитела к глютаматдекарбоксилазе; INCAI – шкала оценки выраженности симптомов при ХВДП; MoCA – Монреальская когнитивная шкала; QMGs – шкала оценки тяжести клинических проявлений миастении.

* Для синдрома ригидного человека нет валидизированных шкал оценки выраженности симптомов; на фоне терапии отмечалось уменьшение выраженности скованности.

** Для аутоиммунного энцефалита нет валидизированных шкал оценки выраженности симптомов. У пациентки в клинической картине преобладали когнитивные нарушения, в связи с чем использовалась шкала MoCA.

*** В клинической картине преобладали генерализованные тонико-клонические эпилептические приступы; для аутоиммунного энцефалита нет валидизированных шкал оценки выраженности симптомов; на фоне терапии отмечалось уменьшение частоты эпилептических приступов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного нами наблюдательного исследования свидетельствуют, что курсовое длительное применение препаратов ВВИГ в гетерогенной группе пациентов неврологического профиля в большинстве случаев приводит к стабилизации течения заболевания и регрессу симптомов. Иммуноглобулин был эффективен и безопасен не только в случаях его применения по показаниям, но и в ситуациях использования вне инструкции в связи с отсутствием других оптимальных или одобренных вариантов терапии тяжело протекающих заболеваний периферической и центральной нервной системы. Дозы стартовой и поддерживающей терапии определялись инструкцией к применению или клиническими рекомендациями и консорциумами экспертных рабочих групп в случае применения off-label. Продолжительность терапии и последующего наблюдения была различной, от 5 сут до 2,5 лет в зависимости от нозологии и клинической ситуации.

Наш положительный опыт применения ВВИГ в лечении ряда аутоиммунных неврологических заболеваний подтверждают данные, полученные другими авторами [2–4]. Известно, что ВВИГ одобрены для лечения ряда заболеваний и являются средствами первой линии в неотложной неврологической практике. Например, у пациентов с синдромом Гийена – Барре ВВИГ эффективно применяются в дозе 0,4 г/кг/сут, курсом 3–5 сут (до 2 г/кг на курс) [3, 4]. Среди участников нашего наблюдательного исследования пациентов с СГБ не было, в связи с чем сравнительная оценка эффективности ВВИГ при данной патологии не проводилась.

ВВИГ применяют в качестве препаратов выбора и при лечении ХВДП, в том числе ассоциированной с сахарным диабетом, неконтролируемой артериальной гипертензией, а также при атипичном течении заболевания, включая моторные формы [6–8]. Общепринятая стартовая доза составляет 0,4 г/кг/сут, 3–5 сут (до 2 г/кг на курс). В поддерживающем режиме при ХВДП ВВИГ могут вводиться по разным схемам: а) суммарная доза 0,4 г/кг за 1 сут 1–2 раза в неделю; б) 1 г/кг за 2–3 сут каждые 3–4 нед; в) 2 г/кг за 3–5 сут каждые 4–6 нед.

При стабилизации состояния на терапии ВВИГ в течение 6–12 мес рекомендуют постепенное снижение дозы или увеличение интервала между введениями. Допускается комбинация ГКС и ВВИГ, а также введение ВВИГ по завершении курса плазмафереза [6–8]. В нашей когорте пациентов с диагнозом ХВДП было большинство и во всех, кроме одного, случаях отмечалась положительная динамика уже после 1–

2 курсов иммунотерапии. Исключением стал случай атипичной ХВДП с острым началом, этиологически ассоциированной с подоцитопатией, характеризующейся агрессивным течением и резистентной к ГКС, плазмаферезу и ВВИГ. Особенности заболевания у пациента было наличие выраженного нефротического синдрома, обусловленного болезнью минимальных изменений (непролиферативной гломерулопатией с подоцитопатией). Предположительно, подобная клиническая картина ХВДП характерна в случае, когда мишенью аутоиммунной атаки является белок нейрофасцин, локализованный как в периферической нервной системе, так и в цитоскелете подоцитов [9].

В течение 5 сут после инфузии усиление неврологического дефицита отсутствовало, однако далее стремительно стали нарастать бульбарные нарушения и тетраплегия, приведшие к интубации и наблюдению в отделении реанимации и интенсивной терапии. В дальнейшем положительный драматический эффект имела комбинированная цитостатическая терапия (циклоспорин и ритуксимаб) и ГКС (преднизолон внутрь). Отсутствие адекватного ответа на иммуноглобулин, вероятно, можно объяснить постепенно прогрессирующим нефротическим синдромом.

Применение ВВИГ вне инструкции может оказаться эффективным при лечении парапротеинемической демиелинизирующей полинейропатии, ассоциированной с МГНЗ с Ig A и Ig G [10, 11], а также в качестве терапии второй линии у пациентов с воспалительными миопатиями (дерматомиозит, полимиозит). Доза может варьировать от 0,4 до 2 г/кг в зависимости от выраженности клинических симптомов. В настоящее время нет однозначных данных об эффективности ВВИГ при миозите с тельцами включения, а также некротизирующем аутоиммунном миозите [4, 12, 13].

При ММН доказана эффективность ВВИГ как единственного метода патогенетической терапии. Стартовая курсовая доза должна составлять не менее 2 г/кг в течение 3–5 сут. Поддерживающая суммарная доза может составлять 1 г/кг за 2–3 сут каждые 2–4 нед или 2 г/кг за 3–5 сут каждые 1–2 мес, хотя в нашей работе в одном случае ее удалось снизить до 0,5 г/кг. Как правило, пациентам с ММН требуется многолетняя непрерывная поддерживающая терапия ВВИГ [14, 15].

Синдром ригидного человека – редкое неврологическое заболевание аутоиммунной природы, ассоциированное с наличием АТ к глутаматдекарбоксилазе (GAD) и амфифизиину. В настоящее время нет общепринятых схем для его терапии, однако наряду с ГКС себя успешно зарекомендовали ВВИГ

и плазмаферез. ВВИГ вводят в курсовой дозе 2 г/кг, в последующем – повторные курсы в дозе 1 г/кг. Продолжительность лечения и интервал между введениями определяется уровнем аутоантител и выраженностью клинических симптомов [16]. В нашей когорте пациентка с диагнозом синдрома ригидного человека получила 7 курсов инфузий ВВИГ, на фоне которых наблюдалось устойчивое снижение выраженности клинических проявлений.

Аутоиммунные энцефалиты – группа редких иммуноопосредованных воспалительных заболеваний ЦНС, в клинической картине которых ведущим синдромом является энцефалопатия неинфекционного генеза, ассоциированная с наличием аутоантител разных специфичностей (к белкам пресинаптических терминалей – GAD или амфифизину; к синаптическим белкам нейронов – GABA_{a,b}-рецепторам, AMPA-рецепторам, VGCC-каналам, NMDA-рецепторам и др.). Наряду с ГКС и плазмаферезом ВВИГ относят к средствам терапии первой линии, с рекомендуемой дозой 2 г/кг на курс. К препаратам второй линии относят ритуксимаб и циклофосфамид [17]. В нашем наблюдении у пациентки с неэффективностью предшествующего лечения ритуксимабом терапия ВВИГ сопровождалась стабилизацией течения на протяжении 1 года.

ВВИГ не входят в стандартную схему лечения рассеянного склероза (РС) и ЗСОНМ. Однако при РС и ЗСОНМ они используются в определенных клинических ситуациях, а именно в детском возрасте, у беременных, иногда при тяжелых обострениях или верифицированном иммунодефиците [3, 18–20]. При ЗСОНМ терапия препаратами ВВИГ для предупреждения развития рецидивов может проводиться при наличии противопоказаний к иммуносупрессантам [20]. В нашей когорте у одной пациентки с ЗСОНМ обострение развилось на фоне беременности, а у второй – на фоне лимфопении, генез которой был первоначально не ясен, а позднее была диагностирована СКВ как коморбидное состояние. Лечение ВВИГ в обоих случаях сопровождалось быстрым подавлением активности заболевания, во втором наблюдении – после неэффективности противорецидивной терапии ГКС и ритуксимабом.

Безусловно, наше наблюдательное исследование имеет ряд существенных ограничений в виде небольшой выборки и демографической неоднородности пациентов, анализа широкого спектра заболеваний, использования различных препаратов ВВИГ, отсутствия рандомизации и группы сравнения. Тем не менее результаты исследования представляются нам важным очередным свидетельством эффективности и безопасности препаратов ВВИГ при лечении

ряда иммуноопосредованных заболеваний нервной системы. Они пополняют опыт их применения в ситуациях, когда другие одобренные методы лечения неэффективны или противопоказаны или когда при определенных нозологических формах отсутствует одобренная терапия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение ВВИГ для лечения редких тяжелых неврологических заболеваний возможно не только в рамках утвержденных показаний, но и off-label с учетом известных данных о патогенезе и после оценки соотношения рисков и пользы для пациентов согласно приказу Минздрава России от 09.08.2005 г. № 494 «О порядке применения лекарственных средств у больных по жизненным показаниям» и Федеральному закону «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 № 323-ФЗ. Эти препараты имеют благоприятное соотношение эффективности и безопасности, а в ряде случаев могут быть единственным средством терапии жизнеугрожающих состояний и предупреждения глубокой инвалидности. Потенциальные системные инфузионные реакции (лихорадка, миалгии, астения, тошнота, анафилаксия) могут быть предупреждены премедикацией. Необходимы дальнейшие исследования препаратов ВВИГ для определения их оптимальных доз, кратности и частоты введения, а также продолжительности терапии при различных неврологических заболеваниях с целью научно-обоснованного расширения перечня нозологий для их применения в стандартах оказания медицинской помощи пациентам неврологического профиля.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Середавкина Н.В., Решетняк Т.М., Насонов Е.Л. Место внутривенного иммуноглобулина при ревматических заболеваниях. *Современная ревматология*. 2015;9(4):59–67. DOI: 10.14412/1996-7012-2015-4-59-67.
2. Супонева Н.А., Пирадов М.А. Особенности проведения внутривенной иммунотерапии в неврологической клинике. *Эффективная фармакотерапия*. 2014;(58):12–23.
3. Lünemann J.D., Quast I., Dalakas M.C. Efficacy of intravenous immunoglobulin in neurological diseases. *Neurotherapeutics*. 2016;13(1):34–46. DOI: 10.1007/s13311-015-0391-5.
4. Никитин С.С., Борискина Л.М. Иммуноглобулины в неврологической практике: обзор литературы. *Нервно-мышечные болезни*. 2019;9(1):32–51. DOI: 10.17650/2222-8721-2019-9-1-32-51.
5. Souayah N., Hasan A., Khan H.M. et al. The safety profile of home infusion of intravenous immunoglobulin in patients with neuroimmunologic disorders. *J. Clin. Neuromuscul. Dis.* 2011;12(4):1–10. DOI: 10.1097/CND.0b013e3182212589.
6. Lehmann H.C., Burke D., Kuwabara S. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: update on diagnosis, immuno-

- pathogenesis and treatment. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 2019;90(9):981–987. DOI: 10.1136/jnnp-2019-320314.
7. Oaklander A.L., Lunn M.P.T., Hughes R.A.C. et al. Treatments for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP): an overview of systematic reviews. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017;1(1):CD010369. DOI: 10.1002/14651858.CD010369.pub2.
8. Van den Bergh P.Y., Hadden R.D., Bouche P. et al. European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on management of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society – first revision. *Eur. J. Neurol.* 2010;17(3):356–363. DOI: 10.1111/j.1468-1331.2009.02930.x.
9. Bukhari S., Bettin M., Cathro H.P. et al. Anti-neurofascin-associated nephrotic-range proteinuria in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Kidney Med.* 2020;2(6):797–800. DOI: 10.1016/j.xkme.2020.06.016.
10. Chaudhry H.M., Mauermann M.L., Rajkumar S.V. Monoclonal gammopathy-associated peripheral neuropathy: Diagnosis and management. *Mayo Clin. Proc.* 2017;92(5):838–850. DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.02.003.
11. Nobile-Orazio E., Bianco M., Nozza A. Advances in the treatment of paraproteinemic neuropathy. *Curr. Treat. Options Neurol.* 2017;19(12):43. DOI: 10.1007/s11940-017-0479-9.
12. Schmidt J. Current classification and management of inflammatory myopathies. *J. Neuromuscul. Dis.* 2018;5(2):109–129. DOI: 10.3233/JND-180308.
13. Barsotti S., Lundberg I.E. Current treatment for myositis. *Curr. Treatm. Opt. Rheumatol.* 2018;4(4):299–315. DOI: 10.1007/s40674-018-0106-2.
14. Joint Task Force of the EFNS and the PNS European Federation of Neurological Societies/Peripheral Nerve Society guideline on management of multifocal motor neuropathy. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies and the Peripheral Nerve Society – first revision. *J. Peripher. Nerv. Syst.* 2010;15(4):295–301. DOI: 10.1111/j.1529-8027.2010.00290.x.
15. Beadon K., Guimarães-Costa R., Léger J.M. Multifocal motor neuropathy. *Curr. Opin. Neurol.* 2018;31(5):559–564. DOI: 10.1097/WCO.0000000000000605.
16. Sarva H., Deik A., Ullah A. et al. Clinical Spectrum of Stiff Person Syndrome: A Review of Recent Reports. *Tremor. Other Hyperkinet. Mov. (NY)*. 2016;6:340. DOI: 10.7916/D85M65GD.
17. Lancaster E. The diagnosis and treatment of autoimmune encephalitis. *J. Clin. Neurol.* 2016;12(1):1–13. DOI: 10.3988/jcn.2016.12.1.1.
18. Achiron A., Kishner I., Dolev M. et al. Effect of intravenous immunoglobulin treatment on pregnancy and postpartum-related relapses in multiple sclerosis. *J. Neurol.* 2004;251(9):1133–1137. DOI: 10.1007/s00415-004-0495-z.
19. Бисага Г.Н., Скулябин Д.И., Попов А.Е. Перспективы применения внутривенных иммуноглобулинов при рассеянном склерозе. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски*. 2015;115(8-2):36–43. DOI: 10.17116/jnevro20151158236-43.
20. Trebst C., Jarius S., Berthele A. et al. Update on the diagnosis and treatment of neuromyelitis optica: recommendations of the Neuromyelitis Optica Study Group (NEMOS). *J. Neurol.* 2014;261(1):1–16. DOI: 10.1007/s00415-013-7169-7.

Информация об авторах

Терещенко Николай Михайлович – врач-невролог, ст. лаборант, кафедра неврологии, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, nickolaitereshenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9594-8926>

Кушнir Яна Богдановна – врач-невролог, неврологическое отделение № 1, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, kushnir.yana2014@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7891-9883>

Абрамова Мария Павловна – клинический ординатор, кафедра неврологии, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, maria.p.abramova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7081-8455>

Готовчиков Андрей Александрович – врач-невролог, зав. неврологическим отделением № 1, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, gotovchikov_73@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8567-6442>

Краснов Владимир Сергеевич – канд. мед. наук, доцент кафедры неврологии, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, krasnov_volod@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9769-447X>

Соколов Алексей Юрьевич – д-р мед. наук, профессор кафедры фармакологии, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, alexey.y.sokolov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6141-486X>

Тотолян Наталья Агафоновна – д-р мед. наук, профессор кафедры неврологии, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, ntotolyan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6715-8203>

Амелин Александр Витальевич – д-р мед. наук, профессор кафедры неврологии, ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург, avamelin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6437-232X>

(✉) **Терещенко Николай Михайлович**, nickolaitereshenko@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.04.2022;
одобрена после рецензирования 19.05.2022;
принята к публикации 08.09.2022

ЖУРНАЛ «БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ» ПРЕДСТАВЛЕН НА СЛЕДУЮЩИХ РЕСУРСАХ



Unpaywall – браузерное расширение. Оно находит бесплатные копии научных статей, оригиналы которых находятся под paywall. В открытой базе данных сервиса есть более 31 миллиона научных публикаций



Baidu – китайская компания, предоставляющая веб-сервисы, основным из которых является поисковая система с таким же названием – лидер среди китайских поисковых систем



Scilit – это всеобъемлющая бесплатная база данных для ученых, использующая новый метод сопоставления данных и индексирования научных материалов. Наши сканеры ежедневно извлекают последние данные из CrossRef и PubMed



Регулярно обновляемая коллекция периодических изданий Китая по широкому кругу дисциплин



Викиданные – это бесплатная и открытая база знаний, которую могут читать и редактировать как люди, так и машины



SCImago Journal & Country Rank – это общедоступный портал, который включает научные показатели журналов и стран, разработанные на основе информации, содержащейся в базе данных Scopus® (Elsevier B.V.). Эти показатели можно использовать для оценки и анализа научных областей.



Данный сервис обеспечивает полнотекстовый поиск по всем исследовательским публикациям, заархивированным в различных коллекциях Архива Интернета.



НейроАссистент – сервер научного издательства предназначен для авторов, редакторов и рецензентов научных журналов. Сервис позволяет автоматизировать работу с текстами научных статей с помощью искусственного интеллекта

bulletin.ssmu.ru

ISSN PRINT: 1682-0363
ISSN ONLINE: 1819-3684
Бюллетень сибирской медицины
Bulletin of Siberian Medicine
bulletin
ENG | РУС

Бюллетень сибирской медицины

[ГЛАВНАЯ](#)
[О ЖУРНАЛЕ](#)
[МОЙ КАБИНЕТ](#)
[ПОИСК](#)
[СВЕЖИЙ НОМЕР](#)
[АРХИВ](#)
[НОВОСТИ](#)
[АРХИВ 2002-2011](#)

Научно-практический рецензируемый журнал
Научно-практический журнал общемедицинского профиля «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, лекции, 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 биоинженерия,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инвазивные 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 степени 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:

- РИНЦ (RSCI; Science Index)
- Киберленинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традиции первых медицинских журналов, на страницах Бюллетеня сибирской медицины вы можете:

[Правила для авторов](#)

[Редакционная коллегия](#)

[Рецензирование](#)

[Этика публикаций](#)

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание эндотелиальной синтазы оксида азота в плазме после физических нагрузок различного характера

Том 16, № 1 (2017)

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Уразова О.И.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети

ISSN 1682-0363 (print)

ISSN 1819-3684 (online)

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

2023. Т. 22. № 1. 1–182